



UFRJ

**Universidade Federal do Rio de Janeiro**

**Fernanda da Costa Alzer**

Rio de Janeiro

2022



UFRJ

Fernanda da Costa Alzer

**Palinologia aplicada à sistemática de *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae)**

**Fernanda da Costa Alzer**

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).

**Orientação:** Dra. Claudia Barbieri Ferreira de Mendonça

Dr. Ricardo Sousa Couto

Rio de Janeiro  
2022

## CIP - Catalogação na Publicação

A478p Alzer, Fernanda da Costa  
Palinologia aplicada à sistemática de Dioscorea  
L. (Dioscoreaceae) / Fernanda da Costa Alzer. --  
Rio de Janeiro, 2022.  
179 f.

Orientadora: Cláudia Barbieri Ferreira Mendonça.  
Coorientadora: Ricardo Sousa Couto.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio  
de Janeiro, Museu Nacional, Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Biológicas (Botânica), 2022.

1. Dioscoreaceae. 2. Palinologia. 3. Dioscorea .  
4. Dioscorea anãs. 5. Evolução polínica. I. Mendonça,  
Cláudia Barbieri Ferreira, orient. II. Couto,  
Ricardo Sousa, coorient. III. Título.



UFRJ

Fernanda da Costa Alzer

**Palinologia aplicada à sistemática de *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae)**

**Fernanda da Costa Alzer**

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:

“participação por videoconferência”

Presidente: Prof<sup>a</sup> Dra. Claudia Barbieri Ferreira de Mendonça

“participação por videoconferência”

Prof<sup>a</sup> Dra. Vania Gonçalves Lourenço Esteves

“participação por videoconferência”

Prof<sup>a</sup> Dra. Elysiane de Barros Marinho

“participação por videoconferência”

Prof Dr. Eduardo Custódio Gasparino

“participação por videoconferência”

Prof<sup>a</sup> Dra. Marileide Dias Saba

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Claudia Barbieri Ferreira de Mendonça

Rio de Janeiro

2022

*À minha sobrinha “princesinha” Beatriz,  
que trouxe mais Luz e Amor para minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

---

“Sem sonhos, as perdas se tornam insuportáveis, as pedras do caminho se tornam montanhas, os fracassos se transformam em golpes fatais. Mas, se você tiver grandes sonhos... seus erros produzirão crescimento, seus desafios produzirão oportunidades, seus medos produzirão coragem. Nunca desista dos seus sonhos.” Augusto Cury

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

Às meus orientadores Dra. Cláudia Barbieri Ferreira de Mendonça e Dr. Ricardo Sousa Couto. À Cláudia por ter me abraçado com muito carinho nesta caminhada de descobertas, por toda sua atenção, cuidado e confiança em mim. Ao Ricardo, que acreditou na minha capacidade, dedicação me ajudando com valiosos ensinamentos e com toda paciência e atenção, me ensinou a amar e ensina trabalhar com as Dioscoreaceas.

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

A Prof<sup>a</sup> Ana Cristina, que com tanto carinho aceitou a missão de ser revisora desse trabalho tão querido e complexo (rsrsrs).

Ao técnico de laboratório Pedro Cesar Teixeira, toda dedicação em sua ajuda.

Aos amigos do Laboratório de Palinologia, por estarem sempre dispostos a ajudar em qualquer situação.

Elysiane (Elys), sempre apreciei sua visão e discernimento com seu profissionalismo, sua consideração comigo e ajuda foi muito importante, sou muito grata por tudo. Simone, nunca vou esquecer de quando entrei a primeira vez no laboratório e você teve a difícil missão de me ensinar sobre o mundo da palinologia. Obrigada por todos os momentos que compartilhamos (alegrias, tristezas, revoltas, brincadeiras e bobagens), inclusive nossa Eurotrip que ainda virá (rsrsrs).

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

À minha princesinha linda Bibia, que já nasceu brilhando na minha vida, não tenho palavras para expressar meu amor por você. Titia te ama!

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

Ao meu Tio e “Pai” Célio (*in memorian*) que com certeza está muito feliz por mais essa etapa cumprida na minha vida. Ao meu primo Luiz André, por acreditar em mim e nos meus estudos em todos os momentos.

Aos meus irmãos, Thiago e Pedro Paulo. Thiago, que mesmo com o seu jeito de ser sei que torce muito por mim. Ao Pedro Paulo, que com suas palhaçadas alegria os meus dias de stress. Irmãos, nosso amor vai além do que muitos imaginam.

A minha avó Lourdes (*in memorian*) que sempre sonhou e me apoiou com meu doutorado, minha Tia Rosana, meus primos Daniel e Dayane e minha Dinda Maria Regina, vocês sempre acreditaram na minha capacidade e dedicação, em nenhum momento duvidaram. Sou grata por vocês fazerem parte de toda minha vida.

As minhas amigas Alessandra Marques e Claudiana Bieri, por estarem comigo e vibrarem a cada conquista. Alê, com certeza nunca me esquecerei o quanto você é importante na minha vida. Claudinha, obrigada por me ajudar e acreditar em mim, você é única. A sabedoria de vocês duas é um dom de Deus.

Aos meus ex-professores, em especial Lucia Helena Orofino (Lucinha, minha irmã mais velha), um exemplo de profissional e de mulher corajosa à quem tanto amo, por sempre me incentivar, me ajudar e me dar colo com tanta sabedoria. Quando eu crescer quero ser que nem você <3 .

À minha amiga, irmã, médica, cliente, Carolina Martins. Você é incrível, muito melhor que a mulher maravilha, pois os seus poderes vem do amor que transborda no seu coração. Ao casal Alexandre e Dulci, vocês sempre acreditaram em mim e conquistaram o meu coração, minha amizade, meu carinho, amor e respeito. Amo vocês!

À equipe do CENANO, em especial Fernanda e Alan, muito obrigada por toda paciência e cuidado a nossa procura incansável pelos “pólenzinhos”.

Unidade de Microscopia Avançada (UMA) do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) da UFRJ.

À CAPES pela bolsa concedida para a realização desse trabalho.

A Pós-graduação de Botânica do Museu Nacional, por sempre apoiar os alunos nessa jornada.

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

## **Palinologia aplicada à sistemática de *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae)**

Fernanda da Costa Alzer

**Orientação:** Dra. Cláudia Barbieri Ferreira de Mendonça

Dr. Ricardo Sousa Couto

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).

*Dioscoreaceae* é composta por cerca de 650 espécies com distribuição predominante pantropical, com uma ampla variabilidade morfológica é possível observar grandes trepadeiras até espécies anãs. A família apresenta o caule volúvel e não o hábito trepador somente, encontrando apenas alguns exemplos de espécies “não-trepadoras”, mas sempre relacionadas a alguma delimitação de crescimento do caule. Atualmente é aceita como monofilética, porém com algumas relações incertas às outras famílias da ordem Dioscoreales. A família é composta pelos gêneros *Stenomeris* Planch, *Trichopus* Gaertn., *Tacca* J.R. Forst & G. Forst e *Dioscorea* L. (95% das spp.) representando grande parte da diversidade morfológica, química e genética da família. Através da análise morfológica e contribuindo para o conhecimento palinológico de *Dioscoreaceae*, a ser incluído no critério da classificação sistemática atualmente aceita. Os grãos de pólen foram tratados por acetólise láctica, medido, descrito, fotomicrografado e submetido à análise estatística. Utilizamos a análise multivariada, PCA para verificar se os atributos polínicos permitem o agrupamento das espécies e os dados do dendograma HCA para classificar as espécies analisadas, conforme a similaridade das variáveis polínicas. Os grãos de pólen não acetolisados foram depositados em fita de carbono para análise em microscopia eletrônica de varredura. Utilizando os mesmos caracteres embasado no conjunto das variáveis polínicas, uma vez que as espécies possuem diversidades morfológicas importantes, o grão de pólen tem a vantagem de ter seus caracteres morfológicos bem estudados do ponto de vista evolutivo e documentados nos registros fósseis com datação de ocorrência conhecida que podem corroborar na delimitação das espécies estudadas, e descrevendo a



diversidade polínica das espécies da linhagem anãs, pois ajudam a identificar sinapomorfias para ambos os clados, e concluir a evolução das características do grão de pólen realizando a reconstrução no estado ancestral de uma característica existente, portanto avaliar a consistência dos resultados filogenéticos de Couto *et al.* 2018.

Palavras-chave: *Dioscorea*, Dioscoreaceae, evolução, palinologia, sinapomorfias.

**Palynology applied to the systematics of *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae)**

Fernanda da Costa Alzer

**Orientação:** Dra. Claudia Barbieri Ferreira de Mendonça

Dr. Ricardo Sousa Couto

Abstract Doctoral Thesis submitted to the Postgraduate Program in Biological Sciences (Botany), National Museum, Federal University of Rio de Janeiro - UFRJ, as part of the requirements for obtaining the title of Doctor of Biological Sciences (Botany).

Dioscoreaceae is composed of about 650 species with a predominantly pantropical distribution, with a wide morphological variability, it is possible to observe large climbing to dwarf species. The family presents the voluble stem and not only the climbing habit, finding only a few examples of "non-climbing" species, but always related to some delimitation of stem growth. It is now accepted as monophyletic, but with some uncertain relationships to other families in the order Dioscoreales. The family is composed of the genera *Stenomeris* Planch, *Trichopus* Gaertn., *Tacca* J.R. Forst & G. Forst and *Dioscorea* L. (95% of spp.) representing much of the morphological, chemical and genetic diversity of the family. Through morphopollen analysis and contributing to the palynological knowledge of Dioscoreaceae, to be included in the criteria of the currently accepted systematic classification. Pollen grains were treated by lactic acetolysis, measured, described, photomicrographed and subjected to statistical analysis. We used multivariate analysis, PCA to verify if the pollen attributes allow the grouping of the species and the HCA dendrogram data to classify the analyzed species according to the similarity of the pollen variables. The non-acetolized pollen grains were deposited on carbon tape for analysis by scanning electron microscopy. Using the same characters based on the set of pollen variables, since the species have important morphological diversities, the pollen grain has the advantage of having its morphological characters well studied from the evolutionary point of view and documented in fossil records with known date of occurrence that can corroborate in the delimitation of the species studied, and describing the pollen diversity of the species of the dwarf lineage, as they help to identify synapomorphies for both clades, and conclude the evolution of pollen grain

characteristics by performing the reconstruction in the ancestral state of an existing trait, therefore evaluate the consistency of the phylogenetic results of Couto et al. 2018.

Keywords: *Dioscorea*, Dioscoreaceae, evolution, palynology, synapomorphies.

Introdução Geral .....	1
Referências.....	4
<b>Capítulo 1: “Variabilidade morfológica de <i>Dioscorea</i> L. (Dioscoreaceae)” .....</b>	<b>9</b>
Resumo.....	10
Abstract .....	11
1.Introdução .....	12
2.Material e Métodos.....	15
3.Resultados .....	19
4.Discussão .....	74
5.Conclusão .....	82
6. Referências.....	83
7. Material examinado.....	92
<b>Capítulo 2: “Morfologia polínica de linhagens de <i>Dioscorea</i> anãs” .....</b>	<b>100</b>
Resumo .....	101
Abstract .....	102
1.Introdução .....	103
2.Material e métodos .....	105
3.Resultados .....	110
4.Discussão .....	125
5.Conclusão .....	129
6.Referências .....	130
7.Material examinado.....	134
<b>Capítulo 3: “Evolução polínica em <i>Dioscorea</i> L.”.....</b>	<b>138</b>
Resumo .....	139
Abstract .....	140
1.Introdução .....	141
2.Material e Métodos .....	142
3.Resultados e Discussão.....	150
4.Conclusão .....	157
5.Referências.....	170
Considerações Finais.....	178

**Capítulo 1****Quadro 1:** Classificação da família Dioscoreaceae .....13**Capítulo 2****Quadro 1:** Associação dos representantes de *Dioscorea* das 11 linhagens distintas....105

**Capítulo 1**

**Tabela 1:** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=25) em vista polar: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).....28

**Tabela 2:** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) em vista equatorial: diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE).  $\bar{x}$  média aritmética.....32

**Tabela 3:** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) em vista equatorial lateral: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).....33

**Tabela 4:** Médias ( $\mu\text{m}$ ) das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) .....36

**Tabela 5:** Variância cumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA) utilizando caracteres palinológicos de *Dioscorea*.....40

**Capítulo 2**

**Tabela 1:** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=25) em vista polar: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).....115

**Tabela 2:** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) em vista equatorial lateral: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).....116

**Tabela 3:** Médias ( $\mu\text{m}$ ) das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) .....117

**Tabela 4:** Variância cumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA) utilizando caracteres palinológicos de *Dioscorea*.....118

**Capítulo 3**

**Tabela 1:** Lista dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos, e fonte de dados palinológicos.....146

**Tabela 2:** Caracteres polínicos de *Dioscorea* e grupos externos, seus respectivos estados e codificação.....149

**Tabela 3:** Matriz dos caracteres polínicos e seus estados dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos.....164

**Capítulo 1**

<b>Prancha 1:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	42
<b>Prancha 2:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	44
<b>Prancha 3:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	46
<b>Prancha 4:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	48
<b>Prancha 5:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	50
<b>Prancha 6:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	52
<b>Prancha 7:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	54
<b>Prancha 8:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	56
<b>Prancha 9:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	58
<b>Prancha 10:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	60



<b>Prancha 11:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	62
<b>Prancha 12:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	64
<b>Prancha 13:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	66
<b>Prancha 14:</b> Eletromicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> . Cordões das estrias em uma direção .....	68
<b>Prancha 15:</b> Eletromicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> . Cordões das estrias em uma direção .....	70

## **Capítulo 2**

<b>Prancha 1:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	120
<b>Prancha 2:</b> Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de <i>Dioscorea</i> .....	122

**Capítulo 1**

**Figura 1:** Gráfico bidimensional representando espécies de *Dioscorea* L. em Análise do Componente Principal (PCA).....71

**Figura 2.** Dendrograma combinado de dados quantitativos e presença e ausência de espécies de *Dioscorea* L. por análise hierárquica de aglomeração (HCA) .....72

**Capítulo 2**

**Figura 1:** Gráfico bidimensional representando espécies de *Dioscorea* L. em Análise do Componente Principal (PCA).....123

**Figura 2.** Dendrograma combinado de dados quantitativos e presença e ausência de espécies de *Dioscorea* L. por análise hierárquica de aglomeração (HCA) .....124

**Capítulo 3**

**Figura 1-A:** Reconstrução do estado de carácter *tamanho* do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* 2018. (Árvore 1/2).....158

**Figura 1-B:** Reconstrução do estado de carácter *tamanho* do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* 2018. (Árvore 2/2).....159

**Figura 2-A:** Reconstrução do estado de carácter *número de aberturas* do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* 2018. (Árvore 1/2).....160

**Figura 2-B:** Reconstrução do estado de carácter *número de aberturas* do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* 2018. (Árvore 2/2).....161

**Figura 3-A:** Reconstrução do estado de carácter *ornamentação da sexina* do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* 2018. (Árvore 1/2).....162

**Figura 3-B:** Reconstrução do estado de carácter *ornamentação da sexina* do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* 2018. (Árvore 2/2).....163

**Introdução Geral**

**Anexo 1:** Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 1/2) .....7

**Anexo 1:** Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 2/2) .....8

**Capítulo 1**

**Anexo 1:** Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 1/2) .....90

**Anexo 1:** Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 2/2) .....91

**Anexo 2:** Material examinado .....92

**Capítulo 2**

**Anexo 1:** Material examinado .....134

**Anexo 2:** Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 1/2) .....136

**Anexo 2:** Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 2/2).....137

**Capítulo 3**

**Anexo 1:** Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 1/2) .....176

**Anexo 1:** Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 2/2) .....177

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Dioscoreaceae é composta por aproximadamente 650 espécies com distribuição predominante pantropical (Stevens *et al.* 2017). Atualmente a família é aceita como monofilética, com algumas relações incertas às outras famílias da ordem Dioscoreales (Caddick *et al.* 2002, Wilkin *et al.* 2005, Viruel *et al.* (2016, 2018) e Couto *et al.* 2018). A família caracteriza-se por apresentar ampla variabilidade morfológica, sendo possível observar grandes trepadeiras e até espécies anãs com órgão subterrâneo de reserva na maioria das espécies. Os ramos são aéreos, inermes, alados ou aculeados e as folhas apresentam pecíolos com pulvinos nas duas extremidades. As inflorescências estaminadas são axilares ou raramente terminais, isoladas ou agrupadas, e as pistiladas, solitárias. Os frutos são geralmente do tipo cápsula, baga ou sâmara (Couto 2010; Couto *et al.* 2018). A família é composta pelos gêneros *Stenomeris* Planch (2 spp.), *Trichopus* Gaertn. (2 spp.), *Tacca* J.R. Forst. & G. Forst. (17 spp.) e *Dioscorea* L. (633 spp. = 95% das spp. de Dioscoreaceae) representando grande parte da diversidade morfológica, química e genética da família (Govaerts *et al.* 2007).

*Dioscorea* foi revisado por Knuth (1924) onde propôs quatro subgêneros, sendo *Dioscorea* subg. *Helmia* (Knuth) Uline (239 spp.), *D.* subg. *Dioscorea* Pax (337 spp.), *D.* subg. *Stenophora* (Uline) R. Knuth (15 spp.) e *D.* subg. *Testudinaria* (Salisb.) Uline (24 spp), divididos em 52 seções. Segundo a classificação de Knuth (1924) as espécies de *D.* subg. *Helmia* representam 38,8% do gênero, caracterizando-se pela presença de ala expandida em direção à base das sementes. O grupo de espécies deste subgênero distribuiu-se por toda a região tropical, porém possui a maioria de suas espécies ocorrendo na região neotropical.

Em Dioscoreaceae, Wilkin *et al.* (2005) apresentaram um estudo baseado em duas regiões do DNA (*rbcL* e *matK*) de espécies que pertencem a diversas seções de Knuth (1924), encontrando apenas duas seções como monofiléticas (*Enatiophyllum* Uline e *Stenophora* Uline) e os seis outros clados com espécies de diversas seções, demonstrando que as seções apresentadas por Knuth (1924) necessitam de uma revisão com abordagem filogenética. Viruel *et al.* (2016) utilizaram quatro marcadores plástideos de DNA - *atpB*, *matK*, *rbcL*, *trnLF* e Couto *et al.* (2018) e Viruel *et al.* (2018) realizaram estudos filogenéticos com sequenciamentos de DNA, utilizando táxons representantes de *Dioscorea*, onde os resultados mostraram clados monofiléticos em New World I, New World II e também obtiveram o novo clado New World III

(anexo I). Contudo, as classificações infragenéricas não são sustentadas pelas filogenias atuais. Para aprimorar o resultado, é necessário expandir a delimitação das relações filogenéticas quanto à importância da ampliação de terminais para cada clado, utilizando os dados palinológicos.

O uso da Palinologia em vários ramos da ciência, só é possível devido à grande variabilidade morfológica do grão de pólen, que permite caracterizar famílias, gêneros e espécies. Essas características, estabelecidas geneticamente, não estão sujeitas às variações das condições ambientais, o que as torna, em geral, bastante estáveis e de grande valor diagnóstico, com aplicação mais ampla na taxonomia, dando, inclusive, suporte aos estudos cladísticos. Entre os vários caracteres morfológicos, genéticos, moleculares e fitoquímicos, empregados nos estudos cladísticos, o pólen tem a vantagem de ter seus caracteres morfológicos bem estudados do ponto de vista evolutivo e documentados nos registros fósseis com datação de ocorrência conhecida (Melhem *et al.* 2003).

Estudos palinológicos de Dioscoreaceae foram realizados por diversos autores (Erdtman 1952; Schols *et al.* 2001, 2003 e 2005; Wilkin *et al.* 2005, 2009), evidenciando a importância dos caracteres polínicos na taxonomia do grupo. Para o Brasil, destacamos os seguintes trabalhos em palinologia de Dioscoreaceae, Barroso *et al.* (1974), Couto *et al.* (2014), Alzer (2017), Alzer *et al.* (2020) e Luz *et al.* (2020).

O presente estudo teve como objetivo descrever morfológicamente 73 espécies do gênero *Dioscorea* através da análise palinológica, contribuindo para o conhecimento da família e avaliar a possibilidade da utilização dos achados morfopolínicos como um elemento a ser incluído no critério da classificação sistemática e filogenética atualmente aceita. O desenvolvimento deste estudo utilizando-se espécies de *Dioscorea*, espécies representantes das linhagens de *Dioscorea* anãs e outros gêneros da família auxiliará a organização de um novo posicionamento das espécies. Esse trabalho está dividido em três capítulos:

**Capítulo 1 – “Variabilidade morfopolínica de *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae)”**: neste capítulo, os caracteres polínicos forneceram informações importantes sobre a diversidade polínica das espécies de *Dioscorea*.

**Capítulo 2 – “Morfologia polínica de linhagens de *Dioscorea* anãs”**: os caracteres polínicos das espécies anãs aqui estudadas corroboraram os dados da filogenia. A

análise de dados palinológicos com o gráfico de PCA e o cluster puderam esclarecer e registrar dados até esse momento não gerados.

**Capítulo 3 – “Evolução polínica em *Dioscorea* L.”:** através dos atributos polínicos combinados com a reconstrução dos estados e caracteres ancestrais foi possível mostrar mostraram estados de caracteres importantes para os clados existentes em *Dioscorea*, avaliando e aplicando na hipótese filogenética de Couto *et al.* (2018), contribuindo como uma excelente ferramenta na taxonomia geral.



## 2. REFERÊNCIAS:

ALZER, F. C. 2017. Palinotaxonomia de representantes de *Dioscorea* subgênero *Helmia* e *D.* subgênero *Dioscorea* (Dioscoreaceae) ocorrentes no neotrópico. Dissertação de Mestrado – Museu Nacional/UFRJ.

ALZER, F. C.; COUTO, R. S.; LOPES, R. C.; GONÇALVES-ESTEVEES, V. & MENDONÇA, C. B. F. 2020. Palynotaxonomy of Neotropical species of *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae). *Palynology*, 45: 73-86.

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

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

COUTO, R.S. 2010. Dioscoreaceae (R. Br.) Lindley do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) Museu Nacional/UFRJ.

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

COUTO, R.S.; MARTINS, A.C.; BOLSON, M.; LOPES, R.C.; SMIDT, E.C.; BRAGA, J.M.A. 2018. Time calibrated tree of *Dioscorea* (*Dioscoreaceae*) indicated four origins of yams in the Neotropics since Eocene. *Botanical Journal the Linnean Society*, 20: 1-17.

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

GOVAERTS, R.; WILKIN, P. & SAUNDERS, R.M.K. (2007) *World Checklist of the Dioscoreales: yams and their allies*. Royal Botanic Gardens Kew, Kew, 65 pp.

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

LUZ, C.F.P.; BARBUGLIO-SANTIAGO, L.O.; SIMÕES, A.R.G.; SILVA, J.H.; SANTOS, V.L. & KIRIZAWA, M. 2020. Pollen morphology of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) from the Atlantic Forest in southeast Brazil (São Paulo) with a contribution to the systematics of Neotropical species. *Grana* 59:239-257.

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

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

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

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

STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July [2017] <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.

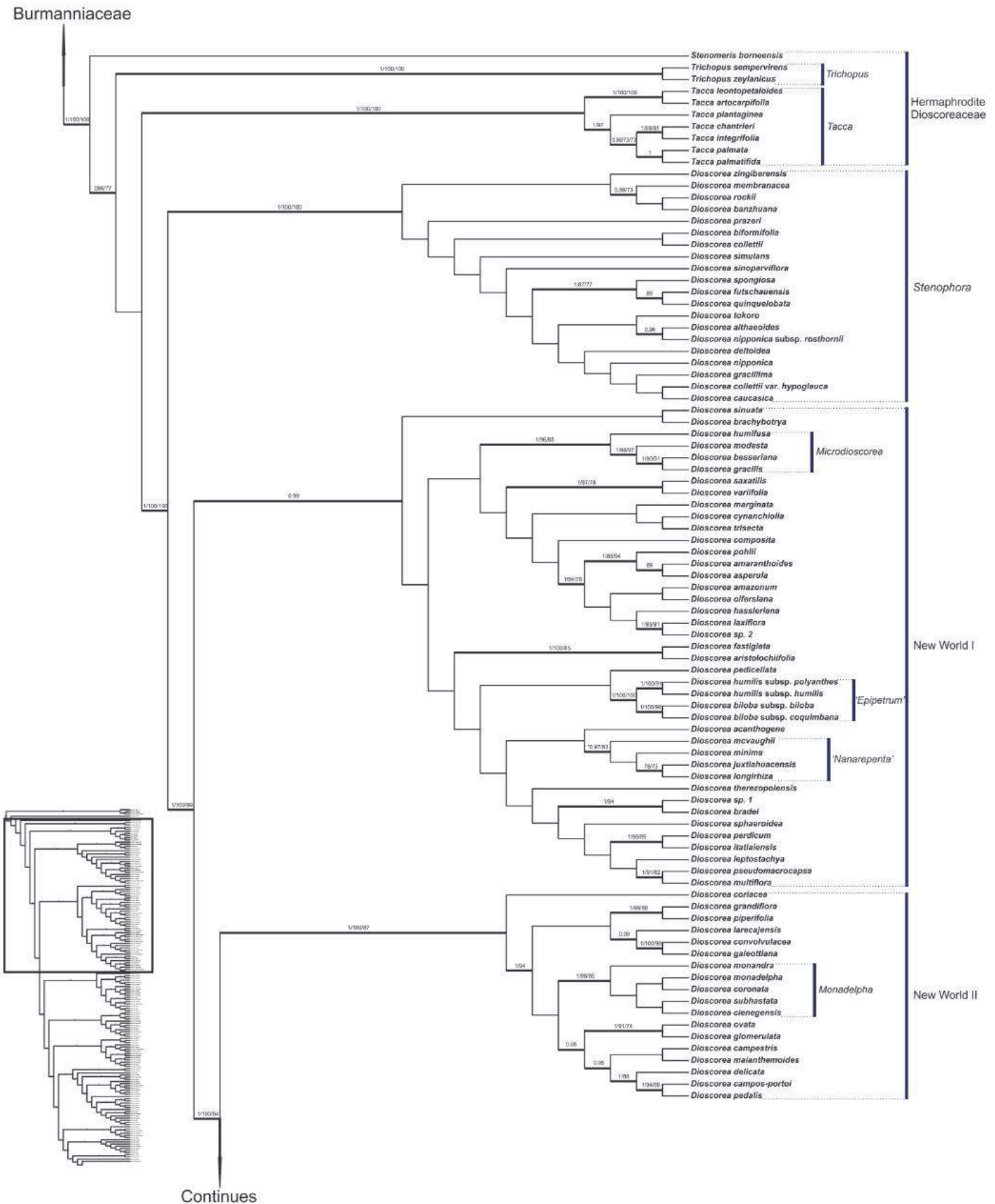
VIRUEL, J.; SEGARRA-MORAGUES, J. G.; RAZ, L., FOREST, F.; SANMARTIN, I.; WILKIN, P. & CATALÁN, P. 2016. Late Cretaceous–Early Eocene origin of yams (*Dioscorea*, Dioscoreaceae) in the Laurasian Palaeartic and their subsequent Oligocene–Miocene Diversification. *Journal of Biogeography*: 43(4): 750-762.

VIRUEL, J.; FOREST, F.; PAUN, O.; CHASE, M.W.; DEVEY, D.; COUTO, R.S.; SEGARRA-MORAGUES, J.G.; CATALÁN, P. & WILKIN, P. 2018. A nuclear *Xdh* phylogenetic analysis of yams (*Dioscorea*: Dioscoreaceae) congruent with plastid trees reveals a new neotropical lineage. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 20:1-15.

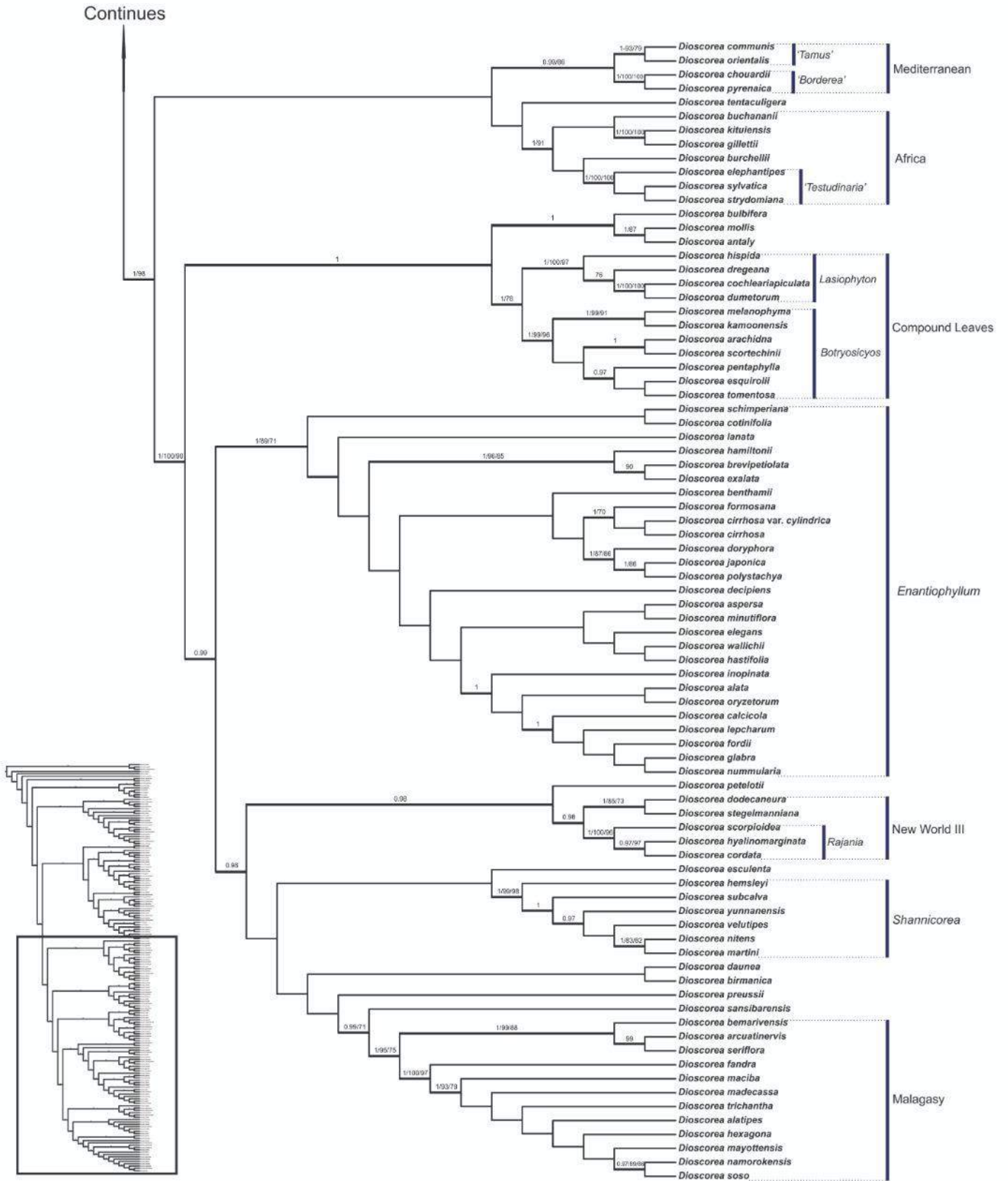
WILKIN, P.; SCHOLS, P.; CHASE, M.W.; CHAYAMARIT, K.; FURNESS, C.A., HUYSMANS, S.; RAKOTONASOLO, F.; SMETS, E. & THAPYAI, C. 2005. A plastid gene phylogeny of the yam genus, *Dioscorea*: Roots, fruits and Madagascar. *Systematic Botany*, 30: 736-749.

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

ANEXO 1: Filogenia do Gênero *Dioscorea* – parte 1/2 (Couto *et al.*, 2018).



ANEXO 1: Filogenia do Gênero *Dioscorea* – parte 2/2 (Couto *et al.*, 2018).



**Capítulo 1:**  
**Variabilidade morfopolínica de espécies de *Dioscorea* L.**  
**(Dioscoreaceae)**

## RESUMO

Dioscoreaceae representa a ordem Dioscoreales com aproximadamente 650 espécies salientando grande riqueza em sua morfologia. O gênero *Dioscorea* é o que mais representa essa variabilidade morfológica pois consiste de 95% das espécies. O presente estudo teve como objetivo descrever morfológicamente 73 espécies do gênero *Dioscorea* através da análise morfológica, contribuindo para o conhecimento palinológico de Dioscoreaceae, pesquisando a possibilidade da utilização dos achados morfológicos como um elemento a ser incluído no critério da classificação sistemática. Os grãos de pólen foram tratados por acetólise láctica, medidos, descritos, fotomicrografados e os resultados submetido à análise estatística. Utilizamos a análise de componentes principais (PCA) para verificar se os atributos polínicos permitem o agrupamento das espécies e a análise hierárquica de agregados (HCA) para classificar as espécies analisadas, conforme a similaridade das variáveis polínicas. Os grãos de pólen não acetolisados foram depositados sobre stubs com em fita de carbono para análise em microscopia eletrônica de varredura. Nossos resultados sugeriram que as espécies estudadas apresentaram grãos de pólen que diferem em tamanho de pequeno-médio, contorno principalmente elíptico, circular e triangular. Registramos grãos de pólen com 1, (-1)2, 2 aberturas na maioria das espécies e nove tipos de ornamentação da sexina (perfurado, microrreticulado, rugulado, birreticulado, reticulado, cristado, vermiculado, verrucado e estriado), onde as estrias apresentaram direções e formas diferentes. Esses resultados micromorfológicos dos caracteres polínicos foram de grande importância na delimitação das espécies.

Palavras-Chave: análise multivariada, grãos de pólen, morfologia, palinologia.

## **ABSTRACT**

Dioscorea is the one that most represents this morphological variability because it consists of 95% of the species. The present study aimed to morphologically describe 73 species of the genus *Dioscorea* through morphopollinic analysis, contributing to the palynological knowledge of Dioscoreaceae, investigating the possibility of using morphopollinic findings as an element to be included in the criteria for systematic classification. Pollen grains were treated by lactic acetolysis, measured, described, photomicrographed and the results submitted to statistical analysis. We used principal component analysis (PCA) to verify if the pollen attributes allow the grouping of the species and hierarchical cluster analysis (HCA) to classify the analyzed species, according to the similarity of the pollen variables. The non-acetolysed pollen grains were deposited on stubs with carbon tape for analysis by scanning electron microscopy. Our results suggested that the species studied had pollen grains that differed in size from small to medium, contour mainly elliptical, circular and triangular. We recorded pollen grains with 1, (-1)2, 2 apertures in most species and nine types of sexine ornamentation (perforated, microreticulate, rugulate, bireticulate, reticulate, crested, vermiculate, verrucate, and striated), where the striations presented different directions and shapes. These micromorphological results of the pollen characters were of great importance in delimiting the species.

Key words: multivariate analysis, pollen grains, morphology, palynology.



## 1. INTRODUÇÃO

*Dioscorea* L. compreende cerca de 95% das espécies de Dioscoreaceae, composto por 650 spp., representando grande parte da diversidade morfológica, química e genética da família (Govaerts *et al.* 2007). Com distribuição predominantemente pantropical, o gênero provavelmente originou-se no final do Cretáceo e início do Eoceno no Paleártico Laurasiano, com uma possível dispersão para a América do Sul (Viruel *et al.* 2016).

Destaca-se por apresentar plantas geralmente dióicas, característica que diferencia as espécies dos outros gêneros da família, que são hermafroditas. Em sua maioria, são trepadeiras, com flores pequenas e tubérculos ricos em amido, utilizadas em grande escala como um alimento de alto valor nutritivo (Couto *et al.* 2018). Vários países tais como África, Brasil, China, Cuba e Índia, cultivam espécies de *Dioscorea* como alimentícia e medicinal. As principais espécies utilizadas como fonte alimentícia são: *D. alata* L.; *D. bulbifera* L.; *D. cayenensis* Lam.; *D. hispida* Dennst; *D. japonica* Thunb; *D. nummularia* Lam.; *D. pentaphylla* L. e *D. rotundata* Poir; para uso medicinal podemos citar as espécies de *D. alata*; *D. bulbifera*; *D. dumetorum* (Kunth) Pax; *D. kamonnensis* Knuth; *D. oppositifolia* L.; *D. pubera* Blume e *D. hamiltonii* Hook F., podendo ser utilizados tubérculos aéreos, folhas, caule e tubérculos subterrâneos de acordo com Chu & Figueiredo-Ribeiro (1991), Pérez *et al.* (2005) e Maneenoon *et al.* (2008).

Segundo Mustafa *et al.* (2018), *Dioscorea* também possui importantes propriedades medicinais devido à riqueza em fitoquímicos, como a diosgenina, além de saponinas, flavonóides, dioscorina e outros constituintes. Destaca-se sua utilização em tratamentos de câncer, antimicrobiano, efeitos no sistema nervoso central e cardiovascular, entre outras. Os autores comentam ainda, ser uma das mais antigas culturas de tubérculos cultivadas ou colhidas na natureza na região tropical e constitui um dos principais itens alimentares de vários grupos tribais.

O gênero *Dioscorea*, descrito por Linnaeus (1753), sofreu várias classificações infragênicas por autores distintos conforme quadro abaixo.

<b>Quadro 1: Classificação da família Dioscoreaceae (Adaptado de Couto, 2010)</b>	
Linnaeus (1753)	Descreveu <i>Dioscorea</i> L. (8 spp.), <i>Rajania</i> L. (4 spp.) e <i>Tamus</i> L. (2 spp.).
Gaertner (1788)	Propôs <i>Trichopus</i> , baseado na espécie-tipo <i>Trichopus zeylanicus</i> , descrita como Aristolochiaceae por Lindley (1832), mas transferida para Dioscoreaceae por Klotzsch (1859).
Jussieu (1788)	Posicionou o gênero <i>Smilax</i> , atualmente em Smilacaceae, e <i>Dioscorea</i> em uma mesma seção, separados de <i>Rajania</i> L. e <i>Tamus</i> L.
De 1789 a 1810	Diversos autores descreveram dezenas de espécies, principalmente para <i>Dioscorea</i> .
Brown (1810)	Incluiu <i>Dioscorea</i> , <i>Rajania</i> e <i>Tamus</i> em um grupo taxonômico, denominado <i>Dioscoreae</i> (antes da designação formal como família e terminação ‘aceae’). Sendo posicionado na categoria família por Lindley (1836).
Salisbury (1824)	Propôs o gênero <i>Testudinaria</i> Salisb., que foi sinonimizado em <i>Dioscorea</i> por Endlicher (1837). Kunth (1850a) e Salisbury (1866) reconheceram <i>Testudinaria</i> novamente.
Grisebach (1842)	Dividiu <i>Dioscorea</i> em 7 seções, baseando-se no número e posição dos estames nas flores estaminadas e também descreveu 31 spp. de <i>Dioscorea</i> e 2 spp. de <i>Rajania</i> , sendo 24 spp. novas.
Uline (1897-1898)	Apresentou sistemática de Dioscoreaceae da América Central, elevando as seções <i>Eudioscorea</i> Pax. e <i>Helmia</i> (Kunth) Benth à categoria subgênero, subdividindo em 50 seções, 8 das quais anteriormente propostas por Grisebach (1842). No ano seguinte, o autor elevou “ <i>Testudinaria</i> ” à categoria de subgênero.
Knuth (1924)	Em uma ampla revisão na família, considerou 9 gêneros distribuídos nas tribos <i>Dioscoreae</i> Pax., <i>Stenomerideae</i> Planch. e o gênero <i>Dioscorea</i> com 4 subgêneros e 58 seções. Descreveu 643 spp., sendo <i>Dioscorea</i> = 613, <i>Higinbothamia</i> Uline = 1, <i>Bordera</i> Miég. = 1, <i>Epipetrum</i> Phil. = 3, <i>Rajania</i> = 24, <i>Tamus</i> = 4, <i>Stenomeris</i> Planch. = 5, <i>Trichopus</i> Gaertn. = 1, <i>Petermannia</i> F Müell. = 1. Para <i>Dioscorea</i> propôs 4 subgêneros: <i>Helmia</i> = 17 seções, <i>Eudioscorea</i> = 38 seções, <i>Stenophora</i> (Uline) Knuth = 2 seções e <i>Testudinaria</i> .
Hutchinson (1934)	Organizou <i>Petermannia</i> para a família Petermanniaceae e incluiu <i>Avetra</i> H. Perr., <i>Trichopus</i> e <i>Stenomeris</i> em Stenomeridaceae. Dioscoreaceae ficou constituída por <i>Dioscorea</i> , <i>Rajania</i> e <i>Tamus</i> em sua classificação.
Burkill (1960)	Organizou as espécies do Velho Mundo em 23 seções e reconheceu afinidades morfológicas com Liliaceae e Smilacaceae.
Couto (2010)	Após um abrangente estudo taxonômico de 184 táxons (2.250 espécimes) com mapas de distribuição geográfica, dados fenológicos e ecológicos e etimologia para cada táxon, separou e delimitou morfológicamente 31 spp. de <i>Dioscorea</i> ocorrentes no Estado do RJ (3 distribuídas de forma pantropical, 17 neotropical, 11 exclusivas de estados brasileiros e destas, 4 endêmicas do Estado do RJ).

Segundo os estudos filogenéticos realizados com dados moleculares e nucleares, os autores Wilkin *et al.* (2005), Viruel *et al.* (2016, 2018) e Couto *et al.* (2018) analisaram diferentes subgêneros e várias seções, observando poucas seções monofiléticas. Couto *et al.* (2018) realizaram o estudo filogenético mais abrangente, com uma maior amostragem dos táxons do neotrópico obtendo quatro clados

neotropicais, New World I (NW I), New World II (NW II), New World III (NW III) e apenas uma espécie isolada (New World IV – NW IV) (Anexo 1).

Ficou clara a importância da ampliação de terminais para cada clado, utilizando novos marcadores moleculares, especialmente nucleares e Next Generation Sequencing (NGS), além do aumento de dados com caracteres morfológicos incluindo anatômicos (Barroso *et al.* 1974, Couto *et al.* 2014 e Tenório *et al.* 2017) e palinológicos (no Brasil Barroso *et al.* 1974 e Couto *et al.* 2014).

Sobre a palinologia de Dioscoreaceae, podemos destacar autores como Erdtman (1952), Su (1987), Roubik & Moreno (1991), Caddick *et al.* (1998), Xifreda (2000), Schols *et al.* (2001, 2003), Schols *et al.* (2005a, b) e Wilkin *et al.* (2009), que demonstraram a importância dos caracteres do grão de pólen na separação das espécies de *Dioscorea*.

Para a região neotropical especificamente, poucos trabalhos de palinologia foram realizados deste gênero: Barroso *et al.* (1974) estudaram as espécies de Dioscoreaceae do município do Rio de Janeiro, tanto no aspecto taxonômico quanto palinológico. Os autores afirmaram que os grãos de pólen são iguais quanto à forma e abertura, podendo variar em relação à estrutura da exina e ao aspecto da superfície.

Estudos mostraram que espécies de *Dioscorea campestris* Griseb. e *Dioscorea pedalis* (Uline ex R.Knuth) R.Couto & J.M.A.Braga, foram separadas baseadas no tamanho dos grãos de pólen e ornamentação da sexina (Couto *et al.* 2014).

Alzer *et al.* (2017, 2020) desenvolveram estudos polínicos com representantes de espécies Neotropicais de *Dioscorea*, onde seus resultados mostraram a importância das diferenças na ornamentação da sexina, no número de aberturas e tamanho para a sistemática do grupo.

Luz *et al.* (2020) estudaram palinologicamente nove espécies de *Dioscorea* ocorrentes na Mata Atlântica do estado de São Paulo, confirmando a diversidade na ornamentação da exina e no tamanho dos grãos de pólen.

Considerando a complexidade taxonômica de *Dioscorea* e a relevância do conhecimento da diversidade polínica no gênero, este trabalho tem como objetivo analisar a morfologia polínica e verificar a possibilidade da utilização dos achados morfológicos como um item a ser incluído no critério da classificação sistemática atualmente aceita (Couto *et al.*, 2018), e aplicar os resultados da Análise do Componente Principal (PCA) para a ordenação das variáveis e a análise de agrupamento (Cluster – AHC) com o objetivo de classificar as espécies analisadas de *Dioscorea*, em

grupos que compartilham (similaridade) utilizando os mesmos caracteres embasados no conjunto das variáveis polínicas, uma vez que as espécies possuem diversidades morfológicas importantes que podem corroborar na delimitação das espécies estudadas.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### ***2.1. Análise Polínica***

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 seguintes herbários:

ESA: Herbário da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo

K: Herbarium Royal Botanic Gardens Kew London, UK

R: Herbário do Museu Nacional, da Universidade Federal do Rio de Janeiro

RB: Instituto de Pesquisa do Jardim Botânico do Rio de Janeiro

RFA: Herbário da Universidade Federal do Rio De Janeiro

S: Naturhistoriska Riksmuseet, Stockholm, SE

As siglas estão de acordo com o Index Herbariorum (Thiers 2019). Priorizaram-se materiais identificados por especialista da família, afim de evitar erros durante as análises palinológicas. O material utilizado no presente estudo foi listado em ordem alfabética de espécie, seguido das principais informações de coleta (Anexo 2).

As lâminas utilizadas no estudo foram depositadas na Palinoteca do Laboratório de Palinologia Álvaro Xavier Moreira, do Departamento de Botânica do Museu Nacional/UFRJ.

### ***2.3. Microscopia de luz***

Para a realização do estudo em microscopia de luz, o material foi processado segundo o método da acetólise láctica 60%, estabelecida por Raynal & Raynal (1971), pelo fato de os grãos de pólen se mostrarem pouco resistentes à acetólise tradicional. As anteras foram colocadas sobre uma lâmina histológica utilizando-se estiletos devidamente flambados e, com auxílio de um bastão de vidro, as mesmas foram maceradas com o intuito de liberar os grãos de pólen. Posteriormente, por meio de uma pipeta, os grãos de pólen receberam de uma a duas gotas da mistura acetolítica, que consiste na combinação de ácido sulfúrico (1,0mL), ácido láctico (6,0mL) e anidrido acético (3,0mL). Após receber a mistura acetolítica, o material foi colocado imediatamente sobre uma placa aquecedora por ca. 30 segundos, para que todo o conteúdo citoplasmático fosse destruído. Quando os grãos de pólen encontravam-se sem conteúdo, todo o processo foi interrompido com uma gota de água morna e uma gota de álcool. Para a montagem das lâminas foi utilizada gelatina glicerinada preparada segundo Kisser (1935 *apud* Erdtman 1952) e cortada em pequenos cubos. Com o auxílio de um estilete, previamente flambado, e devidamente resfriado, os cubos de gelatina entraram em contato com o sedimento polínico e por meio de movimentos giratórios, os grãos de pólen aderiram-se a eles. Distribuíram-se os cubos num mínimo de três lâminas histológicas, previamente limpas, que foram levadas à placa aquecedora para que a gelatina derretesse. Homogeneizou-se o material com o auxílio de um estilete. Colocou-se então, uma lamínula sobre a gelatina glicerinada e lutou-se o conjunto com parafina. Foram colocadas esferas de massa de modelar (ca. 1 mm de diam.) entre a lâmina e a lamínula para evitar o amassamento dos grãos de pólen (Reitsma 1969). As lâminas foram identificadas com o número de registro do herbário de origem do material em questão. As fotomicrografias dos grãos de pólen em microscopia de luz foram realizadas com auxílio de câmera digital Cânon Power Shot G6 acoplada ao microscópio Zeiss Axiostar Plus, na objetiva 100X.

### ***2.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)***

Para análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV), as anteras, sob estereomicroscópio, foram separadas do material herborizado com auxílio de pinça e estiletos previamente esterilizados, maceradas e os grãos de pólen, não acetolisados,

pulverizados sobre suportes de alumínio devidamente numerados e cobertos 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, observado em aparelho MEV Inspect S50, marca FEI, localizado no Centro de Caracterização em Nanotecnologia em Catálise e Materiais (CENANO) e MEV Zeiss EVO MA10, localizado Unidade de Microscopia Avançada (UMA) do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem (CENABIO) da UFRJ. As eletromicrografias de cada espécie foram organizadas em pranchas elaboradas no programa CorelDraw 12.

## **2.5. Medidas**

Do material padrão foram mensurados grãos de pólen em vista polar, vista equatorial e vista equatorial lateral tomados aleatoriamente, em pelo menos três lâminas a fim de homogeneizar a amostra (Salgado-Labouriau 1973). Foram feitas 25 medidas, em microscópio binocular com uma ocular micrométrica, dos diâmetros maior (DM) e menor (Dm) quando em vista polar, dez medidas dos diâmetros polar (DP) e equatorial (DE), quando em vista equatorial; dez medidas dos diâmetros maior (DM) e menor (Dm), quando em vista equatorial lateral; dez medidas das camadas da exina (sexina e nexina), dez medidas da abertura (comprimento, largura, entre aberturas e margem (quando visível). Os grãos de pólen se posicionam na lâmina preferencialmente, em vista polar, tornou-se difícil a obtenção de grãos de pólen em vista equatorial e vista equatorial lateral. Para as mensurações das comparações foram medidos dez grãos de pólen em vista polar. De cada espécime foi montada um mínimo de três lâminas permanentes com os grãos de pólen acetolisados de forma a uniformizar a amostra (Salgado-Labouriau *et al.* 1965). Os grãos de pólen acetolisados foram medidos até três dias após sua preparação, a fim de se evitar qualquer alteração no tamanho do pólen (Salgado-Labouriau 1973, Wanderley & Melhem 1991). As formas e a ornamentação da exina foram analisadas e descritas posteriormente.

## **2.6. Análise Estatística Descritiva**

Com o resultado das amostras foi realizado um tratamento estatístico específico, 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 e da análise morfológica estão apresentados em forma de tabelas.

## **2.7. Terminologia**

A terminologia adotada para descrição dos grãos de pólen foi a de Punt *et al.* (2007) e Hesse *et al.* (2009), levando-se em consideração o tamanho, o contorno e o padrão de ornamentação da sexina. Para a classificação dos grãos de pólen quanto ao tamanho foram utilizados os parâmetros propostos por Erdtman (1952), a saber: pequeno (10-25  $\mu\text{m}$ ); médio (25-50  $\mu\text{m}$ ). De acordo com Alzer *et al.* (2020), os sulcos foram considerados curtos (11,0-14,9  $\mu\text{m}$ ), longos (15,0-20,0  $\mu\text{m}$ ), muito longos (20,1-28,6  $\mu\text{m}$ ), quanto ao tamanho dos sulcos em *Dioscorea*, o que determina de forma mais precisa a área polínica.

## **2.8. Análise Multivariada**

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

As variáveis incluídas nas análises multivariadas foram: Diâmetro Maior - DM, Diâmetro menor - Dm, Monossulcado - Mono, Dissulcado - Di, Comprimento do Sulco - CS, Largura do Sulco - LS, Margem - M, Ornamentação - Orn, com suas respectivas numerações.

Os dados categóricos foram expressos na matriz, levando em consideração as seguintes categorias:

Sulco: (0) ausência e (1) presença;

Ornamentação: (0) perfurada, (1) estriada, (2) microrreticulada, (3) rugulada, (4) birreticulada, (5) vermiculada, (6) cristada, (7) reticulada e (8) verrucada.

A matriz utilizada para a análise multivariada (PCA e Cluster) foi transformada pela raiz quadrada de potência 0.5 a fim de padronizar os dados mensuráveis. Para a ordenação das variáveis realizou-se a análise de componente principal (PCA) para verificar se os atributos polínicos permitem o agrupamento das espécies. A matriz de variância e covariância (var-cov) foi obtida a partir da média dos dados morfométricos na análise palinológica, ordenadas em um gráfico biplot com base na distância euclidiana. Os resultados foram mostrados em um gráfico bidimensional com o primeiro e segundo componente principal. Os valores dos vetores em cada eixo e o total da variância acumulativa foram representados em tabelas, assim como a matriz de caracteres para análise de agrupamento.

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

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Tamanho

O tamanho dos grãos de pólen variou de pequeno a médio. Das espécies analisadas a maioria dos grãos de pólen foram pequenos (49 espécies) e 24 espécies apresentaram-se médios (Tabela 1). Em vista polar, os grãos de pólen pequenos registraram as menores dimensões do diâmetro maior (DM) em *D. tomentosa* (13,0 µm) e as maiores dimensões do diâmetro maior (DM) foram registradas em *D. basiclavicaulis* (25,0 µm). Grãos de pólen médios apresentaram as menores dimensões do diâmetro maior (DM) registradas em *D. alata*, *D. deltoidea* e *D. sansibarensis* (25,2 µm) e as maiores dimensões do diâmetro maior (DM) registradas em *D. elephantipes* (34,8 µm) (Tabela 1).



Em vista equatorial, foi possível observar apenas sete espécies, a maior dimensão do diâmetro polar (DP) foi registrada em *D. nipponica* (17,9 µm) e em diâmetro equatorial (DE) foi registrado em *D. bemarivensis* (10,1 µm) (Tabela 2).

Em vista equatorial lateral, a maior dimensão do diâmetro maior (DM) foi registrada em *D. bradei* (24,0 µm) e do diâmetro menor (Dm) para *D. cienegensis* (16,1 µm). Enquanto a menor dimensão do diâmetro maior (DM) foi registrada em *D. hyalinomarginata* (10,0 µm) e do diâmetro menor (Dm) para *D. floribunda* (3,5 µm) (Tabela 3).

### 3.2. Unidade de dispersão, polaridade e contorno

Todas as espécies de *Dioscorea* apresentaram grãos de pólen em mônades, heteropolares, em vista polar e em vista equatorial o contorno se apresentou na maioria das espécies elíptico, exceto em *D. bartlettii* e *D. dregeana* (triangular em vista polar, prancha 2 – A e prancha 7 - B), *D. bemarivensis* e *D. tomentosa* (circular em vista polar, prancha 2 – E e prancha 13 – G, H), *D. gracillima* e *D. quinquelobata* (circular em vista equatorial lateral, prancha 8 – J e prancha 12 - F).

### 3.3. Abertura

Grãos de pólen com dois sulcos foram observados na maioria das espécies (prancha 1 – A, D, I, J, K), (prancha 2 – A, C, J, K), (prancha 3 – B, C, D, H - K, M), (prancha 4 – A, B, D, E, G, I, K), (prancha 5 – A, B, G, H - K), (prancha 6 – B, K, M), (prancha 7 – D, G), (prancha 8 – B, D, E), (prancha 9 – D, K, L), (prancha 10 – A, C, J), (prancha 11 – A, D, E, J - M), (prancha 12 – D, J, L), (prancha 13 – A, K); com 1 sulco foram encontrados em *D. gracillima* (prancha 8 – I, J, K), *D. tokoro* (prancha 13 – E) e com 1-2 sulcos em *D. asperula* (prancha 1 – G, H), *D. bemarivensis* (prancha 2 – E, F, H, I), *D. deltoidea* (prancha 6 – D, E), *D. fandra* (prancha 7 – I, J), *D. orientalis* (prancha 11 – G, H), *D. villosa* (prancha 13 – J, K). A maioria das espécies apresentou margem nos sulcos com ca. de 0,9 µm, exceto *D. amazonum*, *D. dregeana* e *D. sansibarensis* que não possuem margem. Os sulcos foram de difícil mensuração sob microscopia de luz devido alguns grãos de pólen sofrerem ruptura com o processo de acetólise, sendo possível sua visualização melhor sob microscopia eletrônica de varredura. O maior valor para o comprimento do sulco em *Dioscorea* foi registrado em

*D. elephantipes* (sulco muito longo - 28,6  $\mu\text{m}$ ) e o menor em *D. hyalinomarginata* (sulco curto - 11,0  $\mu\text{m}$ ) e quanto a largura o maior valor em *Dioscorea* foi em *D. hamiltonii* (6,2  $\mu\text{m}$ ) e o menor em *D. amaranthoides* (2,4  $\mu\text{m}$ ). A distância entre aberturas com maior valor foi registrada em *D. pedicellata* (21,0  $\mu\text{m}$ ) e de menor valor em *D. cotinifolia* (4,2  $\mu\text{m}$ ) (Tabela 4). As espécies apresentaram membrana ornamentada no sulco: cristas em *D. asperula* (prancha 1 – H), estrias em *D. bemarivensis* (prancha 2 – H) e *D. medusae* (prancha 11 – B), estrias com perfurações em *D. villosa* (prancha 13 – K), estrias com grânulos em *D. macrostachya* (prancha 10 – J) e *D. tokoro* (prancha 13 – E) e granular com espículos em *D. floribunda* (prancha 8 – D), *D. trisecta* (prancha 13 – I) e *D. spiculiflora* (prancha 13 – A).

### 3.4. Estratificação e ornamentação da sexina

As espécies apresentaram variações na espessura das camadas da exina. A exina mais espessa é registrada em *D. pallens* (2,2  $\mu\text{m}$ ) e a menos espessa é registrada em *D. japonica* (0,7  $\mu\text{m}$ ). A sexina foi tão espessa quanto à nexina em 25 espécies, mais espessa que a nexina em 19 espécies e menos espessa em 10 espécies. Não foi possível observar a divisão entre sexina e nexina em 18 espécies e em *D. glabra* não foi possível observar as medidas da espessura das camadas da exina, das aberturas e da margem devido a difícil visualização do estado do material (Tabela 4).

A ornamentação da sexina variou entre as espécies, sendo perfurada em 25 espécies, estriada em 20 espécies, microrreticulada em 11 espécies, rugulada em nove espécies, birreticulada em três espécies, vermiculada em duas espécies, cristada, reticulada e verrucada em uma espécie respectivamente.

#### I. Perfurada:

##### A. Teto regular

*Dioscorea baracoensis*: (Prancha 1 – L).

*Dioscorea basiclavicaulis*: (Prancha 2 – D).

*Dioscorea caronis*: (Prancha 4 – A).

*Dioscorea cinnamomifolia*: (Prancha 4 – F).

*Dioscorea cochleari-apiculata*: (Prancha 4 – H).

*Dioscorea collettii*: (Prancha 4 – I).  
*Dioscorea debilis*: (Prancha 6 – A).  
*Dioscorea densiflora*: (Prancha 6 – I).  
*Dioscorea dregeana*: (Prancha 7 – A).  
*Dioscorea hispida*: (Prancha 9 – I).  
*Dioscorea kamoonsensis*: (Prancha 10 – C).  
*Dioscorea leptostachya*: (Prancha 10 – H)  
*Dioscorea pentaphylla*: não foi possível o registro de foto.  
*Dioscorea schimperiana*: (Prancha 12 – M).  
*Dioscorea* sp nova1: (Prancha 1 - I)  
*Dioscorea tomentosa*: (Prancha 13 – H)

## **B. Teto irregular**

*Dioscorea cyanistica*: (Prancha 5 – K).  
*Dioscorea dumetorum*: (Prancha 7 – D).  
*Dioscorea fordii*: (Prancha 8 – G).  
*Dioscorea glabra*: (Prancha 8 – H).  
*Dioscorea hamiltonii*: (Prancha 9 – C).  
*Dioscorea nummularia*: (Prancha 11 –D).  
*Dioscorea pallens*: (Prancha 11 – J).  
*Dioscorea polygonoides*: (Prancha 12 – A).  
*Dioscorea sp nova2*: (Prancha 11 –M).

## **II. Estriada:**

### **A. Cordões das estrias em uma direção**

*Dioscorea cynanchifolia*: cordões das estrias de superfície arredondada e estreita (Pranchas 5 – L, 14 - A).

### **C. Cordões das estrias em 2 direções**

*Dioscorea bartlettii*: cordões das estrias altos, estreitos e com perfurações entre eles (Pranchas 2 – B, 14 - B).

*Dioscorea composita*: cordões das estrias altos, estreitos e com perfurações entre eles (Pranchas 5 – A, 14 - C).

*Dioscorea hyalinomarginata*: cordões das estrias de superfície arredondada e estreita (Pranchas 9 – K, 14 - D).

*Dioscorea quinquelobata*: cordões das estrias de superfície arredondada, estreita e com perfurações entre eles (Pranchas 12 – E, 14 - E).

*Dioscorea tokoro*: cordões das estrias de superfície arredondada, estreita e com perfurações entre eles (Pranchas 13 – F, 14 - F).

*Dioscorea trisecta*: cordões das estrias altos, estreitos e com perfurações entre eles (Pranchas 13 – I, 14 - G).

### **C. Cordões das estrias em 3 direções**

*Dioscorea amaranthoides*: cordões das estrias de superfície arredondada e estreita (Pranchas 1 – C, 14 - H).

*Dioscorea fandra*: cordões das estrias estreitos com perfurações entre eles (Pranchas 7 – K, 14 - I).

*Dioscorea macrostachya*: cordões das estrias estreitos com perfurações entre eles (Pranchas 10 – K, 14 - J).

*Dioscorea remotiflora*: cordões das estrias de superfície arredondada e estreita. (Pranchas 12 – G, 14 - K).

*Dioscorea villosa*: cordões das estrias de superfície arredondada, estreita e com perfurações entre eles (Pranchas 13 – L, 14 - L).

### **D. Cordões das estrias em 4 ou mais direções**

*Dioscorea amazonum*: cordões das estrias altos, estreitos e com perfurações entre eles (Pranchas 1 – F, 15 – A).

*Dioscorea bemarivensis*: cordões das estrias de superfície arredondada e estreita (Pranchas 2 – I, 15 - B).

*Dioscorea flabelispina*: cordões das estrias de superfície arredondada, estreita e com perfurações entre eles (Pranchas 8 – C, 15 - C).

#### **E. Cordões das estrias interligadas (bifurcadas) entre elas**

*Dioscorea floribunda*: cordões das estrias altos, estreitos, com perfurações entre eles e em duas direções distintas (Pranchas 8 – F, 15 - D).

*Dioscorea laxiflora*: cordões das estrias altos, estreitos, com perfurações entre eles e em diversas direções (Pranchas 10 – D, 15 - E).

*Dioscorea medusae*: cordões das estrias altos, estreitos, com perfurações entre eles e em diversas direções (Pranchas 11 – C, 15 – F, G).

*Dioscorea spiculiflora*: cordões das estrias altos, estreitos, com perfurações entre eles e de duas as três direções distintas (Pranchas 13 – B, 15 – H, I).

#### **F. Cordões das estrias dispostos em círculos e polígonos**

*Dioscorea gracillima*: cordões das estrias de superfície arredondada, estreita e com perfurações entre eles (Pranchas 8 – I, L, 15 – J, K).

### **III. Microrreticulada:**

*Dioscorea alata*: (Prancha 1 - B).

*Dioscorea birmanica*: muros sinuosos, estreitos com cristas. (Prancha 2 – L).

*Dioscorea campanulata*: (Prancha 3 – N).

*Dioscorea communis*: muros com perfurações, estreitos, sinuosos, com cristas. E lúmens com grânulos no seu interior. (Prancha 4 – L).

*Dioscorea cotinifolia*: muros com cristas (Prancha 5 – G).

*Dioscorea deltoidea*: muros estreitos e sinuosos (Prancha 6 – F).

*Dioscorea dodecaneura*: (Prancha 6 – M).

*Dioscorea japonica*: com presença de birretículo (Prancha 9 – L).

*Dioscorea nipponica*: (Prancha 11 – C).

*Dioscorea orientalis*: heterobrocada, muros altos, sinuosos, com cristas e lúmens com grânulos no interior (Prancha 11- I).

*Dioscorea polystachya*: muros estreitos com cristas (Prancha 12-B).

#### **IV. Rugulada: rúgulas com perfurações**

*Dioscorea carpomaculata*: (Prancha 4-B).

*Dioscorea cordata*: (Prancha 5 – C).

*Dioscorea coriacea*: (Prancha 5 – E).

*Dioscorea elephantipes*: (Prancha 7 – H).

*Dioscorea hassleriana*: (Prancha 9 – F).

*Dioscorea hastifolia*: (Prancha 9 – G).

*Dioscorea sansibarensis*: (Prancha 12 – K).

*Dioscorea sylvatica*: (Prancha 13 – D).

*Dioscorea pseudomacrocapsa*: com microrretículos (Prancha 12 - D).

#### **V. Birreticulada:**

*Dioscorea brachybotrya*: heterobrocada, muros altos e sinuosos com cristas (Prancha 3 – D).

*Dioscorea buchananii*: com perfurações, muros espessos e levemente arredondados (Prancha 3 - L).

*Dioscorea cienegensis*: heterobrocada, muros espessos e levemente arredondados (Prancha 4 – D).

#### **VI. Vermiculada:**

*Dioscorea delicata*: com muros arredondados (Prancha 6 – C).

*Dioscorea preussi*: com muros arredondados e perfurações (Prancha 12 – C).

#### **VII. Cristada:**

*Dioscorea asperula*: cristas altas de base estreita com a borda afiada (Prancha 1 – G).

#### **VIII. Reticulada:**

*Dioscorea bradei*: heterobrocada, muros altos com pequenas cristas e grânulos no interior dos lúmens (Prancha 3 – H).

## **IX. Verrucada:**

*Dioscorea pedicellata*: com rúgulas, muros largos com perfurações (Prancha 11 – L).

### **3.5. Análises Multivariadas**

#### **3.5.1. Análise de componente principal (PCA)**

O resultado do PCA explicou 80,54 % do total da variância. Os dois primeiros eixos principais foram significativos, com 54,19 % e 26,35 % de variância, respectivamente (Tabela 5). A ornamentação da sexina, comprimento do sulco e diâmetro maior, foram as variáveis significativas para o eixo 1. No segundo eixo as variáveis que apresentaram valores significativos foram ornamentação da sexina, quantidade de sulco e diâmetro menor (Figura 1).

#### **3.5.2. Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA)**

As relações entre as espécies analisadas produziram um dendrograma com percentual de encadeamento de 40,00 %. Ao levar em consideração o percentual de informações (variáveis) e a quantidade final de cluster formados, observa-se a formação de três cluster, quando analisadas 50% das informações remanescentes (Figura 2).

- Cluster 1: *D. alata*, *D. amaranthoides*, *D. amazonum*, *D. bartlettii*, *D. birmanica*, *D. brachybotrya*, *D. bradei*, *D. buchananii*, *D. camponulata*, *D. carpomaculata*, *D. cienegensis*, *D. communis*, *D. coriacea*, *D. cynanchifolia*, *D. deltoidea*, *D. dodecaneura*, *D. elephantipes*, *D. fandra*, *D. flabelispina*, *D. floribunda*, *D. gracillima*, *D. hassleriana*, *D. laxiflora*, *D. macrostachya*, *D. medusae*, *D. nipponica*, *D. orientalis*, *D. pedicellata*, *D. polystachya*, *D. quinquelobata*, *D. remotiflora*, *D. sansibarensis*, *D. spiculiflora*, *D. sylvatica*, *D. tokoro* e *D. trisecta*.

- Cluster 2: *D. asperula*, *D. bemarivensis*, *D. cordata*, *D. cotinifolia*, *D. delicata*, *D. hastifolia*, *D. hyalinomarginata*, *D. japonica*, *D. pentaphylla*, *D. preussii*, *D. pseudomacrocaps* e *D. villosa*.

- Cluster 3: *D. baracoensis*, *D. basiclavicaulis*, *D. carionis*, *D. cinnamomifolia*, *D. cochleari-apiculata*, *D. colletii*, *D. cyanisticta*, *D. debilis*, *D. densiflora*, *D. dregeana*, *D. dumetorum*, *D. fordii*, *D. glabra*, *D. hamiltonii*, *D. hispida*, *D. kamoensis*, *D. leptostachya*, *D. numularia*, *D. pallens*, *D. polygonoides*, *D. schimperiana*, *D. sp nova 1*, *D. sp nova 2* e *D. tomentosa*.



**Tabela 1.** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=25) em vista polar: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).

Espécies	Diâmetro Maior			Diâmetro Menor		
	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s\bar{x}$	I.C. 95%	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s\bar{x}$	I.C. 95%
<i>Dioscorea alata</i> L.	20,0-30,0	25,2 $\pm$ 0,6	24,0-26,4	10,0-20,0	15,0 $\pm$ 0,5	13,9-16,0
<i>Dioscorea amaranthoides</i> Presl.	15,0-20,0	18,6 $\pm$ 0,3	18,0-19,1	11,3-17,5	13,5 $\pm$ 0,3	12,8-14,2
<i>Dioscorea amazonum</i> Griseb.	25,0-32,5	28,8 $\pm$ 0,4	28,0-29,6	15,0-22,5	19,8 $\pm$ 0,4	18,9-20,7
<i>Dioscorea asperula</i> Pedralli	15,0-25,0	22,4 $\pm$ 0,5	21,4-23,4	12,5-25,0	19,2 $\pm$ 0,6	18,0-20,4
<i>Dioscorea baracoensis</i> (R. Knuth) Raz	17,5-21,3	19,2 $\pm$ 0,2	18,7-19,7	10,0-16,3	13,3 $\pm$ 0,4	12,5-14,1
<i>Dioscorea bartlettii</i> Morton	20,0-25,0	23,8 $\pm$ 0,3	23,2-24,4	17,5-22,5	19,6 $\pm$ 0,3	18,9-20,2
<i>Dioscorea basiclavicaulis</i> Rizzini & A. Mattos	22,5-30,0	25,0 $\pm$ 0,5	24,0-25,9	15,0-20,0	17,7 $\pm$ 0,4	16,8-18,5
<i>Dioscorea bemarivensis</i> Jum. & H. Perrier	15,0-17,5	16,2 $\pm$ 0,2	15,7-16,6	11,3-15,0	13,1 $\pm$ 0,2	11,3-15,0
<i>Dioscorea birmanica</i> Prain & Burkill	20,0-25,0	23,2 $\pm$ 0,3	22,5-23,9	13,8-20,0	16,8 $\pm$ 0,4	16,0-17,5
<i>Dioscorea brachybotrya</i> Poepp.	25,0-30,0	27,1 $\pm$ 0,3	26,4-27,8	20,0-22,5	21,2 $\pm$ 0,2	20,8-21,6
<i>Dioscorea bradei</i> R. Knuth	22,5-30,0	26,7 $\pm$ 0,4	25,9-27,4	21,3-27,5	24,1 $\pm$ 0,4	23,3-24,8
<i>Dioscorea buchananii</i> Benth.	27,5-32,5	30,3 $\pm$ 0,3	29,6-31,0	20,0-26,3	23,3 $\pm$ 0,3	22,7-23,9
<i>Dioscorea campanulata</i> Uline ex R. Knuth	20,0-27,5	24,4 $\pm$ 0,4	23,5-25,3	15,0-20,0	16,9 $\pm$ 0,3	16,2-17,6
<i>Dioscorea carionis</i> Prain & Burkiel	20,0-25,0	22,9 $\pm$ 0,2	22,4-23,4	12,5-17,5	14,8 $\pm$ 0,3	14,1-15,4
<i>Dioscorea carpomaculata</i> Téllez & Schubert	25,0-27,5	25,8 $\pm$ 0,2	25,3-26,3	12,5-20,0	17,2 $\pm$ 0,4	16,4-18,0
<i>Dioscorea cienegensis</i> R. Knuth	25,0-31,3	27,0 $\pm$ 0,3	26,3-27,7	15,0-25,0	20,1 $\pm$ 0,5	18,9-21,2
<i>Dioscorea cinnamomifolia</i> Hook.	22,5-25,0	23,7 $\pm$ 0,2	23,2-24,2	12,5-20,0	14,7 $\pm$ 0,4	14,0-15,4

<i>Dioscorea cochleari-apiculata</i> De Wild	15,0-22,5	18,8±0,4	18,0-19,6	10,0-20,0	16,7±0,5	15,5-17,8
<i>Dioscorea colletii</i> Hook. F.	17,5-25,0	20,8±0,4	19,9-21,7	15,0-20,0	17,2±0,3	16,6-17,7
<i>Dioscorea communis</i> (L.) Caddick & Wilkin	25,0-35,0	29,4±0,4	28,5-30,3	17,5-30,0	23,2±0,5	22,1-24,3
<i>Dioscorea composita</i> Heml.	20,0-25,0	21,7±0,3	21,0-22,3	12,5-20,0	15,3±0,4	14,4-16,2
<i>Dioscorea cordata</i> (L.) Raz	15,0-17,5	16,6±0,2	16,1-17,0	11,3-15,0	13,1±0,2	12,6-13,6
<i>Dioscorea coriacea</i> Humb. & Bonpl. Ex Will	22,5-27,5	25,6±0,3	25,0-26,2	12,5-20,0	15,6±0,5	14,5-16,6
<i>Dioscorea cotinifolia</i> Kunt	15,0-20,0	17,6±0,2	17,1-18,1	12,5-17,5	14,1±0,3	13,5-14,7
<i>Dioscorea cyanistica</i> Donh. Sm.	23,8-28,0	25,8±0,3	25,2-26,3	16,0-20,0	18,0±0,3	17,4-18,6
<i>Dioscorea cynanchifolia</i> Griseb.	22,5-27,5	24,3±0,3	23,6-24,9	15,0-27,5	19,0±0,7	17,4-20,5
<i>Dioscorea debilis</i> Uline ex. R. Knuth	22,5-30,0	26,7±0,4	25,9-27,4	12,5-17,5	15,6±0,4	14,8-16,4
<i>Dioscorea delicata</i> R.Knuth	17,5-22,5	19,3±0,4	18,5-20,1	10,0-20,0	15,9±0,5	14,9-16,9
<i>Dioscorea deltoidea</i> Wall. ex Griseb.	22,5-30,0	25,2±0,5	24,2-26,1	12,5-25,0	20,1±0,6	18,7-21,4
<i>Dioscorea densiflora</i> Hemsl.	20,0-27,5	24,1±0,3	23,4-24,7	10,0-22,5	16,7±0,8	15,1-18,3
<i>Dioscorea dodecaneura</i> Vell.	22,5-32,5	27,7±0,5	26,8-28,7	15,0-22,5	17,9±0,4	17,1-18,6
<i>Dioscorea dregeana</i> (Kunth) T. Durand & Schinz	15,0-18,0	16,8±0,2	16,5-17,2	13,0-18,0	15,4±0,2	14,9-15,9
<i>Dioscorea dumetorum</i> (Kunth) Pax	19,0-22,5	20,5±0,2	20,1-20,9	11,0-17,0	13,1±0,3	12,5-13,8
<i>Dioscorea elephantipes</i> (L'Hér.) Engl.	30,0-42,5	34,8±0,7	33,3-36,3	17,0-30,0	24,4±0,9	22,5-26,3
<i>Dioscorea fandra</i> H. Perrier	26,0-30,0	27,8±0,2	27,3-28,2	22,0-27,0	24,4±0,3	23,7-25,1
<i>Dioscorea flabelispina</i> Couto et al.	21,0-30,0	26,2±0,4	25,2-27,1	17,0-25,0	21,6±0,4	20,6-22,6
<i>Dioscorea floribunda</i> M. Martens & Galeotti	17,5-25,0	22,1±0,4	21,2-22,9	15,0-20,0	18,5±0,3	17,9-19,1
<i>Dioscorea fordii</i> Prain & Burkill	16,0-19,0	17,7±0,2	17,4-18,1	9,0-15,0	12,0±0,3	11,3-12,7
<i>Dioscorea glabra</i> Roxb.	15,0-22,5	18,0±0,4	17,2-18,8	7,5-15,0	11,2±0,4	10,4-12,0

<i>Dioscorea gracillima</i> Miq.	17,5-28,0	22,9±0,5	22,0-23,9	12,5-24,0	19,0±0,5	18,0-20,1
<i>Dioscorea hamiltonii</i> Hook. F.	18,0-25,0	21,2±0,3	20,5-21,8	10,0-20,0	16,6±0,6	15,4-17,9
<i>Dioscorea hassleriana</i> Chodat	23,0-30,0	26,2±0,4	25,5-27,0	17,0-25,0	20,4±0,4	19,5-21,2
<i>Dioscorea hastifolia</i> Nees	15,0-20,0	17,7±0,3	17,1-18,2	10,0-17,5	14,0±0,4	13,3-14,7
<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.	15,0-20,0	17,5±0,2	17,1-17,9	11,0-16,0	13,7±0,3	13,1-14,3
<i>Dioscorea hyalinomarginata</i> Raz	12,5-16,3	14,0±0,3	13,4-14,6	7,0-12,5	9,3±0,3	8,6-9,9
<i>Dioscorea japonica</i> Thunb.	12,5-17,5	15,2±0,3	14,6-15,7	10,0-15,0	12,1±0,3	11,4-12,7
<i>Dioscorea kamoensis</i> Knuth	15,0-20,0	17,7±0,3	17,1-18,2	12,5-17,5	14,7±0,2	14,1-15,2
<i>Dioscorea laxiflora</i> Mart. ex Griseb	23,8-30,0	26,7±0,4	25,8-27,5	12,5-20,0	15,0±0,4	14,1-15,9
<i>Dioscorea leptostachya</i> Gardner	17,5-30,0	23,9±0,5	22,8-25,0	10,0-22,5	15,2±0,8	13,5-16,9
<i>Dioscorea macrostachya</i> Benth.	17,5-30,0	23,6±0,6	22,3-24,9	12,5-20,0	16,3±0,5	15,3-17,3
<i>Dioscorea medusae</i> F.Fraga, R.Couto & J.M.A.Braga	22,5-27,5	24,7±0,3	24,1-25,2	12,5-20,0	16,3±0,4	15,4-17,1
<i>Dioscorea nipponica</i> Makino	20,0-27,5	22,1±0,4	21,2-23,0	11,3-20,0	14,6±0,5	13,7-15,5
<i>Dioscorea nummularia</i> Lam.	15,0-22,5	18,6±0,4	17,8-19,3	10,0-17,5	13,5±0,3	12,7-14,2
<i>Dioscorea orientalis</i> (J. Thiébaud) Caddick & Wilkin	25,0-30,0	26,5±0,4	25,8-27,2	17,5-25,0	20,2±0,5	19,2-21,2
<i>Dioscorea pallens</i> Schlecht	22,5-27,5	25,7±0,3	25,1-26,3	15,5-22,5	19,0±0,4	18,0-19,9
<i>Dioscorea pedicellata</i> Phil.	27,5-42,5	33,7±0,7	32,3-35,1	27,5-42,5	32,6±0,7	31,2-34,0
<i>Dioscorea pentaphylla</i> L.	15,0-17,5	15,5±0,2	15,1-15,8	11,3-15,0	13,0±0,2	12,6-13,4
<i>Dioscorea polygonoides</i> Humb. & Bonpl. ex Wild.	22,5-30,0	28,1±0,4	27,2-29,0	12,5-22,5	17,2±0,5	16,2-18,2
<i>Dioscorea polystachya</i> Turcz.	20,0-25,0	24,4±0,3	23,9-24,9	12,5-17,5	15,9±0,3	16,6-15,2
<i>Dioscorea preussii</i> Pax	17,5-20,0	18,7±0,2	18,1-19,2	10,0-15,0	12,0±0,4	11,2-12,8
<i>Dioscorea pseudomacropsa</i> G.M.Barroso et al.	17,5-25,0	20,3±0,4	19,4-21,2	12,5-22,5	16,2±0,5	15,1-17,3

<i>Dioscorea quinquelobata</i> Thunb.	20,0-27,5	23,7±0,4	22,8-24,5	12,5-21,3	17,5±0,4	16,5-18,4
<i>Dioscorea remotiflora</i> Kunth	20,0-27,5	23,9±0,3	23,2-24,6	11,3-21,3	15,9±0,5	15,0-16,9
<i>Dioscorea sansibarensis</i> Pax	22,5-30,0	25,2±0,4	24,4-26,0	15,0-22,5	18,3±0,5	17,3-19,3
<i>Dioscorea schimperiana</i> Hochst. ex Kunth	15,0-20,0	16,7±0,3	16,0-17,3	10,0-15,0	13,9±0,3	13,3-14,4
<i>Dioscorea spiculiflora</i> Hemsl.	20,0-25,0	23,0±0,3	22,3-23,7	12,5-18,8	15,6±0,4	14,8-16,3
<i>Dioscorea sp nova1</i>	22,5-27,5	24,1±0,3	23,4-24,8	15,0-20,0	18,1±0,3	17,5-18,7
<i>Dioscorea sp nova2</i>	17,5-22,5	20,1±0,2	19,6-20,6	10,0-18,8	13,6±0,4	12,8-14,4
<i>Dioscorea sylvatica</i> Eckl.	22,5-30,0	26,3±0,5	25,2-27,3	15,0-20,0	17,5±0,4	16,7-18,2
<i>Dioscorea tokoro</i> Makino ex Miyabe	20,0-25,0	23,2±0,3	22,4-23,9	15,0-20,0	17,8±0,3	17,2-18,4
<i>Dioscorea tomentosa</i> J. Köning ex Spreng	12,5-20,0	13,0±0,3	16,1-17,7	10,0-15,0	13,0±0,3	12,5-13,5
<i>Dioscorea trisecta</i> Griseb.	20,0-25,0	22,3±0,3	21,7-22,9	10,0-15,0	13,2±0,3	12,6-13,8
<i>Dioscorea villosa</i> L.	17,5-22,5	19,4±0,3	18,8-19,9	11,3-17,5	14,9±0,3	14,2-15,5

---

**Tabela 2.** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) em vista equatorial: diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE).  $\bar{x}$  média aritmética

Espécie	Diâmetro Polar		Diâmetro Equatorial	
	Faixa de Variação	$\bar{x}$	Faixa de Variação	$\bar{x}$
<i>Dioscorea asperula</i> Pedralli	-	-	-	-
<i>Dioscorea bemarivensis</i> Jum. & H. Perrier	6,3-12,0	10,1	10,0-15,0	13,7
<i>Dioscorea deltoidea</i> Wall. ex Griseb.	12,5-17,5	15,0	25,0-30,0	27,5
<i>Dioscorea fandra</i> H. Perrier	-	-	-	-
<i>Dioscorea gracillima</i> Miq.	17,5-17,5	17,5	20,0-20,0	20,0
<i>Dioscorea nipponica</i> Makino	15,0-20,0	17,9	10,0-15,0	11,9
<i>Dioscorea orientalis</i> (J. Thiébaud) Caddick & Wilkin	-	-	-	-
<i>Dioscorea quinquelobata</i> Thunb.	12,5-16,3	14,3	17,5-20,0	18,6
<i>Dioscorea tokoro</i> Makino ex Miyabe	10,0-12,5	11,6	13,8-17,5	15,5
<i>Dioscorea villosa</i> L.	10,0-13,8	12,1	12,5-17,5	14,6

**Tabela 3.** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) em vista equatorial lateral: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).

Espécie	Diâmetro Maior		Diâmetro Menor	
	Faixa de Variação	$\bar{x}$	Faixa de Variação	$\bar{x}$
<i>Dioscorea alata</i> L.	12,5-12,5	12,5	5,0-5,0	5,0
<i>Dioscorea amaranthoides</i> Presl.	10,0-12,5	11,9	5,0-10,0	6,9
<i>Dioscorea amazonum</i> Griseb.	17,0-28,0	20,8	7,0-12,0	8,9
<i>Dioscorea asperula</i> Pedralli	15,0-20,0	17,5	2,5-11,0	6,8
<i>Dioscorea baracoensis</i> (R. Knuth) Raz	15,0-17,5	16,0	5,0-13,8	7,9
<i>Dioscorea bartlettii</i> Morton	15,0-18,0	16,8	7,5-15,0	12,8
<i>Dioscorea basiclavicaulis</i> Rizzini & A.Mattos	12,5-20,0	16,5	5,0-10,0	6,8
<i>Dioscorea bemarivensis</i> Jum. & H. Perrier	7,5-13,8	12,3	5,0-10,0	6,5
<i>Dioscorea birmanica</i> Prain & Burkill	17,5-25,0	21,3	5,0-7,5	5,6
<i>Dioscorea brachybotrya</i> Poepp.	8,0-9,0	21,7	3,0-4,0	9,2
<i>Dioscorea bradei</i> R. Knuth	20,0-27,5	24,0	6,3-12,5	10,3
<i>Dioscorea buchananii</i> Benth.	19,0-30,0	22,7	10,0-20,0	13,7
<i>Dioscorea campanulata</i> Uline ex R. Knuth	-	-	-	-
<i>Dioscorea carionis</i> Prain & Burkiel	12,5-22,5	19,2	7,5-10,0	8,3
<i>Dioscorea carpomaculata</i> Téllez & Schubert	20,0-22,5	21,3	5,0-12,5	8,8
<i>Dioscorea cienegensis</i> R. Knuth	16,3-22,5	20,9	11,3-22,5	16,1
<i>Dioscorea cinnamomifolia</i> Hook.	10,0-20,0	15,3	5,0-10,0	8,3
<i>Dioscorea cochleari-apiculata</i> De Wild	12,5-17,5	14,3	2,5-7,5	5,8
<i>Dioscorea colletii</i> Hook. F.	-	-	-	-
<i>Dioscorea communis</i> (L.) Caddick & Wilkin	17,5-25,0	20,5	7,5-15,0	10,1
<i>Dioscorea composita</i> Heml.	12,5-17,5	14,8	2,5-7,5	4,5
<i>Dioscorea cordata</i> (L.) Raz	12,5-15,0	13,7	5,0-7,5	6,4
<i>Dioscorea coriacea</i> Humb. & Bonpl. Ex Will	10,0-15,0	12,6	5,0-12,5	7,9
<i>Dioscorea cotinifolia</i> Kunt	12,5-15,0	13,0	2,5-5,0	4,5
<i>Dioscorea cyanisticta</i> Donh. Sm.	15,0-20,0	17,1	7,5-12,5	9,9
<i>Dioscorea cynanchifolia</i> Griseb.	12,5-17,5	15,3	2,5-10,0	5,5
<i>Dioscorea debilis</i> Uline ex. R. Knuth	12,5-20,0	15,5	5,0-10,0	7,6
<i>Dioscorea delicata</i> R.Knuth	12,5-15,0	14,2	7,5-10,0	8,3

<i>Dioscorea deltoidea</i> Wall. ex Griseb.	17,5-20,0	18,3	5,0-7,5	6,7
<i>Dioscorea densiflora</i> Hemsl.	17,5-22,5	18,8	5,0-12,5	8,3
<i>Dioscorea dodecaneura</i> Vell.	17,5-25,0	20,0	5,0-7,5	6,3
<i>Dioscorea dregeana</i> (Kunth) T. Durand & Schinz	10,0-13,8	12,1	5,0-10,0	8,3
<i>Dioscorea dumetorum</i> (Kunth) Pax	10,0-13,0	11,7	5,0-9,0	6,3
<i>Dioscorea elephantipes</i> (L'Hér.) Engl.	-	-	-	-
<i>Dioscorea fandra</i> H. Perrier	22,5-25,0	23,8	7,5-12,5	9,4
<i>Dioscorea flabelispina</i> Couto et al.	17,5-22,5	21,1	5,0-10,0	8,1
<i>Dioscorea floribunda</i> M. Martens & Galeotti	10,0-15,0	13,0	2,5-5,0	3,5
<i>Dioscorea fordii</i> Prain & Burkill	-	-	-	-
<i>Dioscorea glabra</i> Roxb.	11,3-12,5	11,9	5,0-7,5	6,3
<i>Dioscorea gracillima</i> Miq.	17,5-22,0	19,9	12,5-16,0	14,4
<i>Dioscorea hamiltonii</i> Hook. F.	17,5-22,0	18,0	5,0-10,0	6,3
<i>Dioscorea hassleriana</i> Chodat	20,0-25,0	22,5	5,0-6,3	5,4
<i>Dioscorea hastifolia</i> Nees	12,5-15,0	13,1	5,0-11,3	7,6
<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.	12,0-13,0	12,5	7,5-10,0	8,3
<i>Dioscorea hyalinomarginata</i> Raz	10,0-12,5	10,0	2,5-7,5	5,3
<i>Dioscorea japonica</i> Thunb	7,5-12,5	10,2	2,5-10,0	6,9
<i>Dioscorea kamoonsensis</i> Knuth	12,5-15,0	13,1	5,0-10,0	8,1
<i>Dioscorea laxiflora</i> Mart. ex Griseb	12,5-20,0	15,8	5,0-7,0	5,7
<i>Dioscorea leptostachya</i> Gardner	10,0-12,5	12,0	5,0-7,5	6,0
<i>Dioscorea macrostachya</i> Benth.	15,0-17,5	16,3	5,0-10,0	8,3
<i>Dioscorea medusae</i> F.Fraga, R.Couto & J.M.A.Braga	12,5-20,0	15,5	5,0-10,0	8,0
<i>Dioscorea nipponica</i> Makino	12,5-15,0	14,3	5,0-7,5	6,1
<i>Dioscorea nummularia</i> Lam.	10,0-15,0	12,5	2,5-7,5	6,0
<i>Dioscorea orientalis</i> (J. Thiébaud) Caddick & Wilkin	17,5-25,0	19,3	7,5-12,5	10,4
<i>Dioscorea pallens</i> Schlecht	15,0-17,5	16,7	12,5-15,0	13,3
<i>Dioscorea pedicellata</i> Phil.	-	-	-	-
<i>Dioscorea pentaphylla</i> L.	12,5-15,0	13,1	7,5-10,0	9,1
<i>Dioscorea polygonoides</i> Humb. & Bonpl. ex Wild.	12,5-17,5	15,0	5,0-10,0	7,5
<i>Dioscorea polystachya</i> Turcz.	15,0-20,0	18,0	5,0-7,5	5,8
<i>Dioscorea preussii</i> Pax	-	-	-	-
<i>Dioscorea pseudomacrocapsa</i> G.M.Barroso et al.	7,0-17,0	12,0	4,0-7,0	5,5

<i>Dioscorea quinquelobata</i> Thunb.	12,5-17,5	15,1	2,5-10,0	6,3
<i>Dioscorea remotiflora</i> Kunth	12,5-17,5	14,6	5,0-7,5	6,1
<i>Dioscorea sansibarensis</i> Pax	10,0-20,0	17,1	5,0-15,0	7,3
<i>Dioscorea schimperiana</i> Hochst. ex Kunth	11,3-13,8	12,5	5,0-10,0	7,0
<i>Dioscorea spiculiflora</i> Hemsl.	12,5-17,5	13,8	2,5-7,5	5,3
<i>Dioscorea sp nova 1</i>	15,0-19,5	17,3	5,0-5,0	5,0
<i>Dioscorea sp nova 2</i>	-	-	-	-
<i>Dioscorea sylvatica</i> Eckl.	15,0-20,0	17,8	5,0-7,5	6,2
<i>Dioscorea tokoro</i> Makino ex Miyabe	12,5-20,0	16,4	2,5-7,5	4,5
<i>Dioscorea tomentosa</i> J. Köning ex Spreng	10,0-12,5	11,9	2,5-10,0	5,4
<i>Dioscorea trisecta</i> Griseb.	-	-	-	-
<i>Dioscorea villosa</i> L.	12,5-15,0	13,0	2,5-7,5	5,5

---



**Tabela 4.** Médias ( $\mu\text{m}$ ) das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10).

Espécies	Comp.	Larg.	Sulco		Espessura da Exina		
			Margem	Distância entre aberturas	Exina	Sexina	Nexina
<i>Dioscorea alata</i> L.	21,0	2,5	1,0	7,8	1,1	0,5	0,6
<i>Dioscorea amaranthoides</i> Presl.	15,7	2,4	1,0	6,2	1,0	0,5	0,5
<i>Dioscorea amazonum</i> Griseb.	20,7	4,8	-	10,8	1,0	-	-
<i>Dioscorea asperula</i> Pedralli	16,1	2,8	1,0	6,5	1,7	0,9	0,8
<i>Dioscorea baracoensis</i> (R. Knuth) Raz	15,3	2,9	0,5	6,7	1,1	-	-
<i>Dioscorea bartlettii</i> Morton	17,5	4,8	0,9	7,7	1,1	0,6	0,5
<i>Dioscorea basiclavicaulis</i> Rizzini & A.Mattos	21,5	4,9	0,9	5,6	1,9	1,1	0,8
<i>Dioscorea bemarivensis</i> Jum. & H. Perrier	12,0	2,8	0,9	5,7	1,1	0,6	0,5
<i>Dioscorea birmanica</i> Prain & Burkill	19,4	3,8	0,9	5,5	1,0	0,5	0,5
<i>Dioscorea brachybotrya</i> Poepp.	20,8	3,4	0,9	9,8	1,8	1,0	0,8
<i>Dioscorea bradei</i> R. Knuth	19,4	4,1	0,9	8,4	2,0	1,0	1,0
<i>Dioscorea buchananii</i> Benth.	22,3	4,1	0,9	12,1	1,9	0,9	1,0
<i>Dioscorea campanulata</i> Uline ex R. Knuth	20,3	3,1	1,0	10,4	1,7	0,9	0,8
<i>Dioscorea carionis</i> Prain & Burkiel	17,0	3,7	0,9	9,5	1,8	0,9	0,9
<i>Dioscorea carpomaculata</i> Téllez & Schubert	19,4	2,8	0,9	8,5	1,6	0,9	0,7
<i>Dioscorea cienegensis</i> R. Knuth	22,3	4,3	1,0	12,7	1,8	0,9	0,9
<i>Dioscorea cinnamomifolia</i> Hook.	20,3	3,1	1,0	8,8	1,3	0,6	0,7
<i>Dioscorea cochleari-apiculata</i> De Wild	14,5	3,8	0,8	8,3	1,6	0,8	0,8

<i>Dioscorea colletii</i> Hook. F.	15,1	4,2	0,9	7,9	1,1	0,6	0,5
<i>Dioscorea communis</i> (L.) Caddick & Wilkin	24,6	5,2	0,9	8,7	1,9	0,9	1,0
<i>Dioscorea composita</i> Hemsl.	17,4	4,3	1,0	5,3	0,9	0,5	0,4
<i>Dioscorea cordata</i> (L.) Raz	14,1	3,2	0,3	4,9	1,0	0,5	0,5
<i>Dioscorea coriacea</i> Humb. & Bonpl. Ex Will	19,6	5,0	0,8	6,0	1,0	0,5	0,5
<i>Dioscorea cotinifolia</i> Kunt	13,1	3,2	0,9	4,2	1,0	-	-
<i>Dioscorea cyanisticta</i> Donh. Sm.	21,8	3,5	0,9	10,1	1,8	0,9	0,9
<i>Dioscorea cynanchifolia</i> Griseb.	18,5	2,9	0,9	7,5	1,0	0,5	0,5
<i>Dioscorea debilis</i> Uline ex. R. Knuth	22,0	3,1	1,0	7,8	2,0	1,0	1,0
<i>Dioscorea delicata</i> R.Knuth	16,3	3,1	1,0	7,2	1,1	0,6	0,5
<i>Dioscorea deltoidea</i> Wall. ex Griseb.	22,2	3,2	0,9	8,2	1,1	0,6	0,5
<i>Dioscorea densiflora</i> Hemsl.	21,8	4,6	0,9	8,5	1,2	-	-
<i>Dioscorea dodecaneura</i> Vell.	21,5	3,6	0,8	7,2	1,8	0,9	0,9
<i>Dioscorea dregeana</i> (Kunth) T. Durand & Schinz	11,4	3,1	-	6,3	1,2	-	-
<i>Dioscorea dumetorum</i> (Kunth) Pax	16,4	4,1	0,9	6,7	1,0	-	-
<i>Dioscorea elephantipes</i> (L'Hér.) Engl.	28,6	5,3	0,7	11,6	1,6	0,8	0,8
<i>Dioscorea fandra</i> H. Perrier	21,1	4,4	0,8	10,9	2,0	1,0	1,0
<i>Dioscorea flabelispina</i> Couto et al.	18,2	3,7	0,9	11,7	1,8	0,9	0,9
<i>Dioscorea floribunda</i> M. Martens & Galeotti	19,8	3,7	1,0	6,5	1,9	0,9	1,0
<i>Dioscorea fordii</i> Prain & Burkill	13,2	3,1	0,7	7,5	1,0	-	-

<i>Dioscorea glabra</i> Roxb.	-	-	-	6,5	-	-	-
<i>Dioscorea gracillima</i> Miq.	18,2	3,6	0,5	-	1,1	0,6	0,5
<i>Dioscorea hamiltonii</i> Hook. F.	17,2	6,2	0,8	5,7	1,0	-	-
<i>Dioscorea hassleriana</i> Chodat	20,3	4,4	0,7	10,0	1,0	-	-
<i>Dioscorea hastifolia</i> Nees	12,4	2,5	0,5	7,9	1,2	0,7	0,5
<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.	13,0	2,9	0,6	7,7	1,0	-	-
<i>Dioscorea hyalinomarginata</i> Raz	11,0	2,5	0,8	5,0	1,0	-	-
<i>Dioscorea japonica</i> Thunb	11,9	2,6	0,6	8,8	0,7	-	-
<i>Dioscorea kamoonsensis</i> Knuth	12,5	3,0	0,9	7,6	1,1	-	-
<i>Dioscorea laxiflora</i> Mart. ex Griseb	28,5	5,3	0,8	8,3	1,3	-	-
<i>Dioscorea leptostachya</i> Gardner	19,6	2,9	1,0	4,7	1,3	-	-
<i>Dioscorea macrostachya</i> Benth.	20,1	3,5	0,6	7,9	1,1	-	-
<i>Dioscorea medusae</i> F.Fraga, R.Couto & J.M.A.Braga	20,3	4,6	1,0	10,0	2	1,0	1,0
<i>Dioscorea nipponica</i> Makino	19,4	4,4	0,9	11,0	1,9	0,9	1,0
<i>Dioscorea numularia</i> Lam.	16,5	2,9	0,9	6,6	1,1	0,5	0,6
<i>Dioscorea orientalis</i> (J. Thiébaud) Caddick & Wilkin	21,8	3,7	0,9	9,7	1,9	1,0	0,9
<i>Dioscorea pallens</i> Schlecht	17,5	4,3	0,9	12,6	2,2	1,3	0,9
<i>Dioscorea pedicellata</i> Phil.	26,4	4,4	1,0	21,0	1,9	1,0	0,9
<i>Dioscorea pentaphylla</i> L.	11,4	2,5	1,0	8,3	1,2	-	-
<i>Dioscorea polygonoides</i> Humb. & Bonpl. ex Wild.	23,2	4,3	0,9	8,3	1,1	0,5	0,6

<i>Dioscorea polystachya</i> Turcz.	19,2	3,6	0,6	10,3	1,1	0,5	0,6
<i>Dioscorea preussii</i> Pax	15,1	3,2	0,9	5,7	1,7	0,9	0,8
<i>Dioscorea pseudomacrocapsa</i> G.M.Barroso et al.	15,6	2,7	1,0	10,8	1,4	0,7	0,7
<i>Dioscorea quinquelobata</i> Thunb.	20,2	3,8	1,0	9,0	1,0	0,5	0,5
<i>Dioscorea remotiflora</i> Kunth	20,4	4,0	0,6	6,9	1,3	0,6	0,7
<i>Dioscorea sansibarensis</i> Pax	18,0	5,9	-	8,1	1,1	0,6	0,5
<i>Dioscorea spiculiflora</i> Hemsl.	17,7	3,3	0,9	7,1	1,0	0,5	0,5
<i>Dioscorea sp nova 1</i>	19,8	4,2	1,0	6,0	1,2	0,6	0,6
<i>Dioscorea sp nova 2</i>	15,3	3,1	1,0	6,4	1,2	0,6	0,6
<i>Dioscorea schimperiana</i> Hochst. ex Kunth	12,4	3,0	1,0	6,9	1,2	0,6	0,6
<i>Dioscorea sylvatica</i> Eckl.	19,4	5,1	0,9	12,5	1,8	0,9	0,9
<i>Dioscorea tokoro</i> Makino ex Miyabe	17,8	5,2	0,9	-	1,4	0,7	0,7
<i>Dioscorea tomentosa</i> J. Köning ex Spreng	12,3	2,7	1,0	6,6	1,0	-	-
<i>Dioscorea trisecta</i> Griseb.	18,1	4,0	1,0	5,8	1,0	0,5	0,5
<i>Dioscorea villosa</i> L.	16,5	2,8	0,9	-	1,1	0,6	0,5

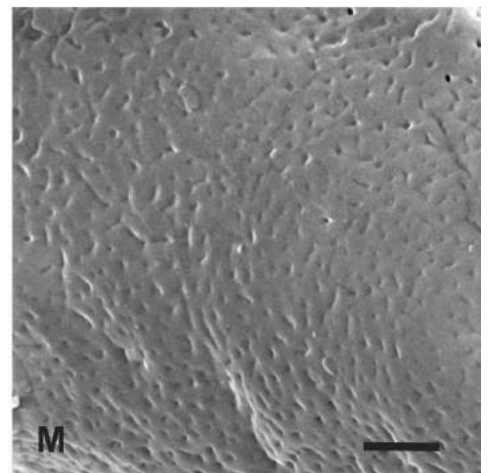
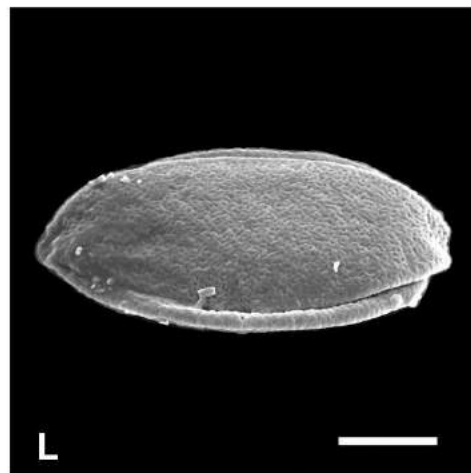
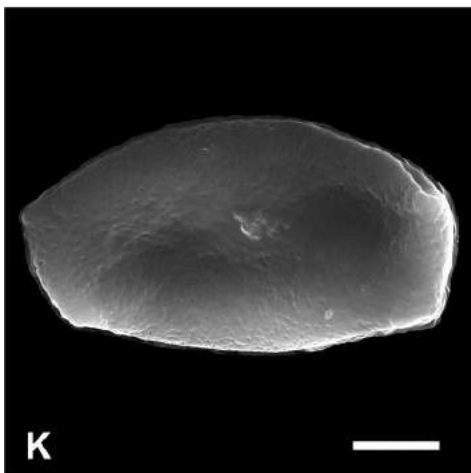
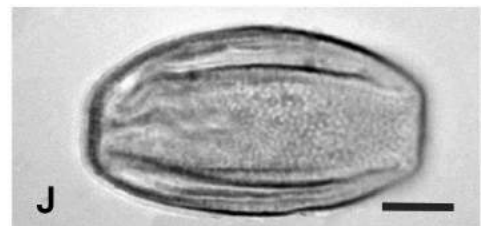
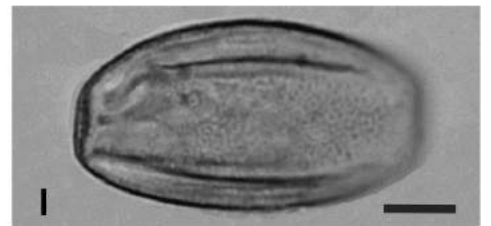
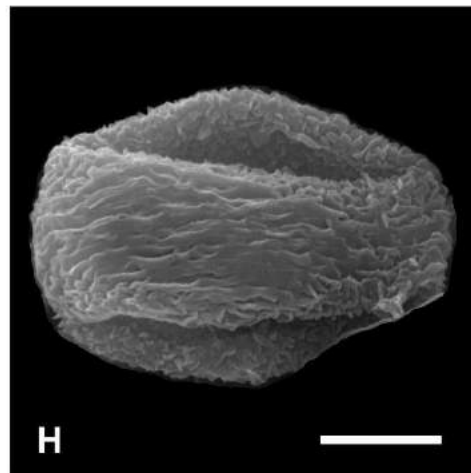
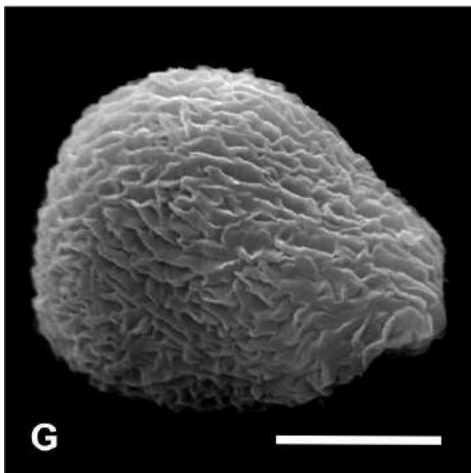
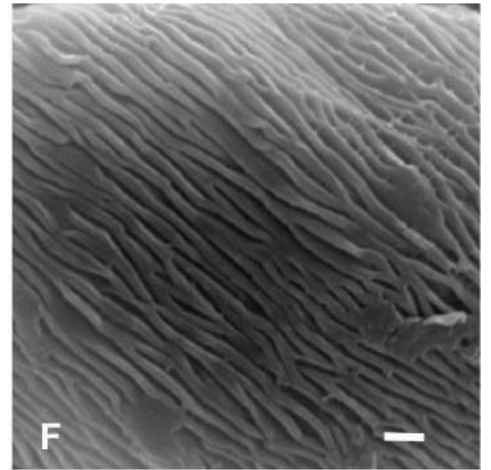
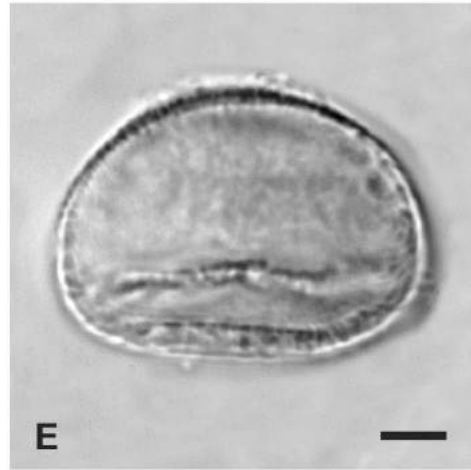
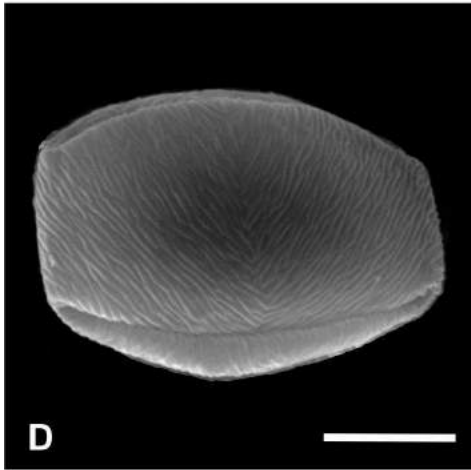
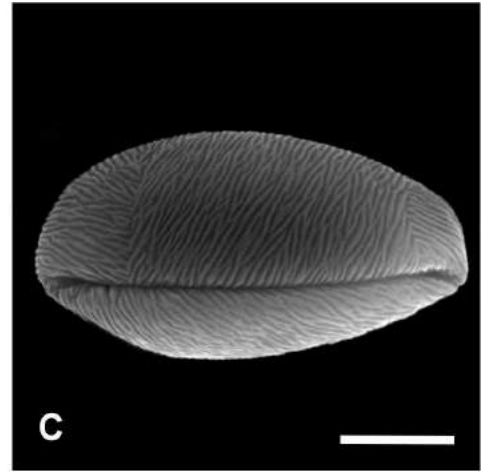
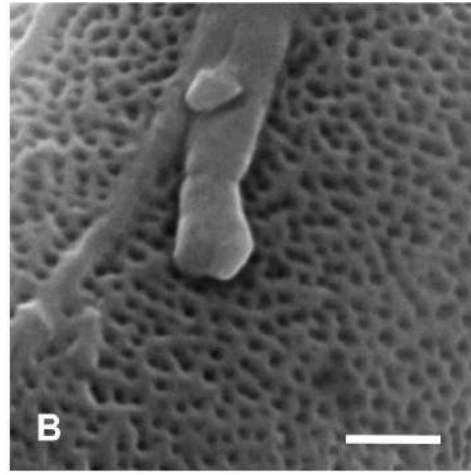
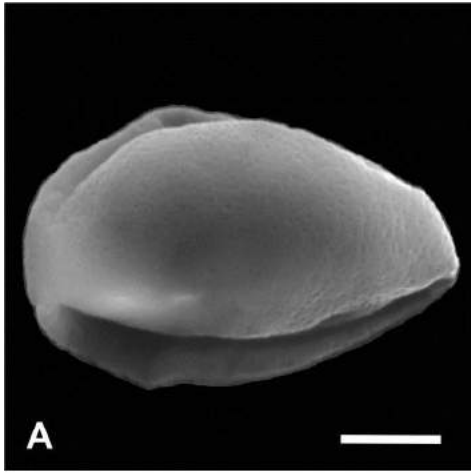
---

**Tabela 5.** Variância cumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA) utilizando caracteres palinológicos de *Dioscorea*.

<b>Eixo Principal</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
Variância Cumulativa (%)	54.191	26.355
<b>Caracteres</b>	<b>Eixos</b>	
Diâmetro Maior (DM)	0.3896	-0.4742
Diâmetro menor (Dm)	0.3738	-0.3003
Mono	0.0520	0.0453
Di	-0.0065	0.0046
Comprimento do Sulco (CS)	0.3455	-0.4774
Largura do Sulco (LS)	0.0991	-0.1889
Margem (M)	0.0083	-0.0215
Exina (EX)	0.0772	-0.0826
Ornamentação da Sexina (Orn)	0.7554	0.6419

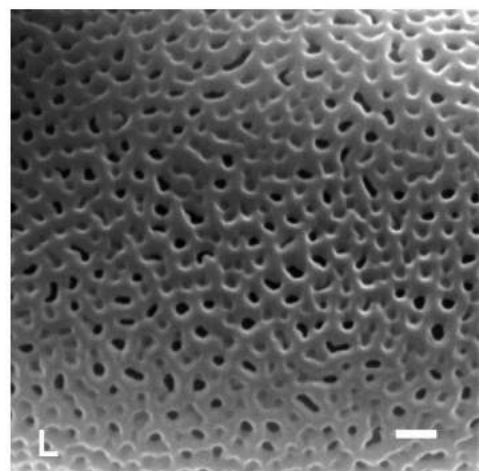
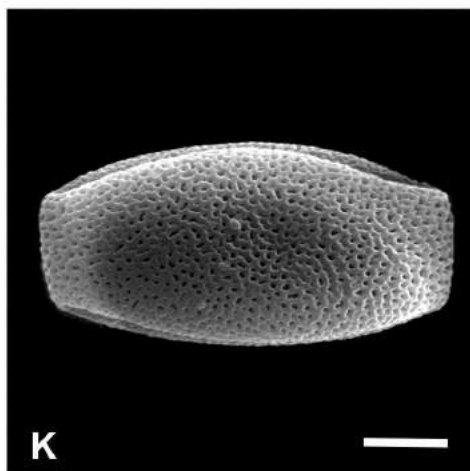
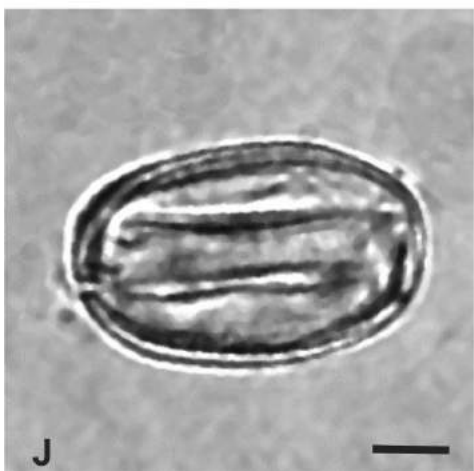
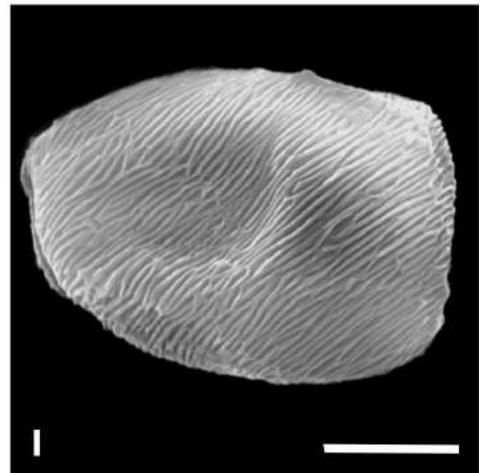
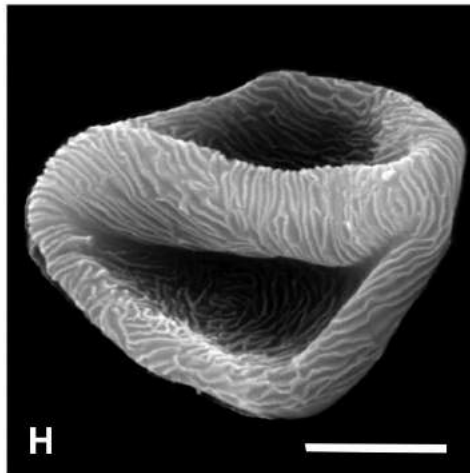
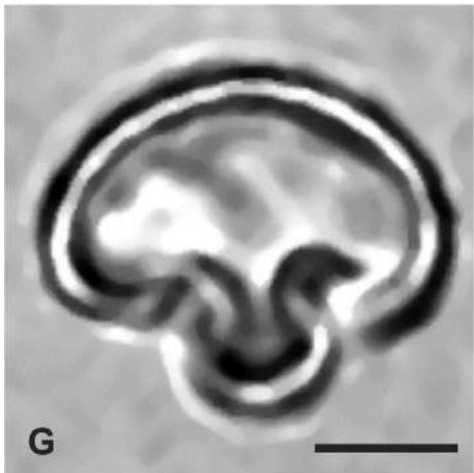
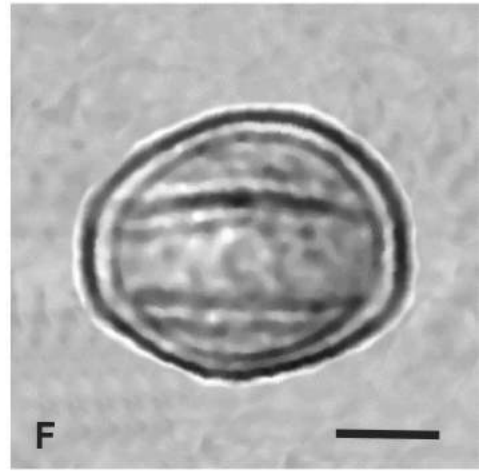
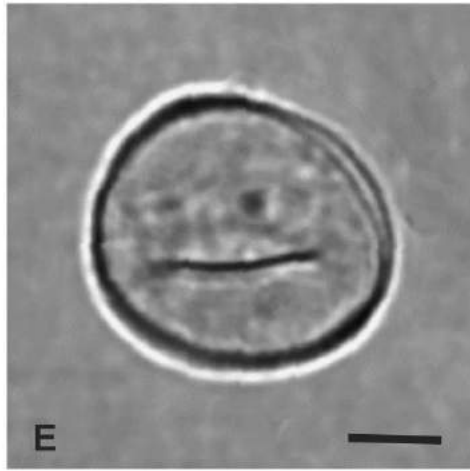
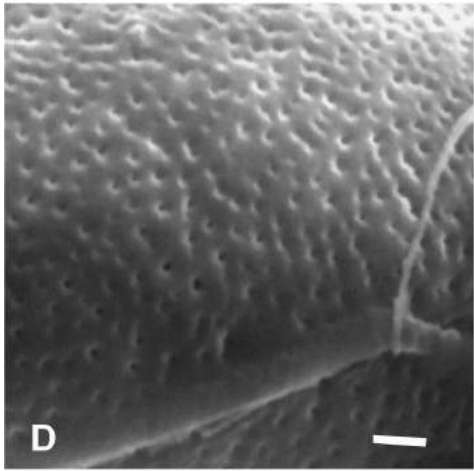
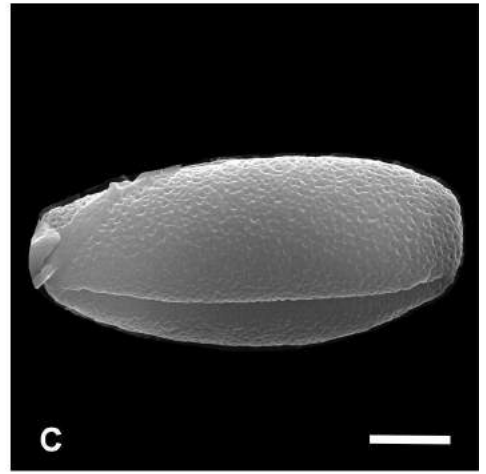
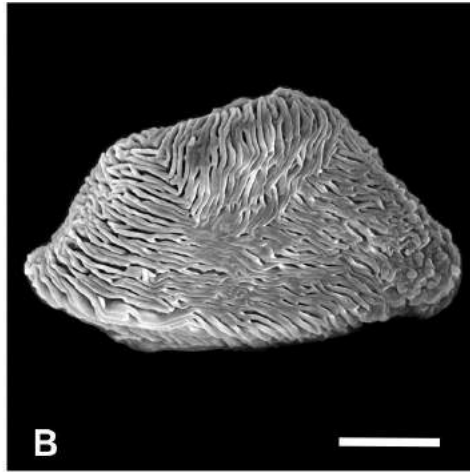
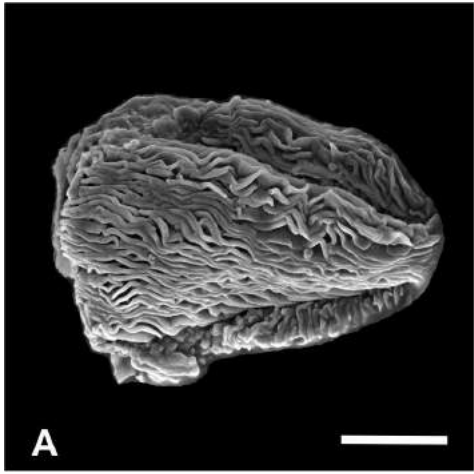
Prancha 1. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. alata* – vista polar distal: A. aspecto geral (MEV), B. superfície (MEV). *D. amaranthoides* - vista polar distal: C. superfície (MEV) e D. aspecto geral (MEV). *D. amazonum* - vista polar distal: E. contorno (ML), F. superfície (MEV). G, H. *D. asperula* – vista equatorial: G. um sulco (MEV) e superfície (MEV), vista polar distal: H. dois sulcos (MEV). *D. sp nova1* – vista polar distal: I, J. análise de L.O. (ML) e K. aspecto geral e superfície (MEV). *D. baracoensis* – vista polar distal: L. aspecto geral (MEV) e M. superfície (MEV). Escalas: A, C-E, G-L = 5  $\mu\text{m}$  e B, F, M = 1  $\mu\text{m}$ .

Prancha 1



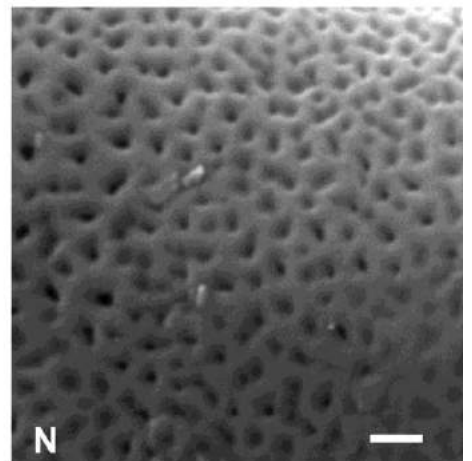
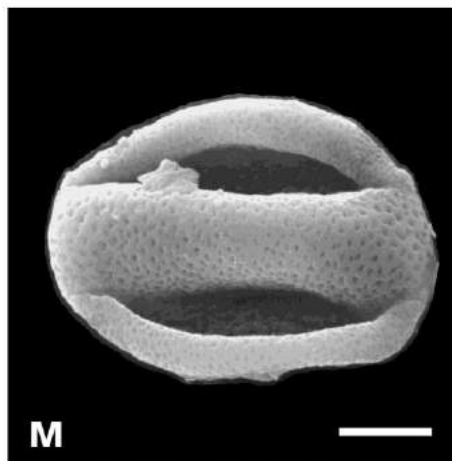
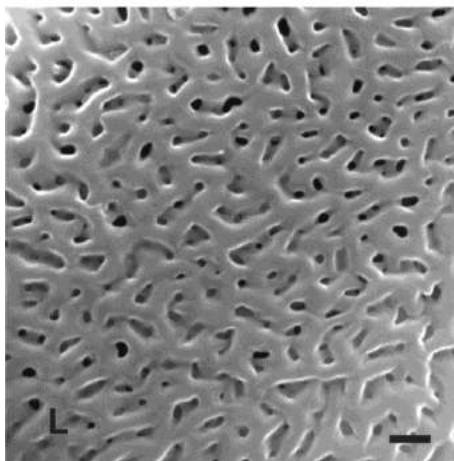
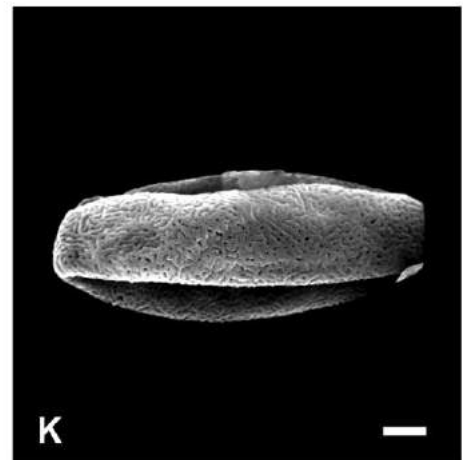
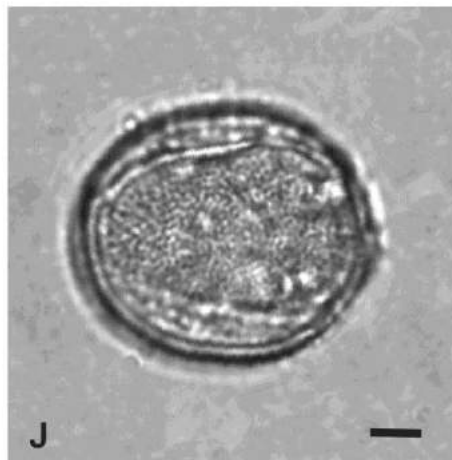
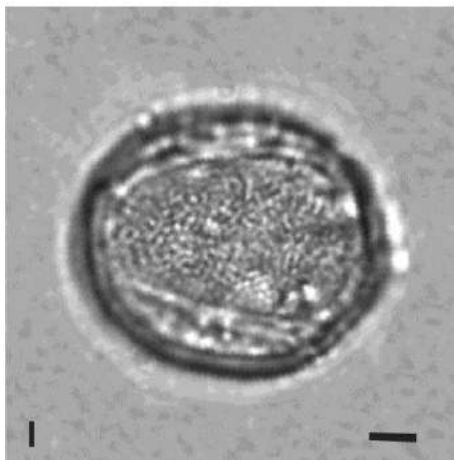
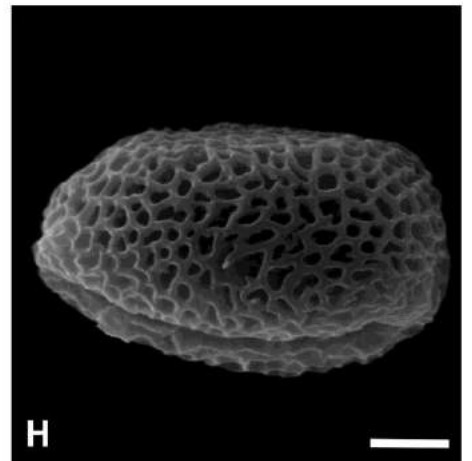
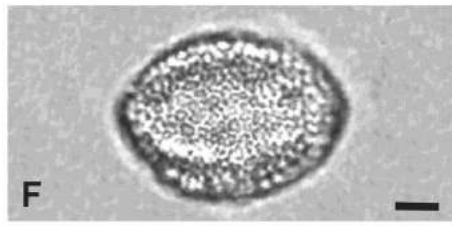
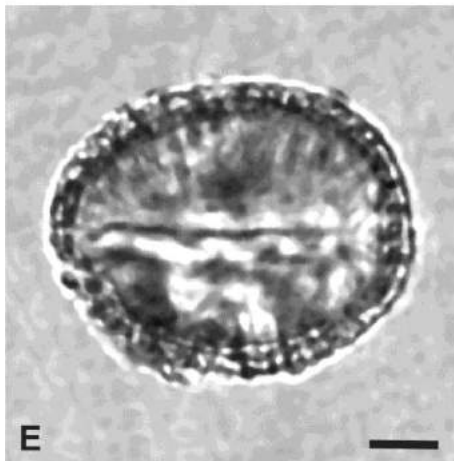
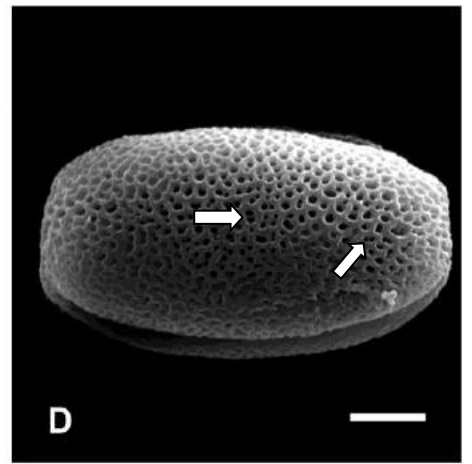
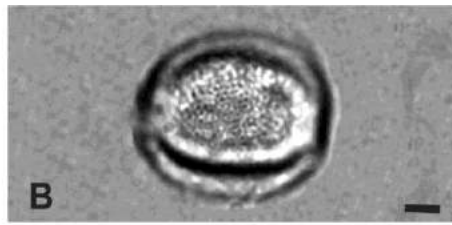
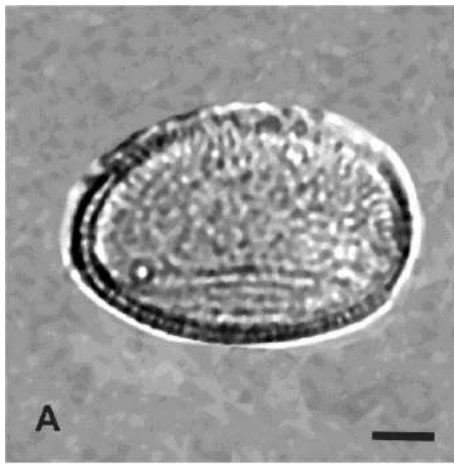
Prancha 2. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. bartlettii* – vista polar proximal: A. aspecto geral (MEV), B. superfície (MEV). *D. basiclavicaulis* – vista polar proximal: C. aspecto geral (MEV), D. superfície (MEV). *D. bemarivensis* – vista polar distal: E. um sulco (ML), F. dois sulcos (ML), vista equatorial lateral: G. detalhe dos dois sulcos (ML), vista equatorial: H. dois sulcos e detalhe da membrana apertural (MEV), vista polar distal: I. um sulco e superfície (MEV). J-L. *D. birmanica* - vista polar distal: J. contorno (ML), vista equatorial: K. aspecto geral (MEV) e L. superfície (MEV). Escalas: A-C, E-K = 5  $\mu\text{m}$  e D, L = 1  $\mu\text{m}$ .





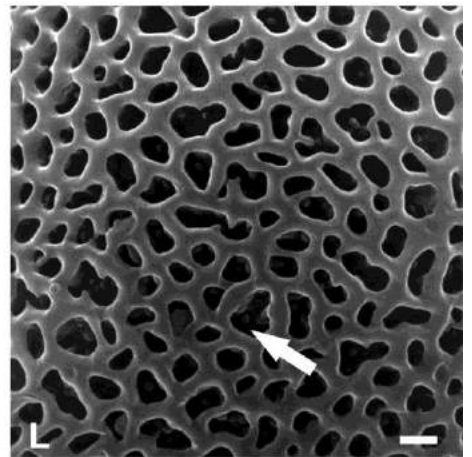
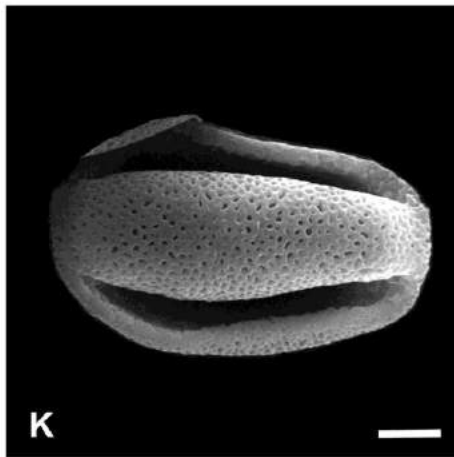
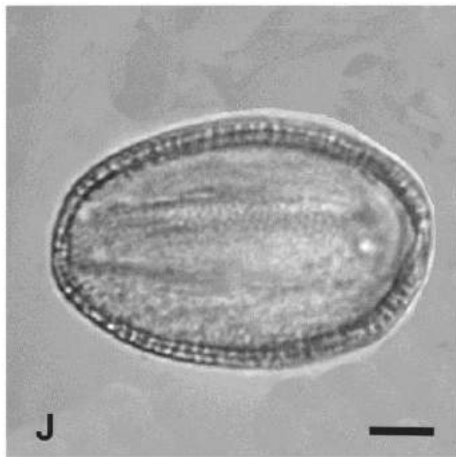
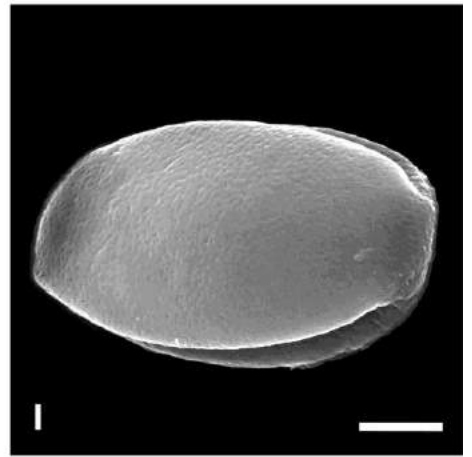
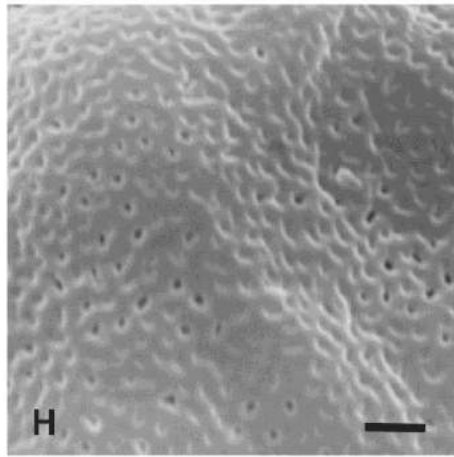
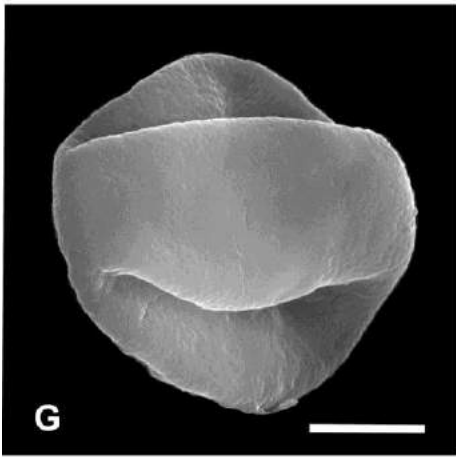
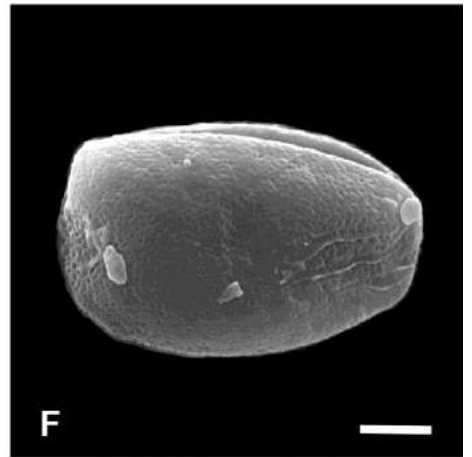
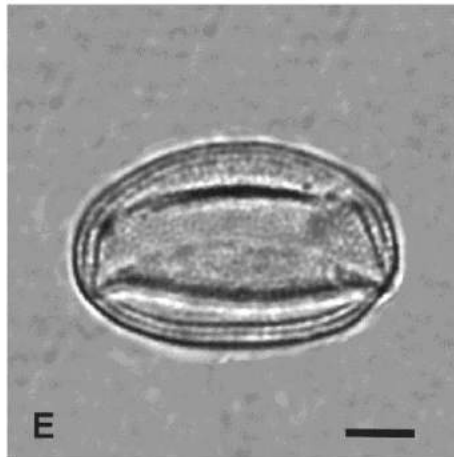
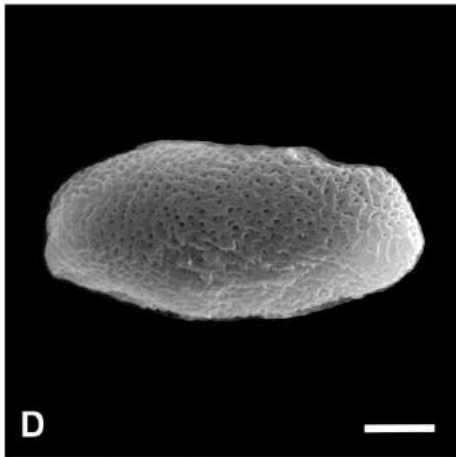
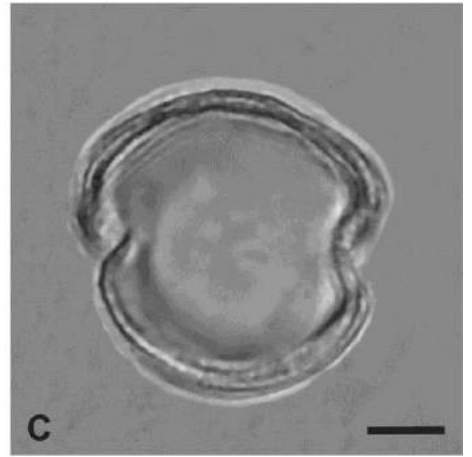
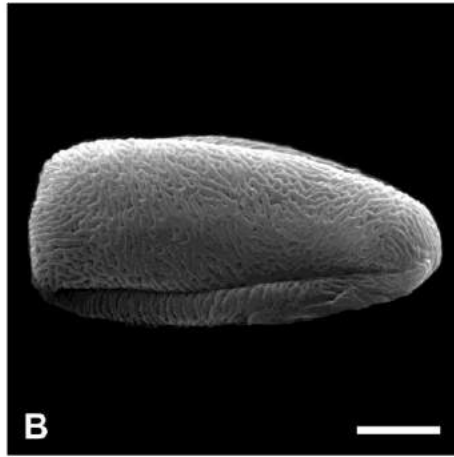
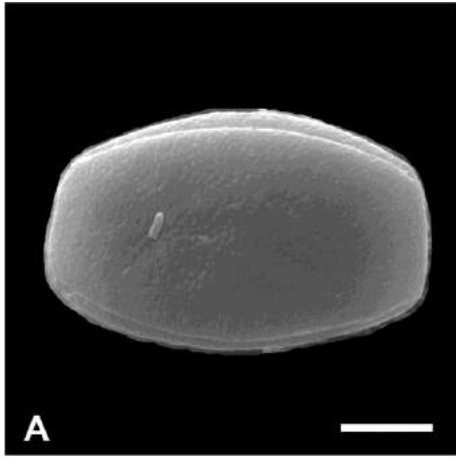
Prancha 3. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. A-D. *D. brachybotrya* - vista equatorial: A. contorno (ML), vista polar distal: B, C. análise de L.O. (ML), vista polar proximal: D. superfície, detalhe do birretículo (MEV). *D. bradei* - vista polar distal: E. contorno (ML), F, G. análise de L.O. (ML), vista polar proximal: H. superfície (MEV). *D. buchananii* - vista polar distal: I, J. análise de L.O. (ML), K. aspecto geral (MEV), L. superfície (MEV). *D. campanulata* - vista polar distal: M. aspecto geral (MEV) e N. superfície (MEV). Escalas: A-K, M = 5  $\mu\text{m}$  e L, N = 1  $\mu\text{m}$ .

Prancha 3



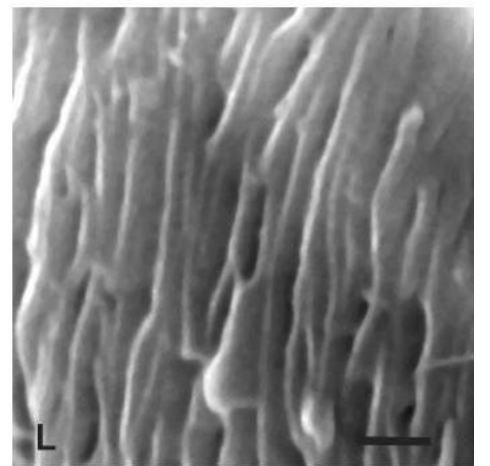
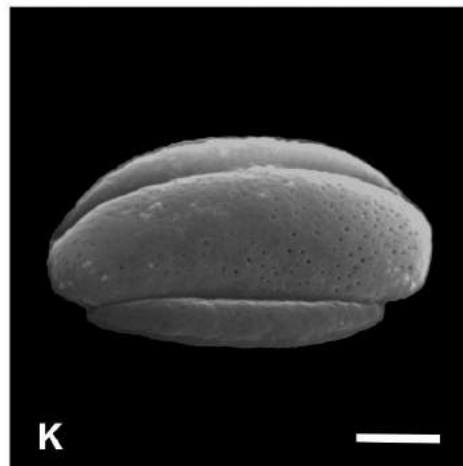
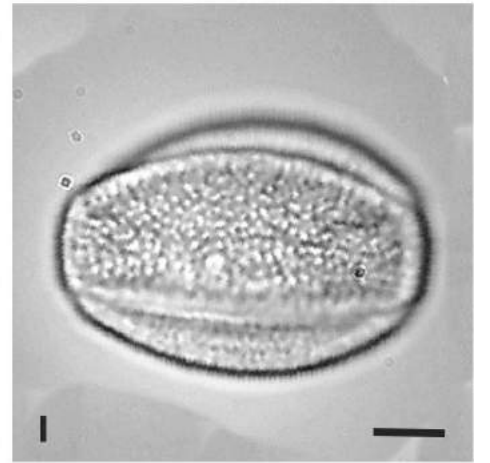
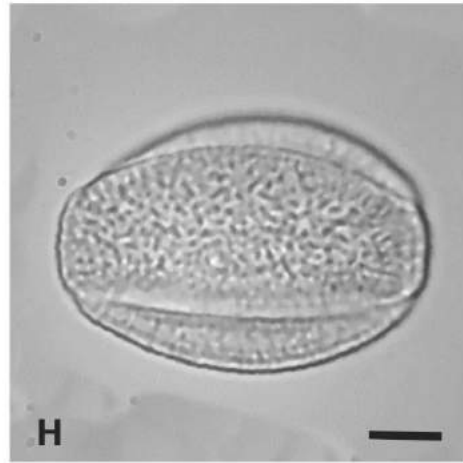
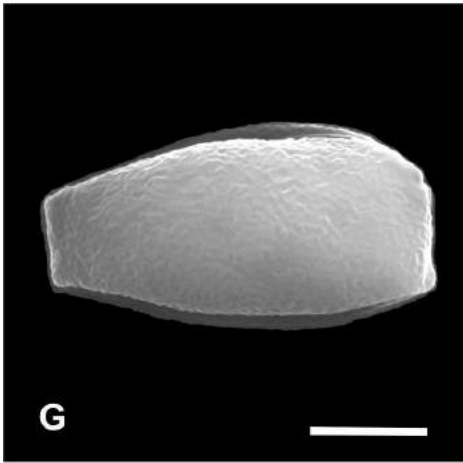
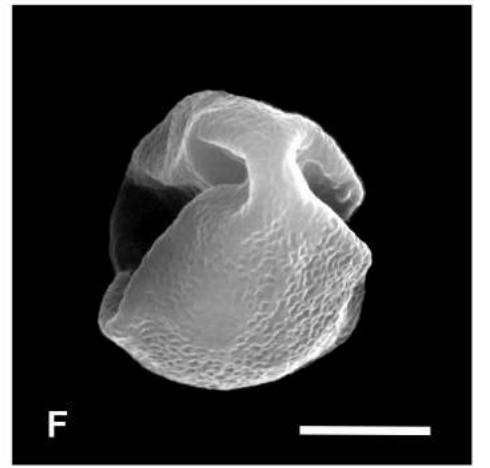
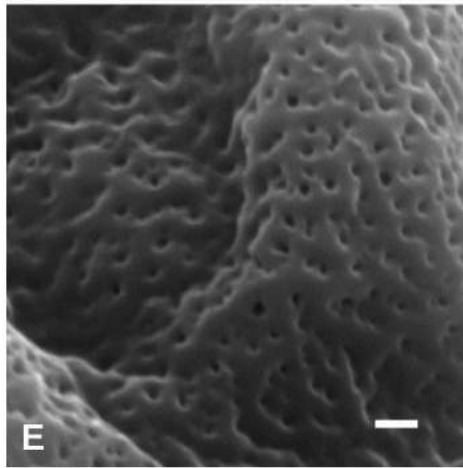
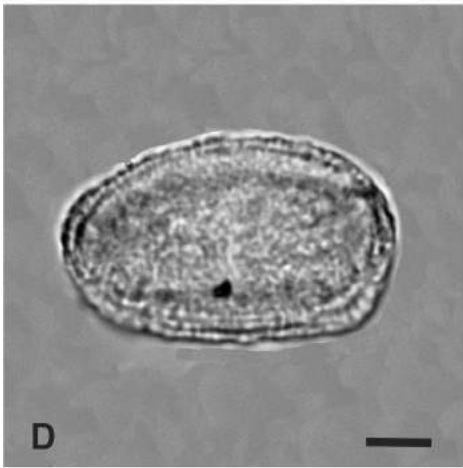
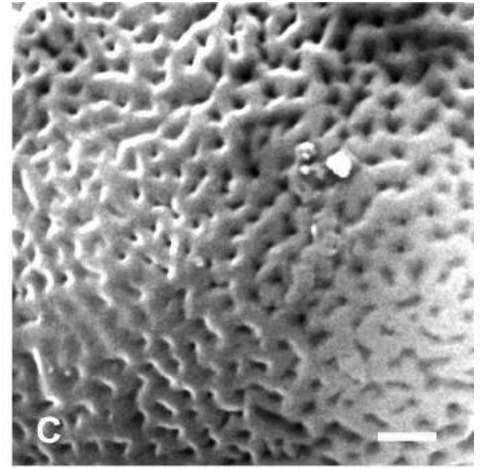
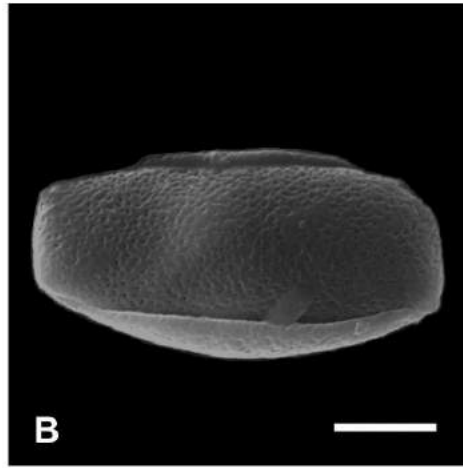
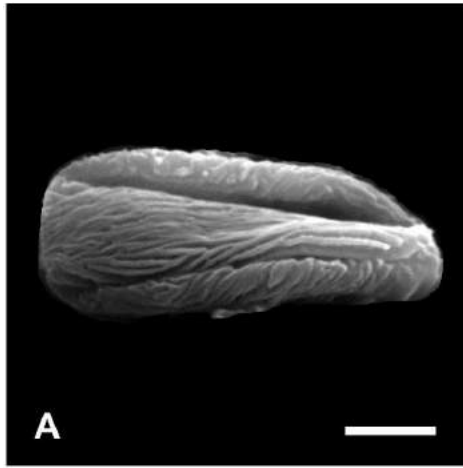
Prancha 4. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. caronis* - vista polar proximal: A. aspecto geral e superfície (MEV). *D. carpomaculata* – vista polar distal: B. dois sulcos e superfície (MEV). C, D. *D. cienegensis* – vista equatorial lateral: C. contorno (ML), vista polar proximal: D. aspecto geral e superfície (MEV). *D. cinnamomifolia* – vista polar distal: E. contorno e margem (ML), F. aspecto geral e superfície (MEV). G, H. *D. colcheleari apiculata* – vista polar distal: G. aspecto geral (MEV), H. superfície (MEV). *D. collettii* – vista polar proximal: I. aspecto geral e superfície (MEV). J, K, L. *D. communis* - vista polar distal: J. contorno (ML), vista polar proximal: K. aspecto geral (MEV), L. superfície, grânulos no interior dos lúmens (MEV). Escalas: A-G, I, K = 5  $\mu\text{m}$  e H, L = 1  $\mu\text{m}$ .

Prancha 4



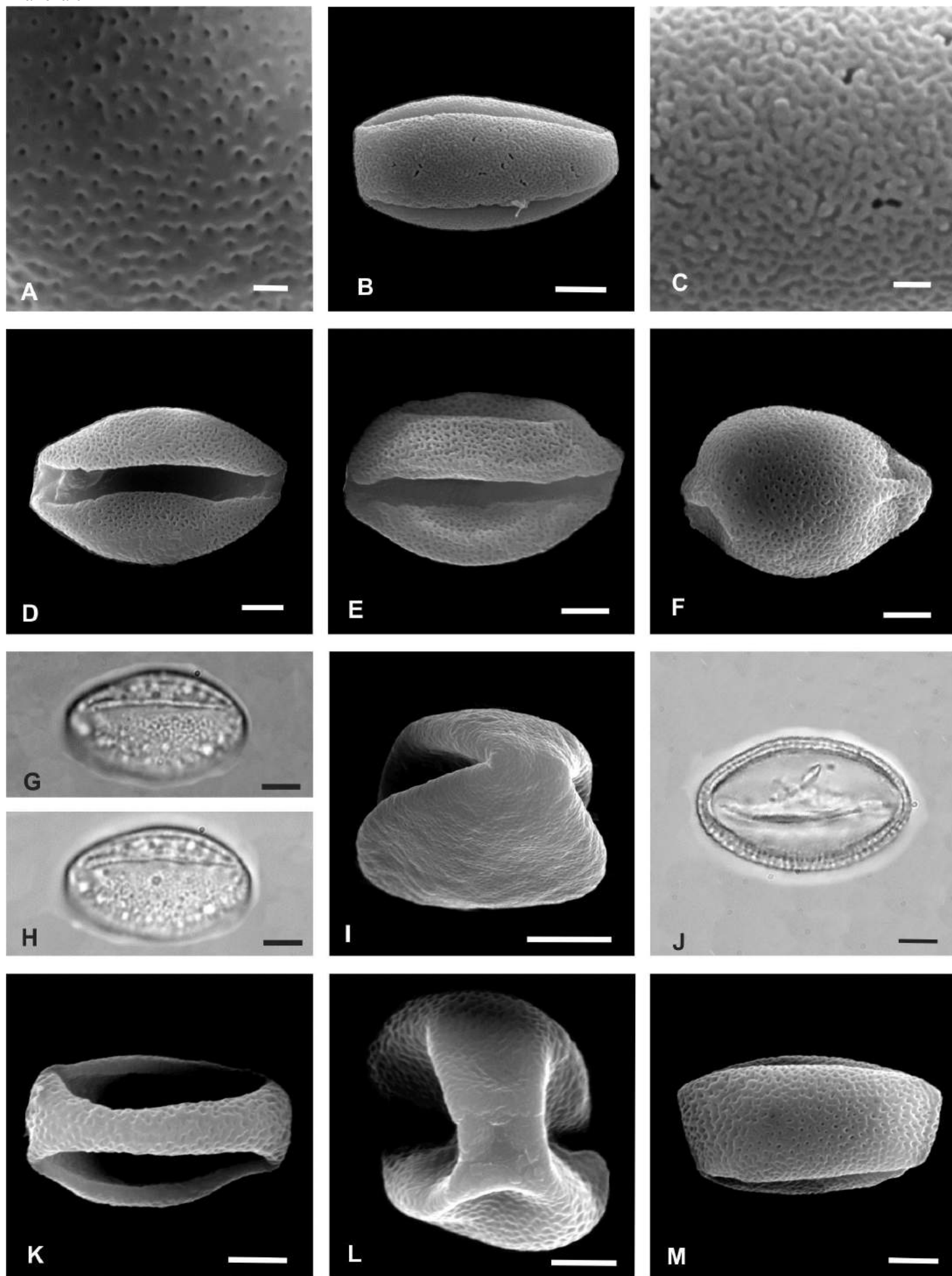
Prancha 5. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. composita* – vista polar distal: A. aspecto geral e superfície (MEV). *D. cordata* – vista polar distal: B. aspecto geral (MEV), C. superfície (MEV). *D. coriacea* – vista polar proximal: D. corte óptico (ML), E. superfície (MEV). *D. cotinifolia* - vista equatorial lateral: F. detalhe dos sulcos (MEV), vista polar proximal; G. aspecto geral e superfície (MEV). *D. cyanistica* – vista polar distal: H, I. análise de L.O. (ML), J. corte óptico (ML), K. aspecto geral e superfície (MEV). *D. cynanchifolia* – L. detalhe da superfície (MEV). Escalas: A, B, D, F-K = 5  $\mu\text{m}$  e C, E, L = 1  $\mu\text{m}$ .

Prancha 5

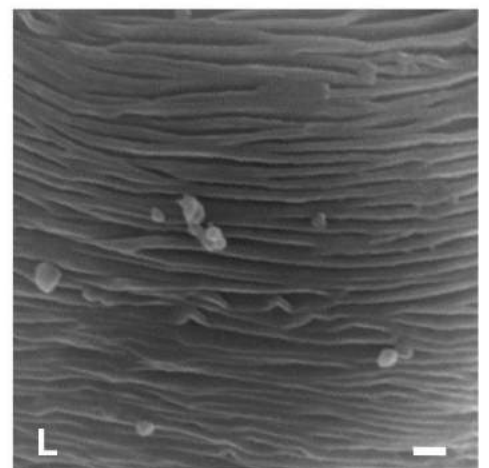
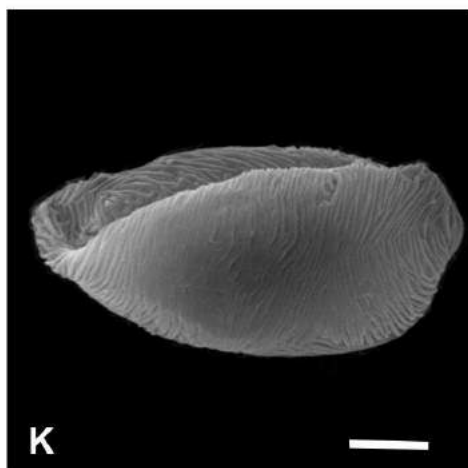
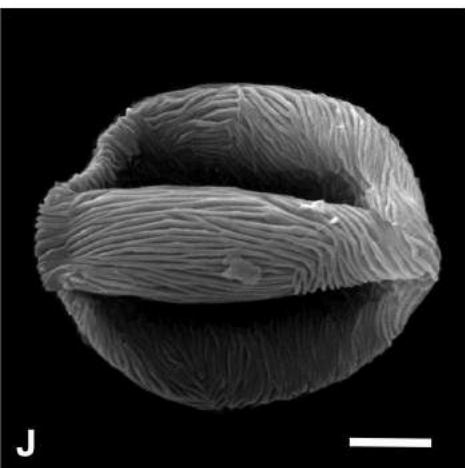
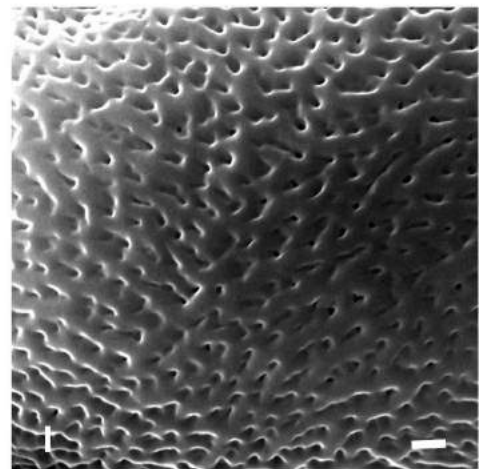
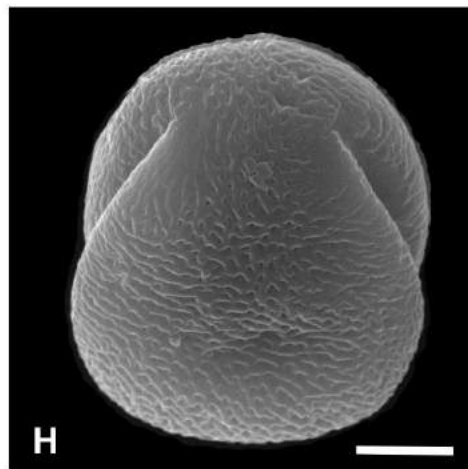
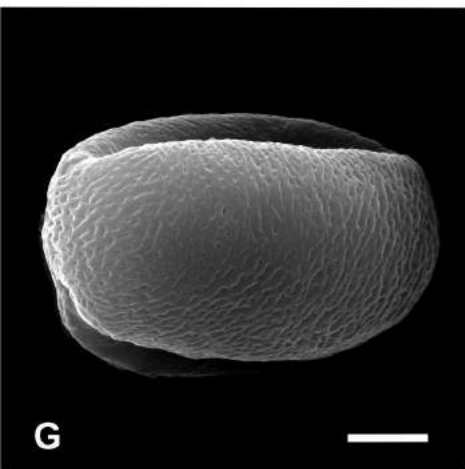
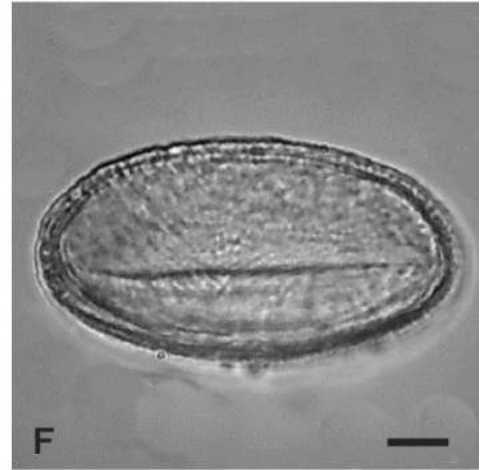
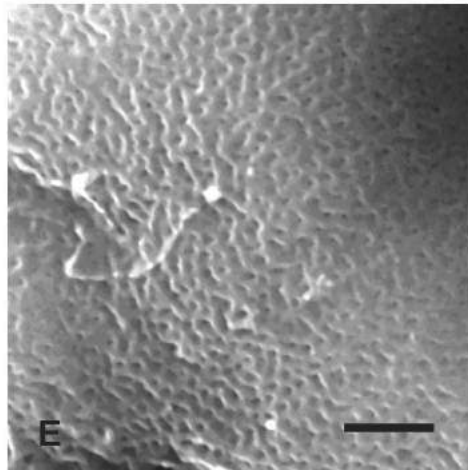
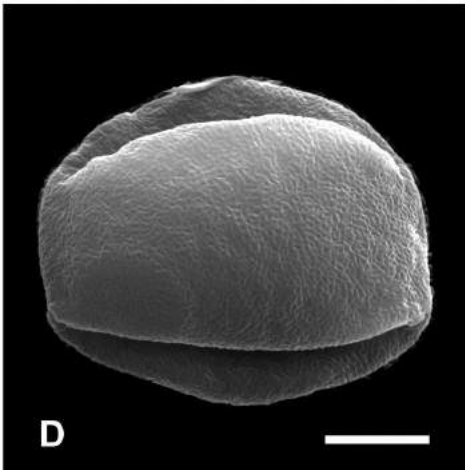
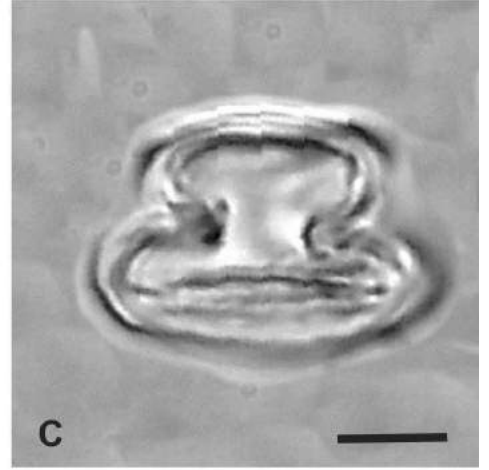
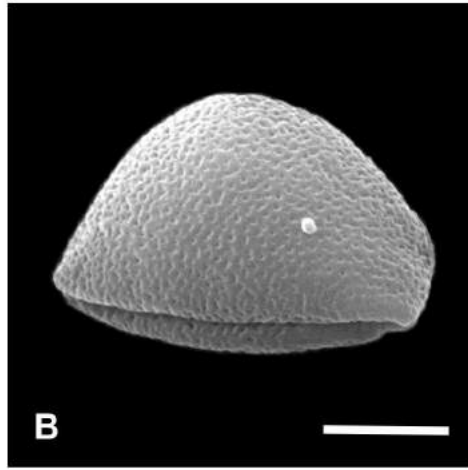
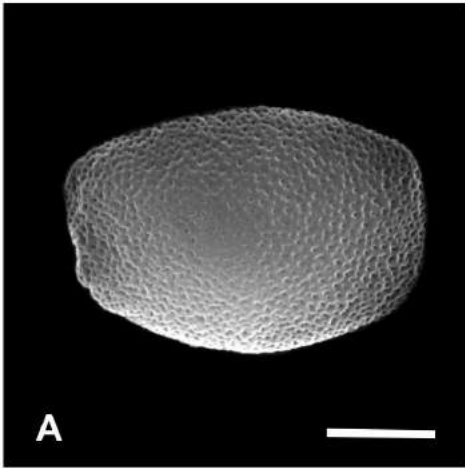


Prancha 6. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. debilis* – A. superfície (MEV). *D. delicata* – vista polar proximal: B. aspecto geral (MEV), C. superfície (MEV). *D. deltoidea* – vista polar distal: D. um sulco (MEV), E. dois sulcos (MEV), vista polar proximal: F. detalhe da extremidade e superfície (MEV). *D. densiflora* – vista polar distal: G, H. análise de L.O. (ML), vista equatorial lateral: I. superfície (MEV). *D. dodecaneura* – vista polar distal: J. corte óptico (ML), K. sulcos (MEV), vista equatorial lateral: L. detalhe dos sulcos (MEV), vista polar proximal: M. aspecto geral e superfície (MEV). Escalas: B, D-M = 5  $\mu\text{m}$  e A, C = 1  $\mu\text{m}$ .

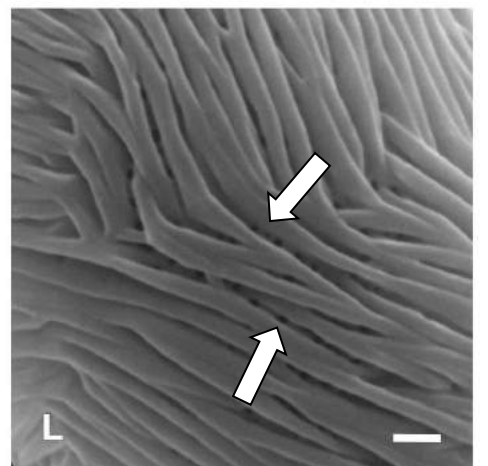
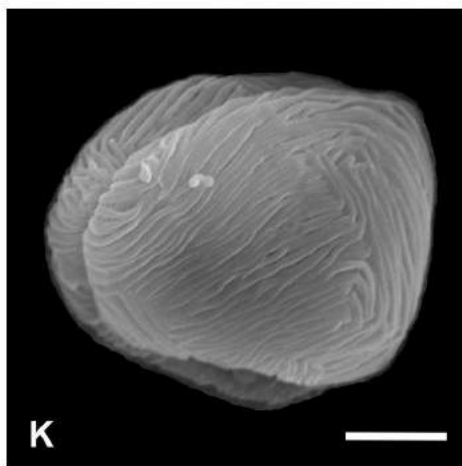
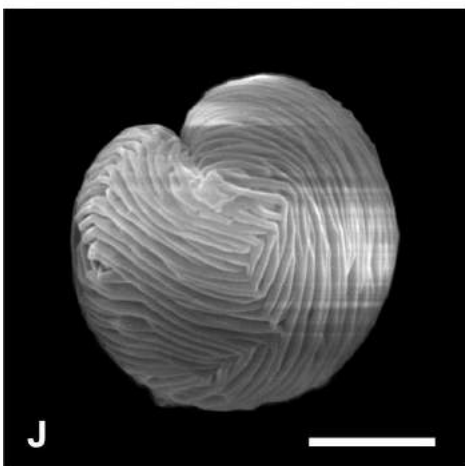
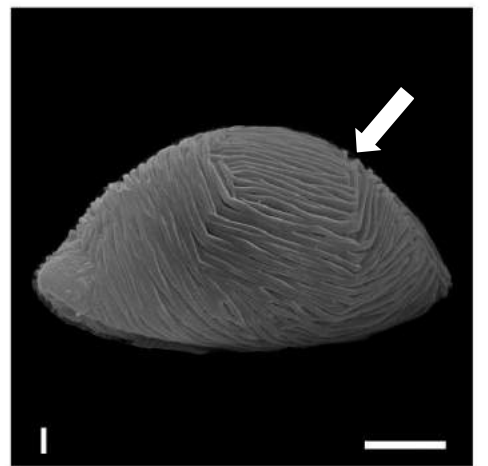
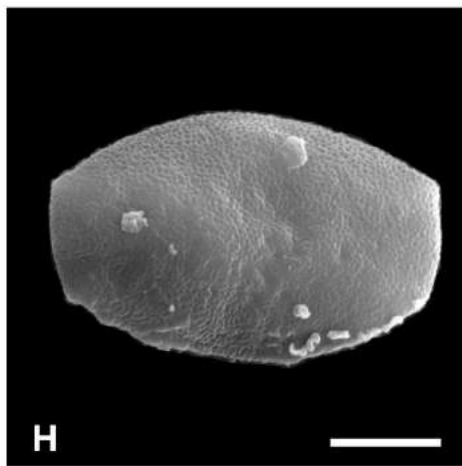
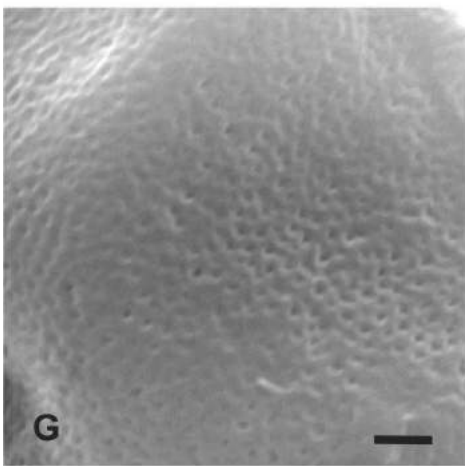
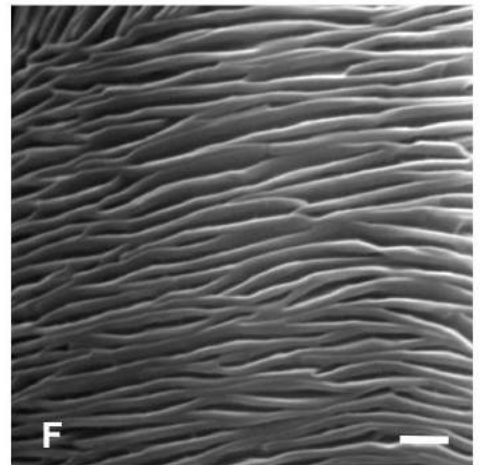
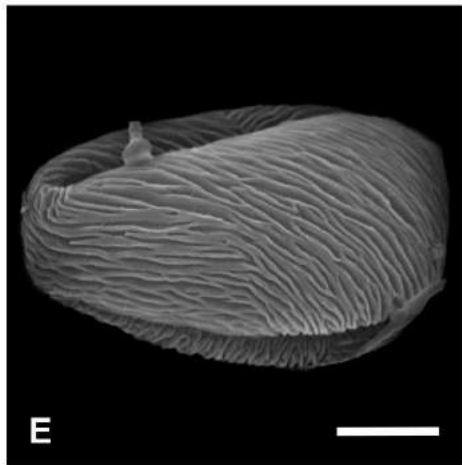
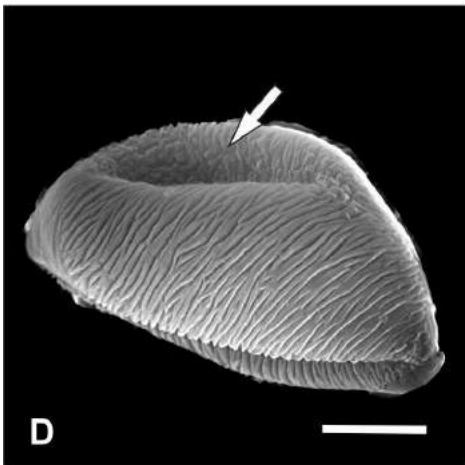
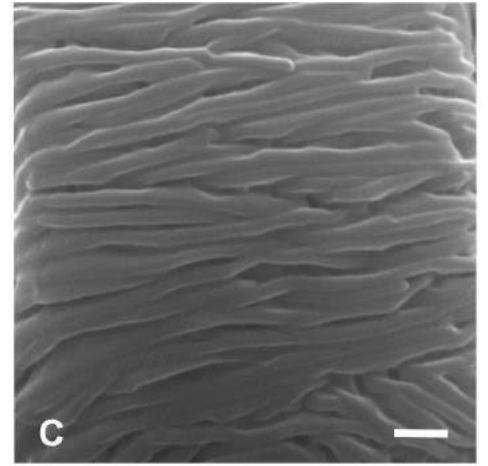
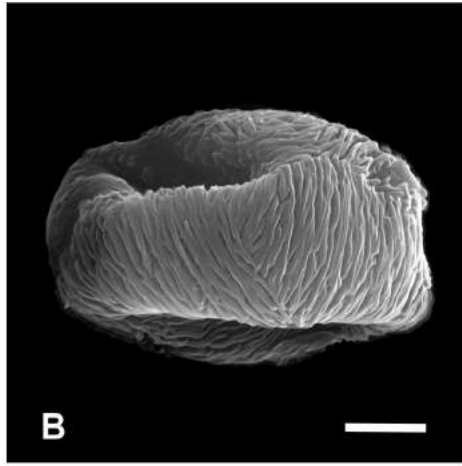
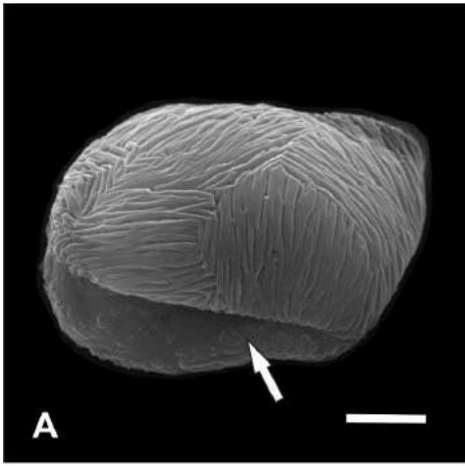




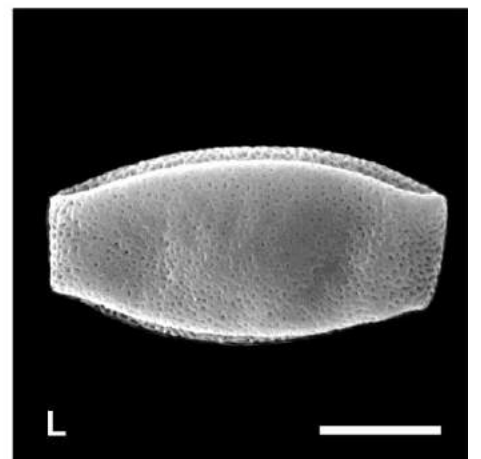
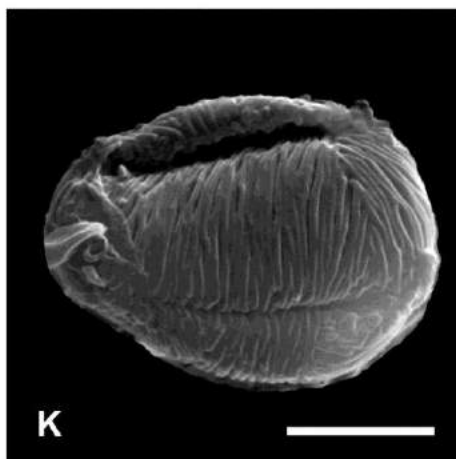
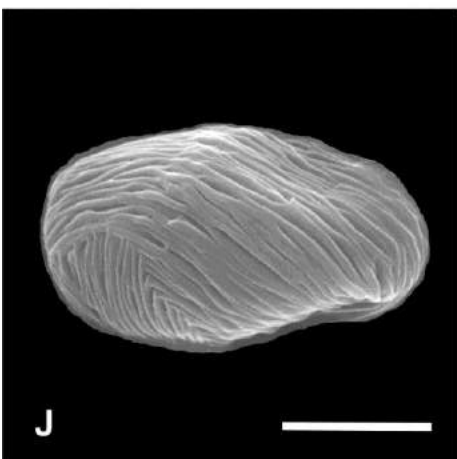
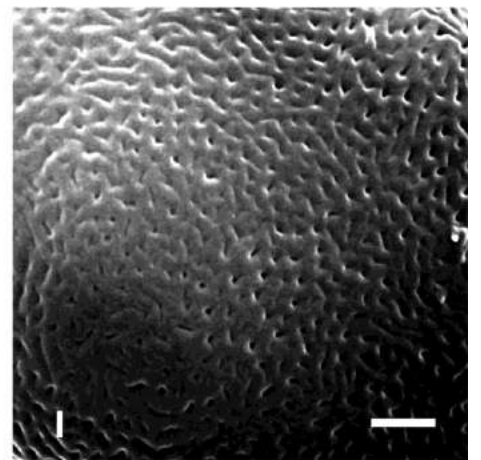
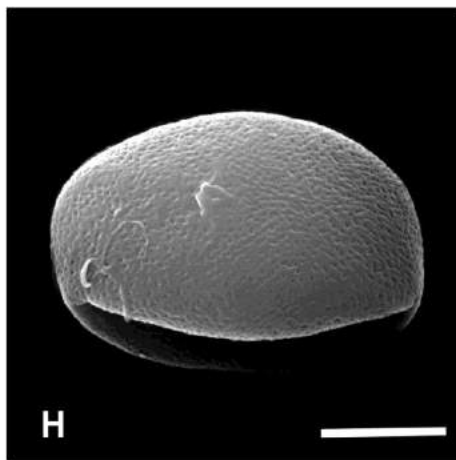
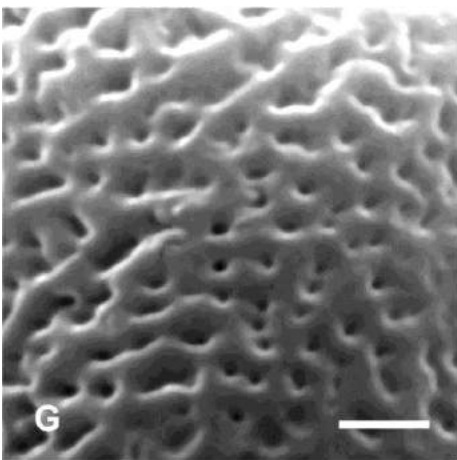
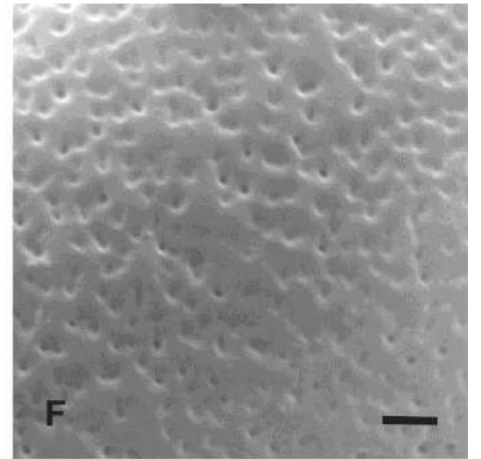
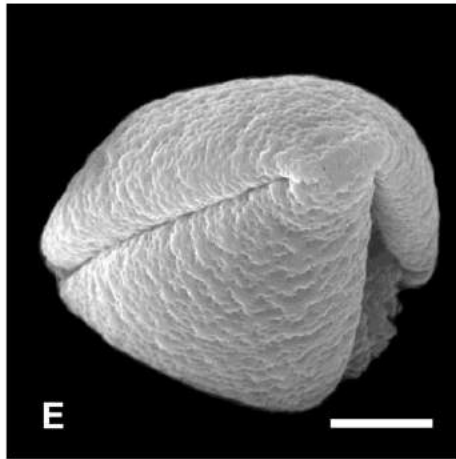
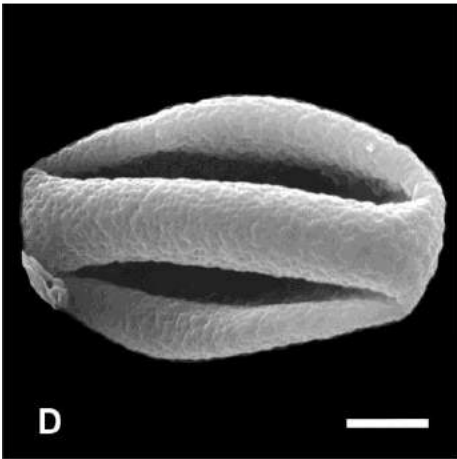
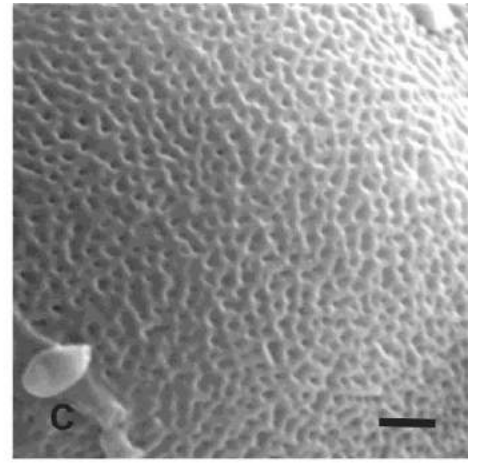
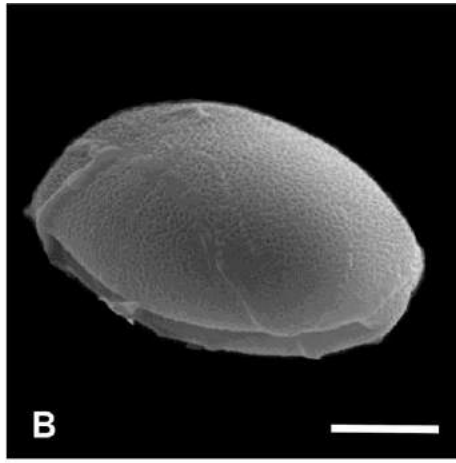
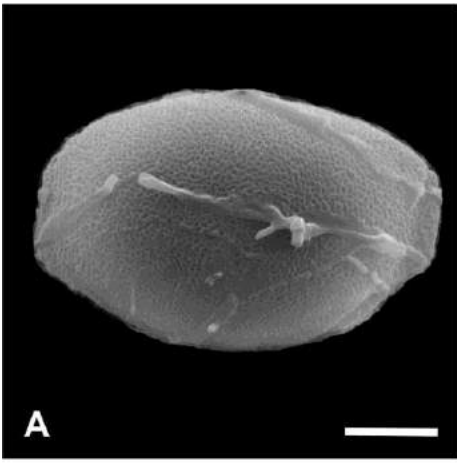
Prancha 7. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. dregeana* – vista polar proximal: A. aspecto geral e superfície (MEV), vista polar distal: B. aspecto geral (MEV). *D. dumetorum* – vista equatorial lateral: C. contorno (ML), vista polar distal: D. aspecto geral (MEV), E. superfície (MEV). *D. elephantipes* – vista polar distal: F. corte óptico (ML), G. aspecto geral (MEV), vista equatorial lateral: H. sulcos (MEV), I. superfície (MEV). *D. fandra* – vista equatorial: J. dois sulcos (MEV), vista polar distal: K. um sulco (MEV), vista polar proximal: L. superfície (MEV). Escalas: A-D, F, G, H, J, K = 5  $\mu\text{m}$  e E, I, L = 1  $\mu\text{m}$ .



Prancha 8. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. A-C. *D. flabelispina* - vista polar distal: A. detalhe da membrana apertural (MEV), vista polar proximal: B. dois sulcos (MEV), C. superfície (MEV). D. E, F. *D. floribunda* – vista polar proximal: D. detalhe da membrana apertural (MEV), E. aspecto geral (MEV), F. superfície (MEV). *D. fordii* – G. superfície (MEV). *D. glabra* – vista polar proximal: H. aspecto geral e superfície (MEV). *D. gracillima* – vista equatorial: I. um sulco (MEV), vista equatorial lateral: J. detalhe do sulco (MEV), vista polar distal: K. um sulco (MEV), L. superfície, detalhe das perfurações (MEV). Escalas: A, B, D, E, H-K = 5  $\mu\text{m}$  e C, F, G, L = 1  $\mu\text{m}$ .

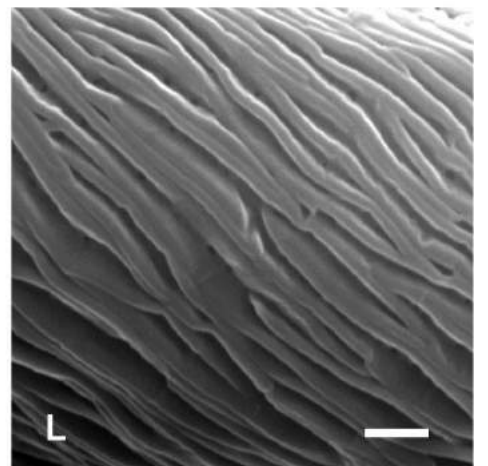
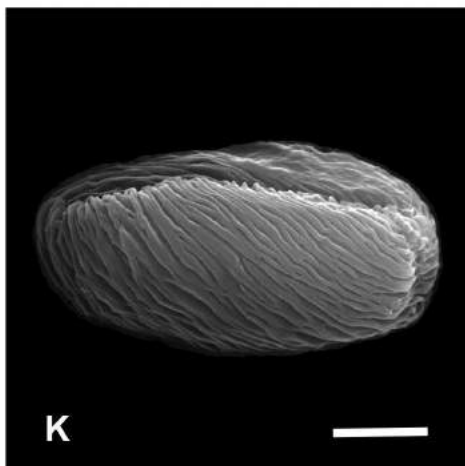
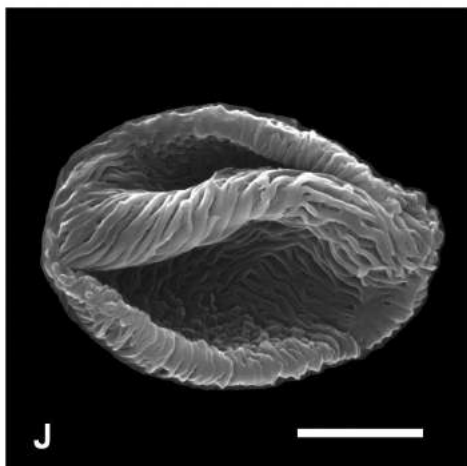
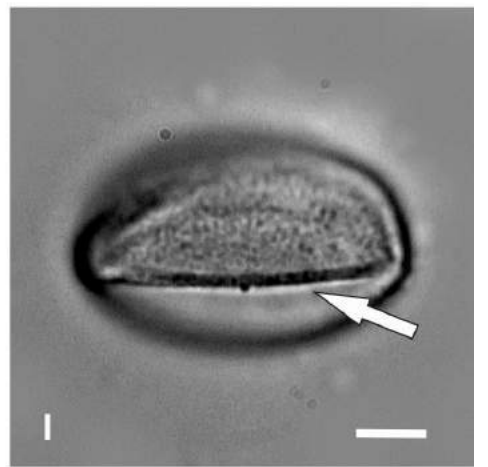
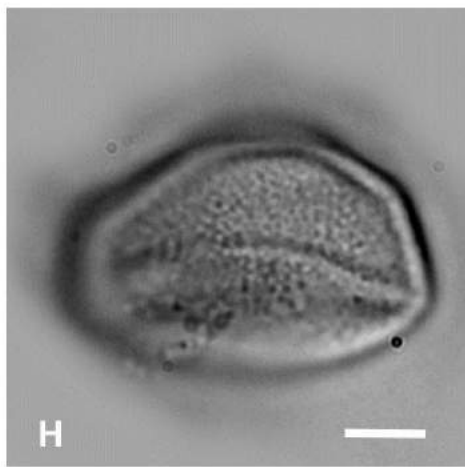
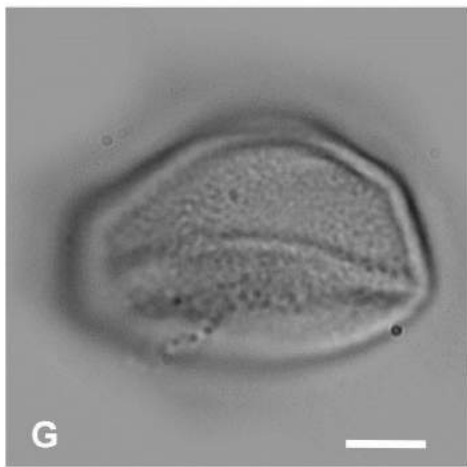
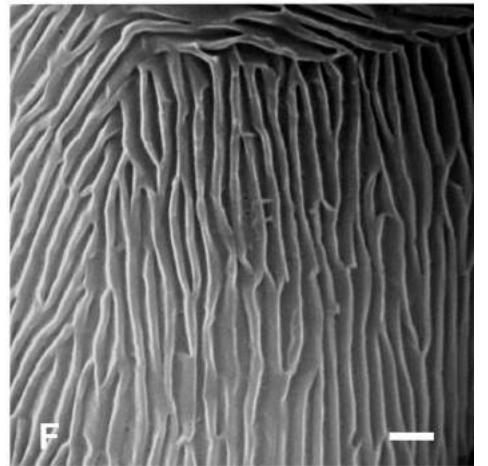
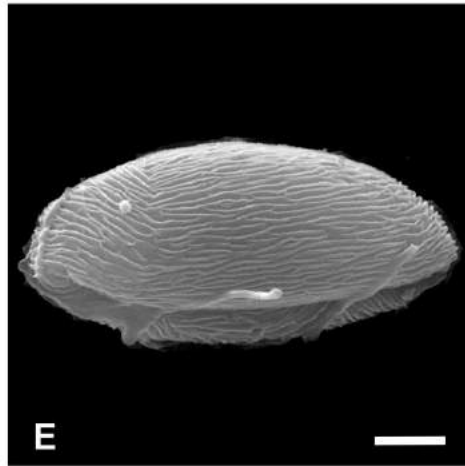
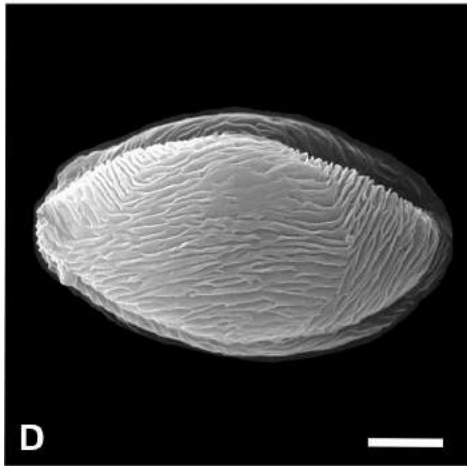
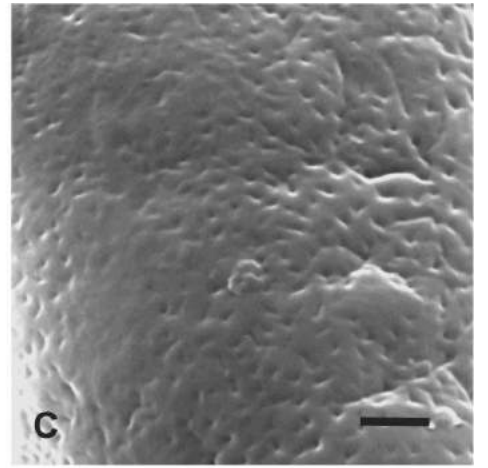
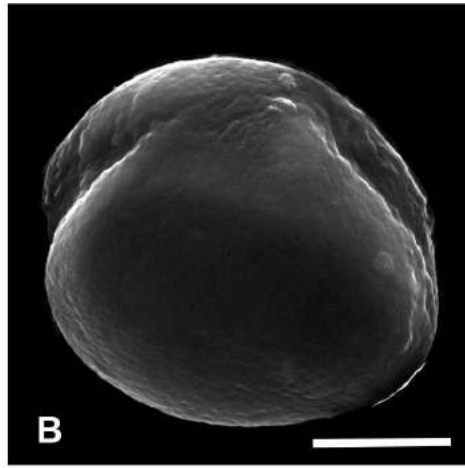
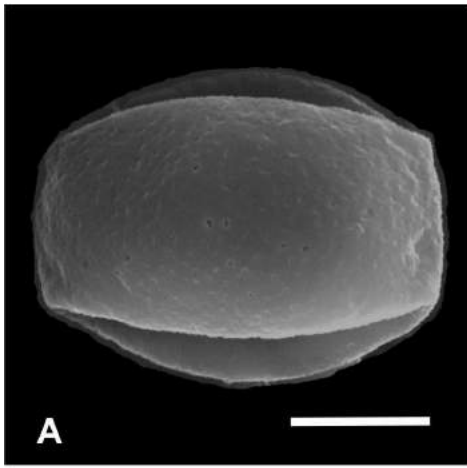


Prancha 9. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. hamiltonii* – vista polar proximal: A. aspecto geral (MEV), B. detalhe do sulco (MEV), C. superfície (MEV). *D. hassleriana* - vista polar distal: D. dois sulcos (MEV), vista equatorial lateral: E. detalhe dos sulcos (MEV), F. superfície (MEV). *D. hastifolia* – G. superfície (MEV). *D. hispida* – vista polar distal: H. aspecto geral (MEV), I. superfície (MEV). *D. hyalinomarginata* – vista polar proximal: J. aspecto geral (MEV), vista polar distal: K. detalhe dos sulcos e superfície (MEV). *D. japonica* – vista polar proximal: L. aspecto geral e superfície (MEV). Escalas: A, B, D, E, H, J-L = 5  $\mu\text{m}$  e C, F, G, I = 1  $\mu\text{m}$ .

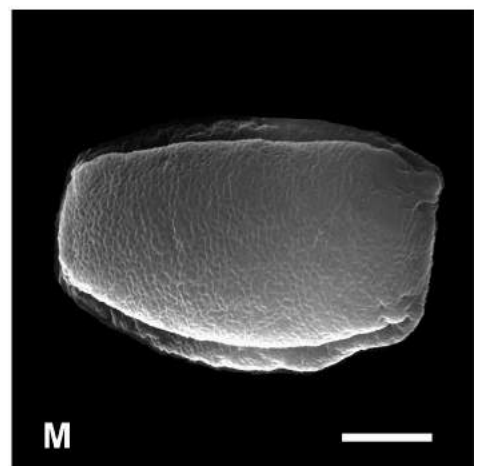
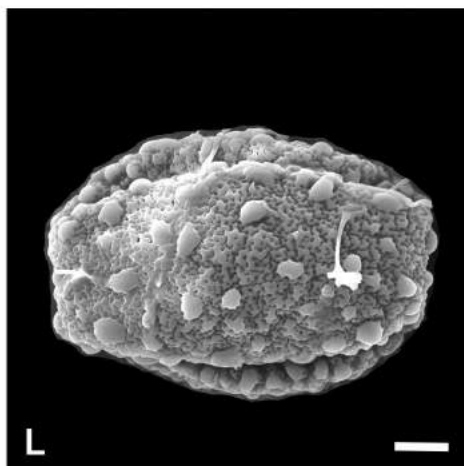
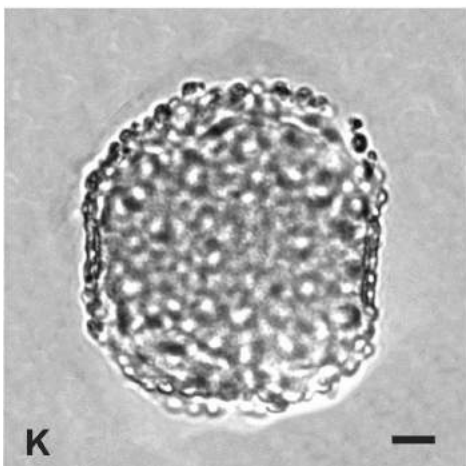
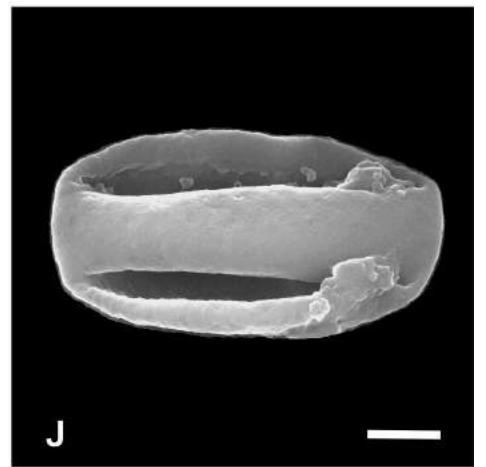
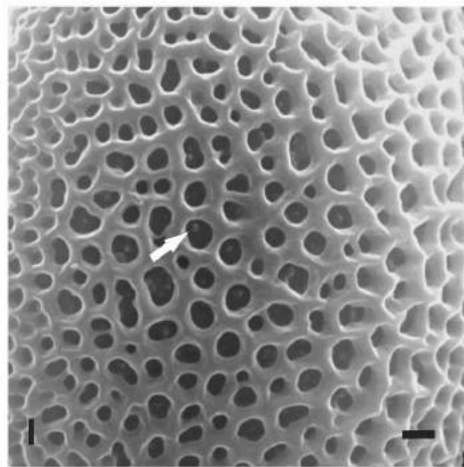
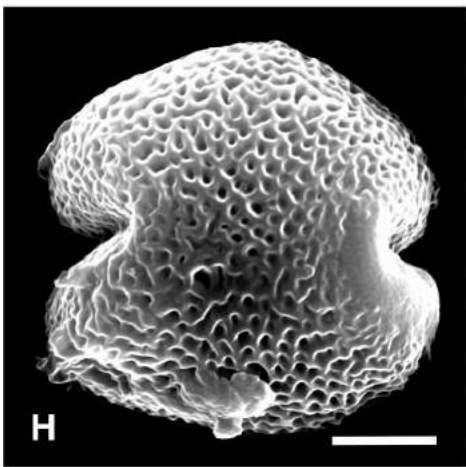
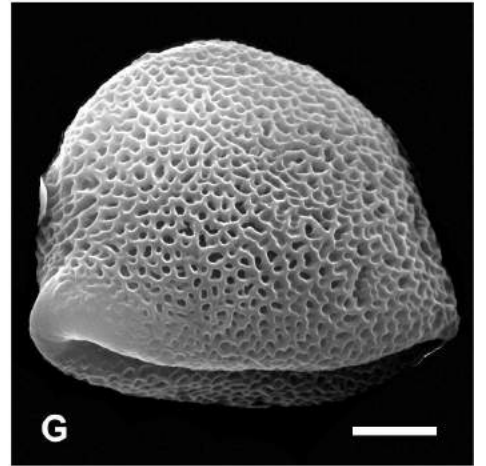
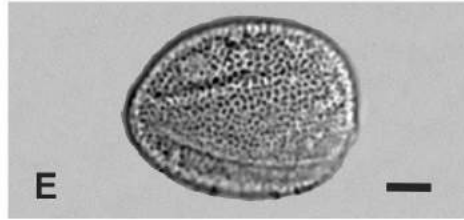
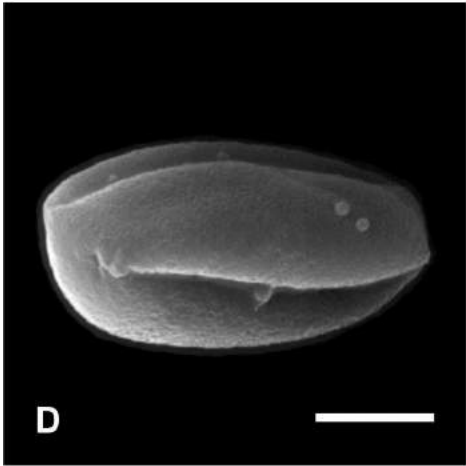
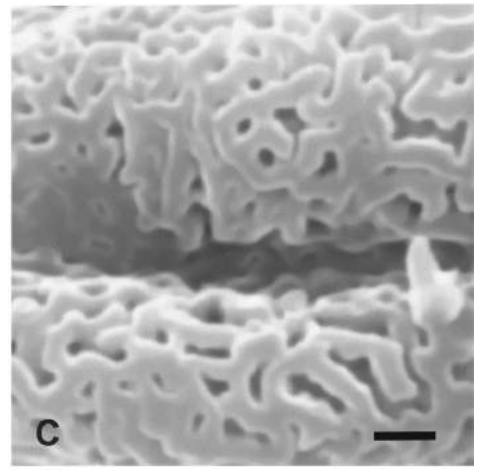
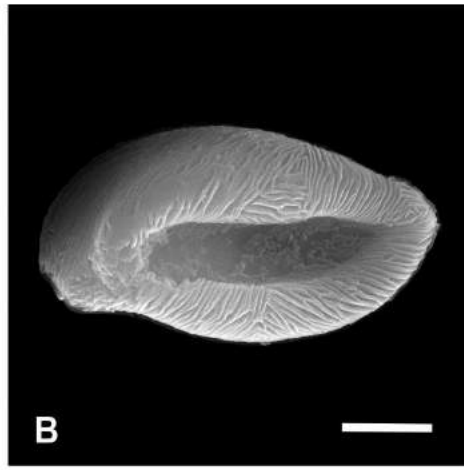
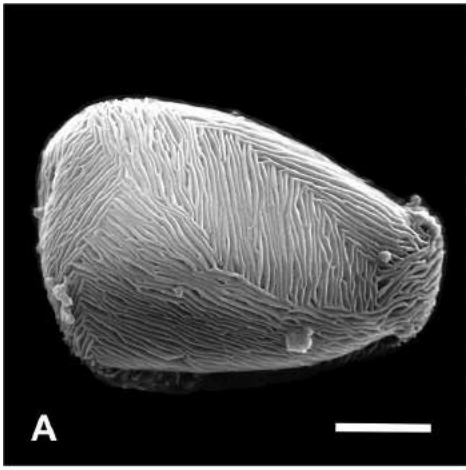


Prancha 10. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. kamoensis* – vista polar proximal: A. aspecto geral (MEV), vista equatorial lateral: B. sulcos (MEV), C. superfície (MEV). *D. laxiflora* – vista polar proximal: D. aspecto geral (MEV), vista polar distal: E. aspecto geral (MEV), F. superfície (MEV). *D. leptostachya* – vista polar distal: G, H. análise de L.O. (ML), I. sulco e margem (ML). *D. macrostachya* – vista polar distal: J. dois sulcos e detalhe da membrana apertural, vista polar proximal: K. aspecto geral (MEV), L. superfície (MEV). Escalas: A, B, D, E, G-K= 5  $\mu\text{m}$  e C, F, L = 1  $\mu\text{m}$ .

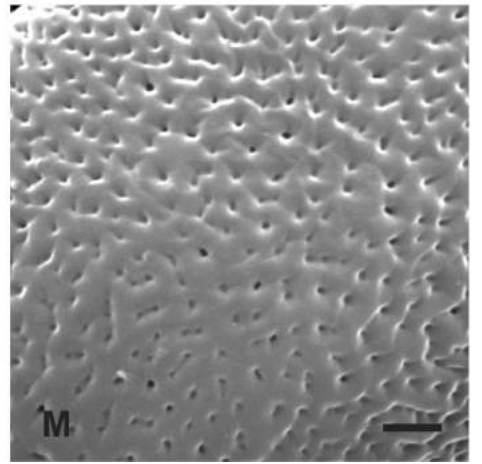
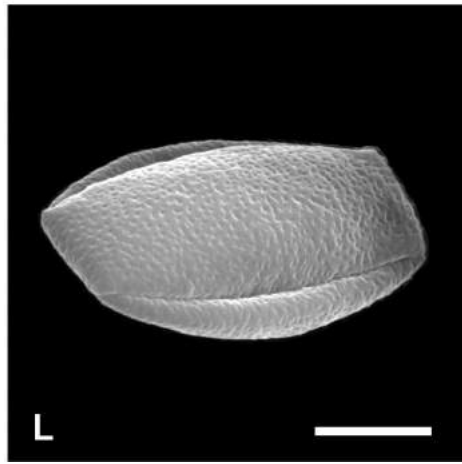
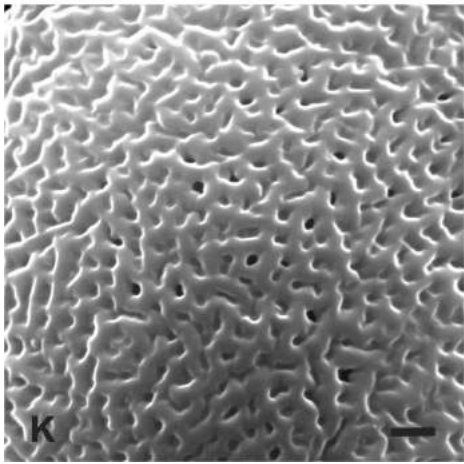
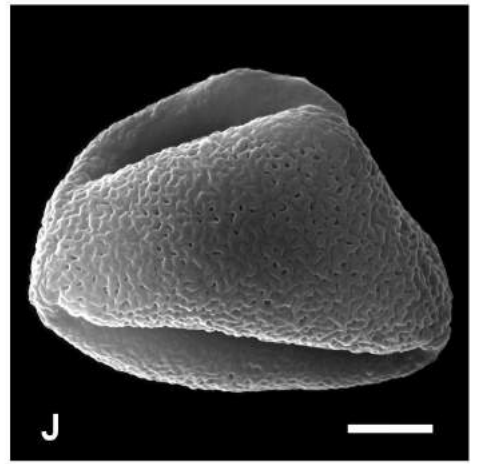
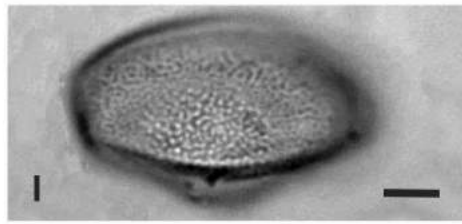
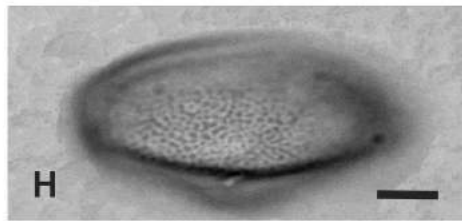
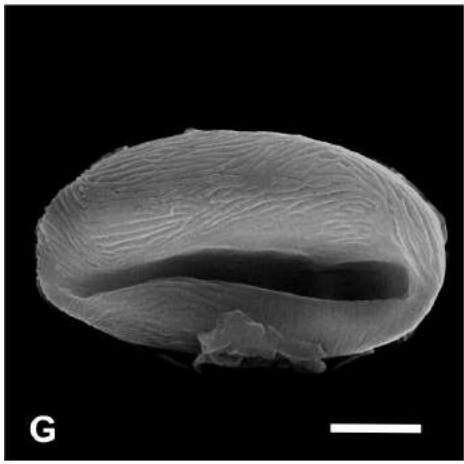
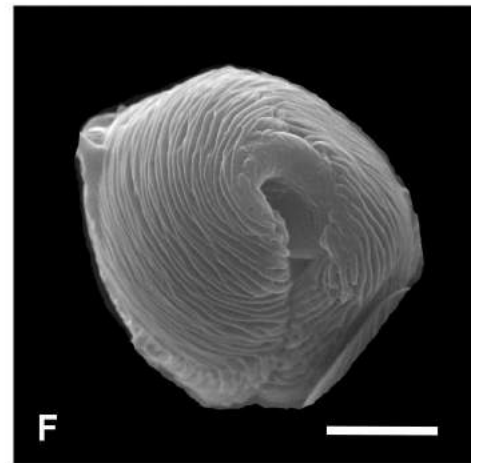
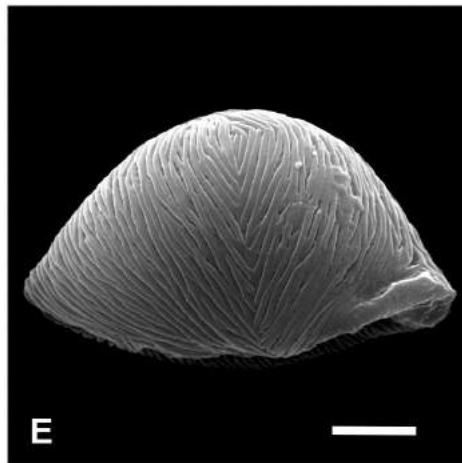
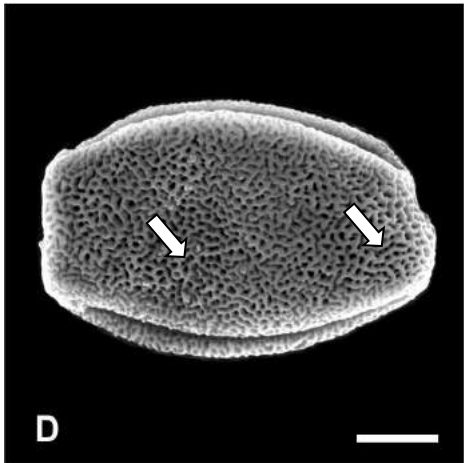
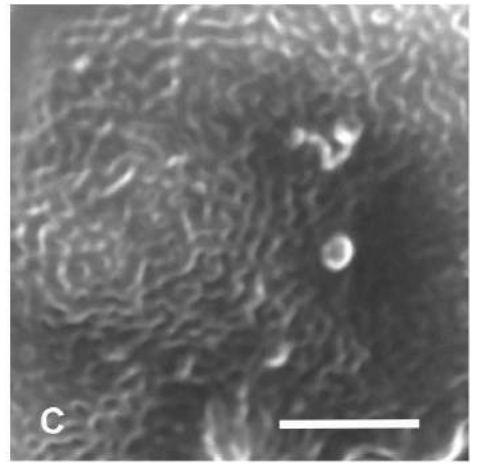
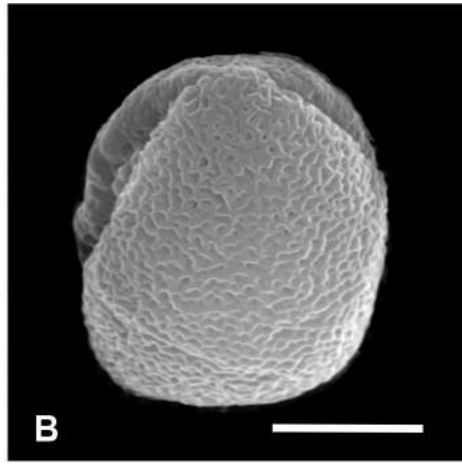
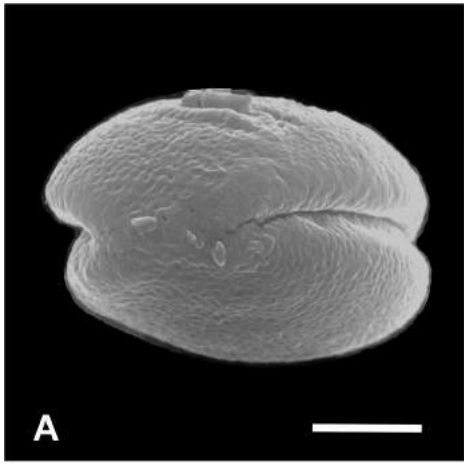




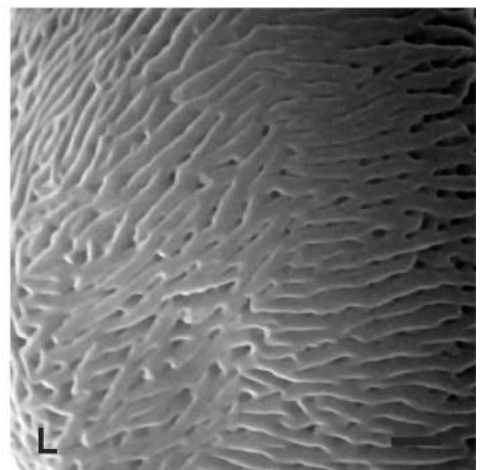
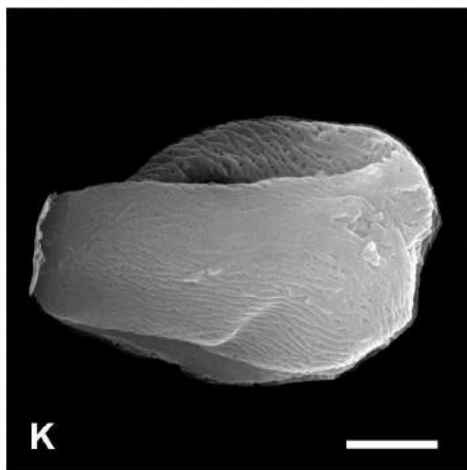
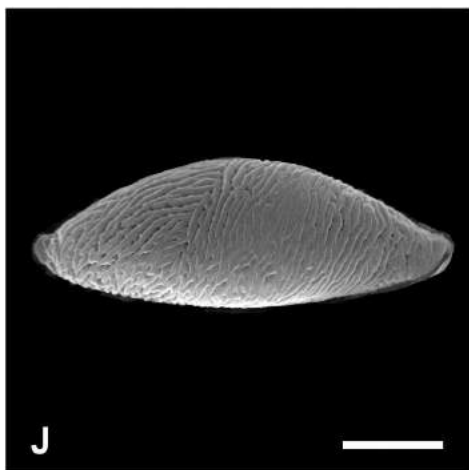
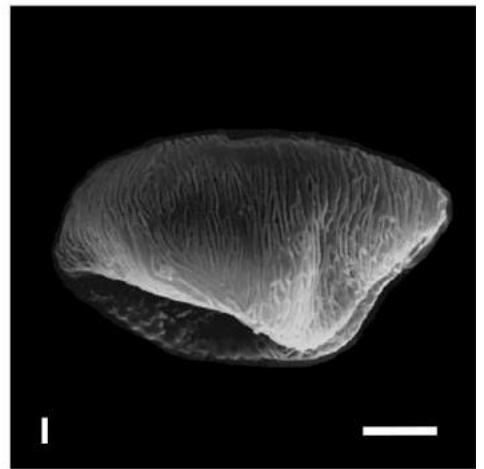
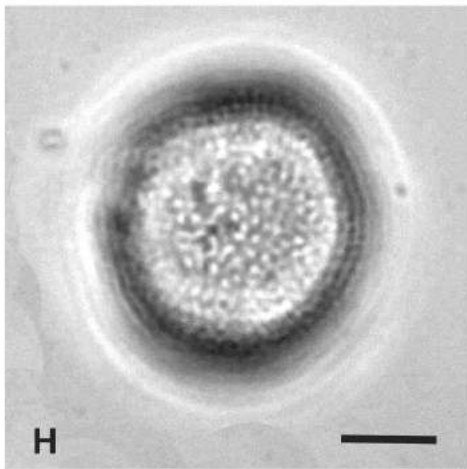
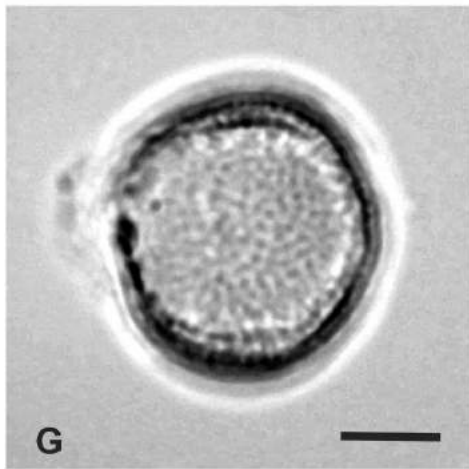
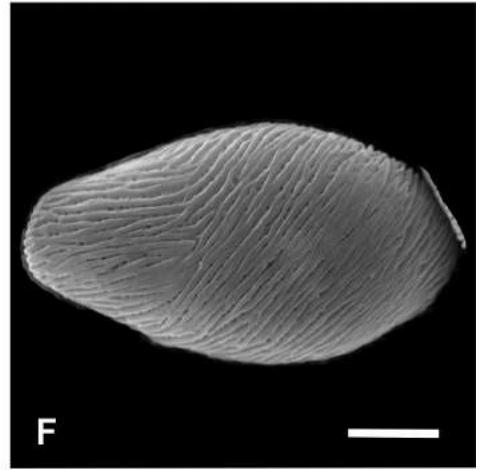
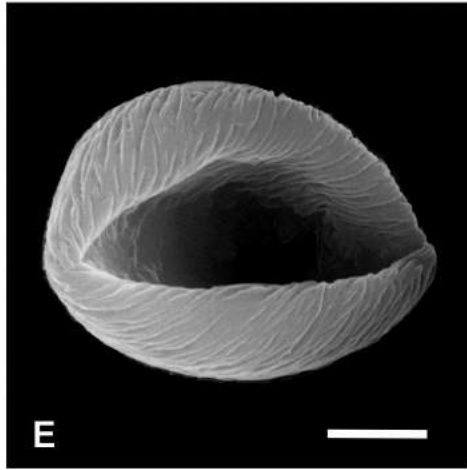
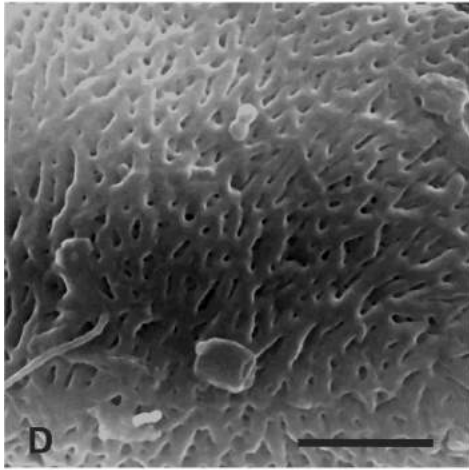
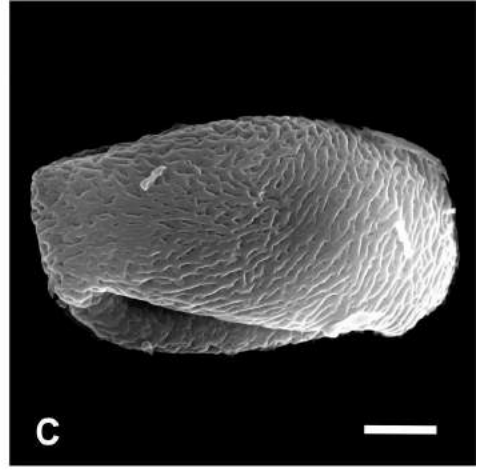
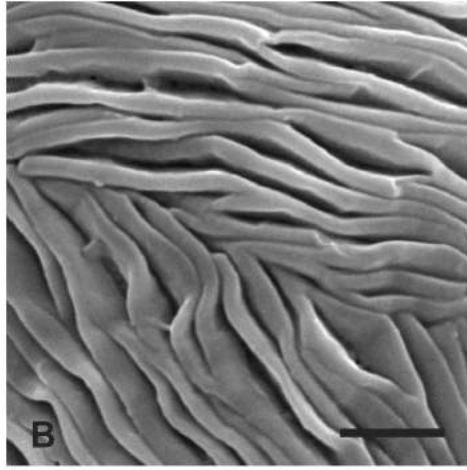
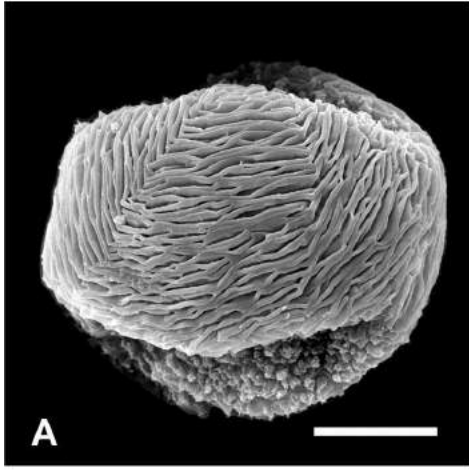
Prancha 11. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. medusae* - vista polar proximal: A. aspecto geral e superfície (MEV), vista polar distal: B. detalhe da membrana apertural (MEV). *D. nipponica* – vista polar distal: C. detalhe da membrana apertural e superfície (MEV). *D. nummularia* – vista polar proximal: D. aspecto geral e superfície (MEV). *D. orientalis* – vista polar distal: E, F. análise de L.O. (ML), vista equatorial: G. um sulco (MEV), vista equatorial lateral, H. detalhes dos sulcos (MEV), I. superfície, grânulos no interior dos lúmens (MEV). *D. pallens* - vista polar distal: J. dois sulcos (MEV). *D. pedicellata* - vista polar proximal: K. corte óptico (ML), L. aspecto geral e superfície (MEV). *D. sp nova2* – vista polar proximal: M. aspecto geral e superfície (MEV). Escalas: A, B, D-H, J-M = 5  $\mu\text{m}$  e C, I = 1  $\mu\text{m}$ .



Prancha 12. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. polygonoides* – vista equatorial lateral: A. detalhe dos sulcos e superfície (MEV). *D. polystachya* – vista equatorial lateral: B. detalhe dos sulcos e superfície (MEV). *D. preussi* – C. superfície (MEV). *D. pseudomacrocapsa* – vista polar proximal: D. aspecto geral e superfície, detalhe do microrretículo (MEV). *D. quinquelobata* – vista equatorial: E. um sulco e superfície (MEV), vista equatorial lateral: F. detalhe do sulco (MEV). *D. remotiflora* - vista polar distal: G. detalhe do sulco e superfície (MEV). *D. sansiberensis* – vista polar proximal: H, I. análise de L.O. (ML), vista polar distal: J. aspecto geral e sulcos (MEV), K. superfície (MEV). *D. schimperiana* – vista polar distal: L. aspecto geral (MEV), M. superfície (MEV). Escalas: A, B, D, E-J, L = 5  $\mu\text{m}$  e C, K, M = 1  $\mu\text{m}$ .

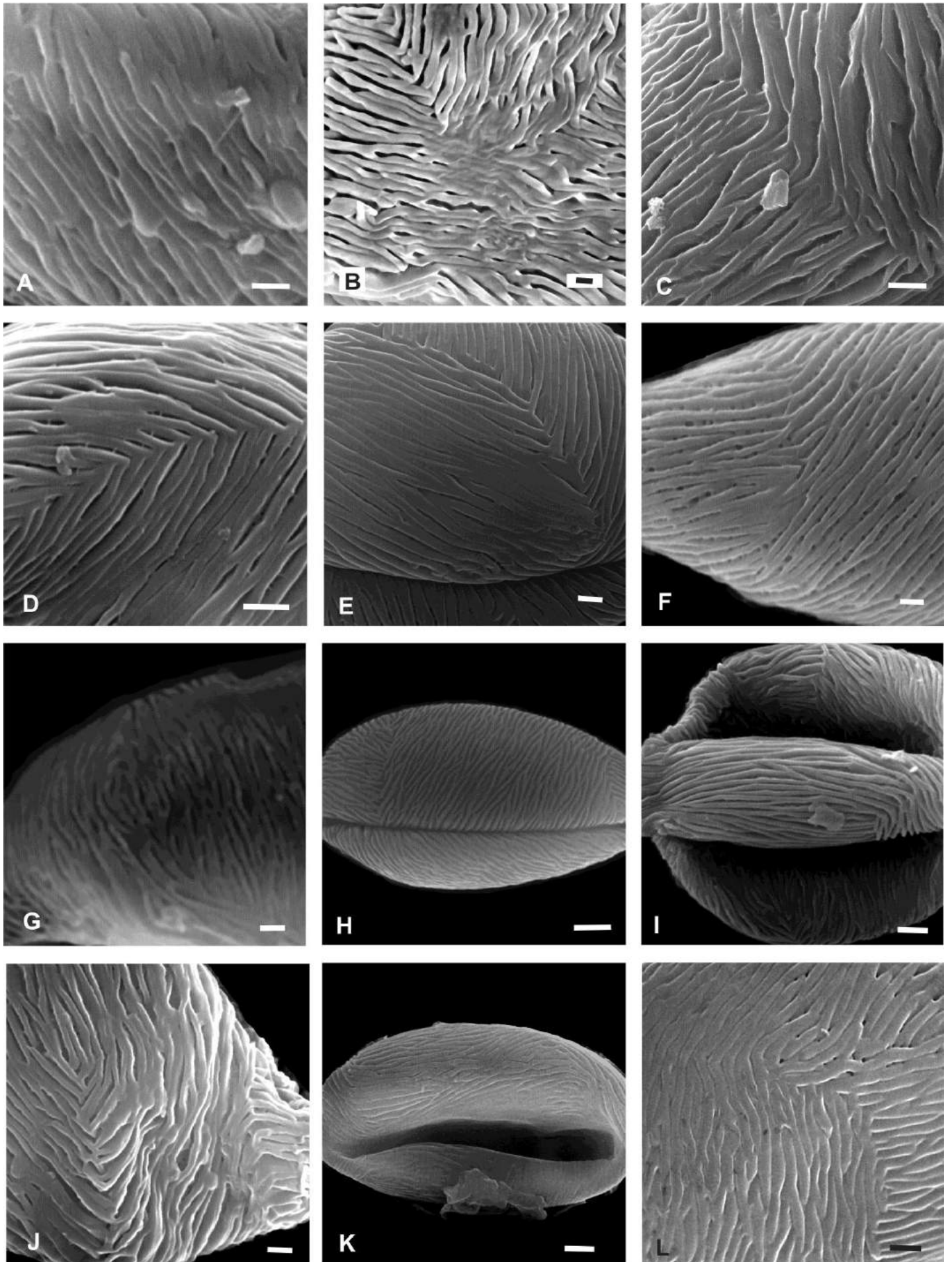


Prancha 13. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. *D. spiculifolia* – vista polar distal: A. aspecto geral e membrana apertural (MEV), B. superfície (MEV). *D. sylvatica* – vista polar proximal: C. aspecto geral (MEV), D. superfície (MEV). *D. tokoro* – vista polar distal: E. detalhe da membrana apertural (MEV), vista polar proximal: F. aspecto geral e superfície (MEV). *D. tomentosa* - vista polar proximal: G, H. análise de L.O. (ML). *D. trisecta* - vista polar proximal: I. aspecto geral e superfície (MEV). *D. villosa* – vista equatorial: J. um sulco (MEV), vista polar distal: K. dois sulcos (MEV), L. superfície (MEV). Escalas: A, C, E-K = 5  $\mu\text{m}$  e B, D, L = 1  $\mu\text{m}$ .



Prancha 14. Eletromicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. Cordões das estrias em uma direção: A. *D. cynanchifolia*. Cordões das estrias em duas direções: B. *D. bartlettii*, C. *D. composita*, D. *D. hyalinomarginata*, E. *D. quinquelobata*, F. *D. tokoro*, G. *D. trisecta*. Cordões das estrias em três direções: H. *D. amaranthoides*, I. *D. fandra*, J. *D. macrostachya*, K. *D. remotiflora*, L. *D. villosa*. Escalas: H, I, K = 2  $\mu\text{m}$  e A-G, J, L = 1  $\mu\text{m}$ .





Prancha 15. Eletromicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. Cordões das estrias em quatro ou mais direções: A. *D. amazonum*, B. *D. bemarivensis*, C. *D. flabelispina*. Cordões das estrias interligadas entre elas: D. *D. floribunda*, E. *D. laxiflora*, F, G. *D. medusae*, H, I. *D. spiculiflora*. Cordões das estrias dispostas em círculos e polígonos: J, K, L. *D. gracillima*. Escalas: A, B, D, F, H, K, L = 2  $\mu\text{m}$  e C, E, G, I, J = 1  $\mu\text{m}$ .

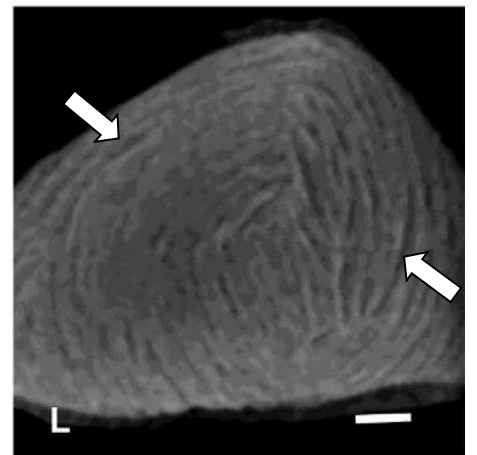
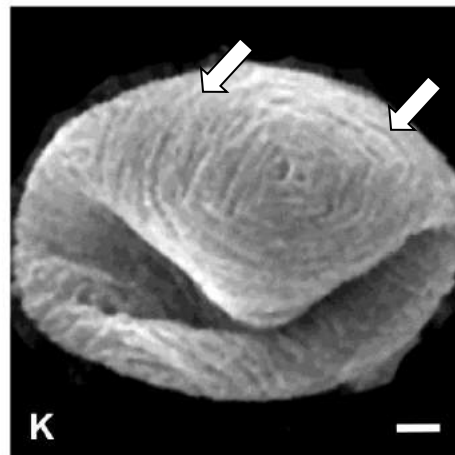
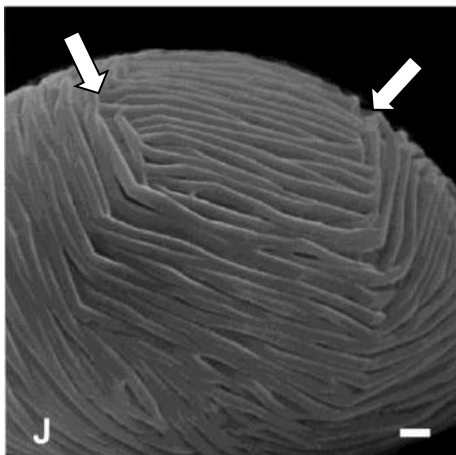
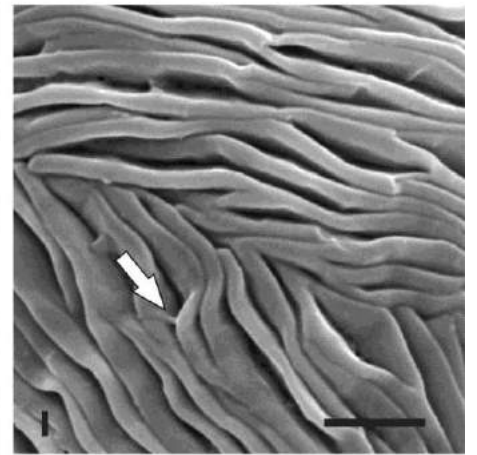
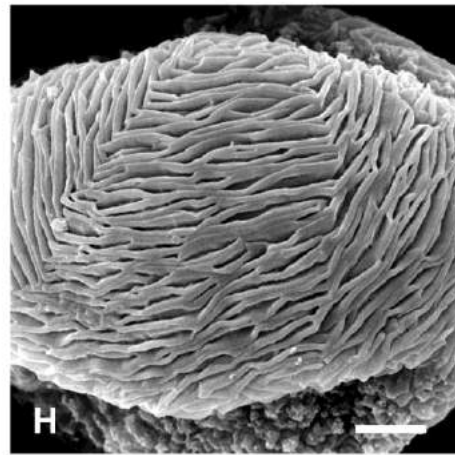
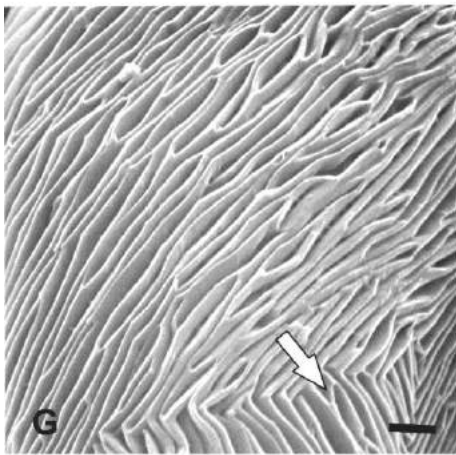
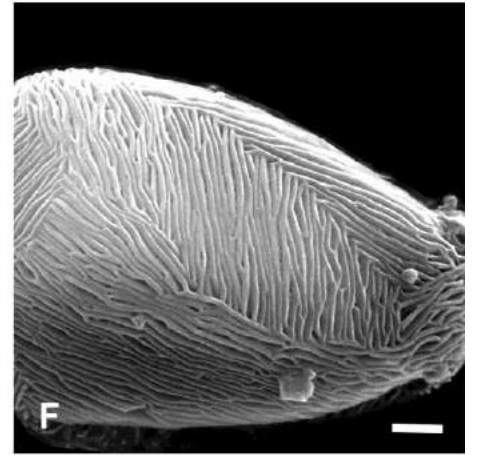
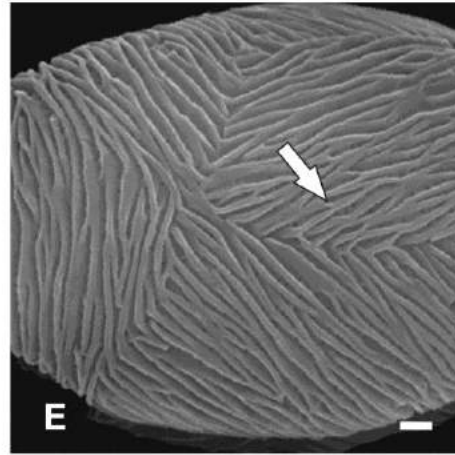
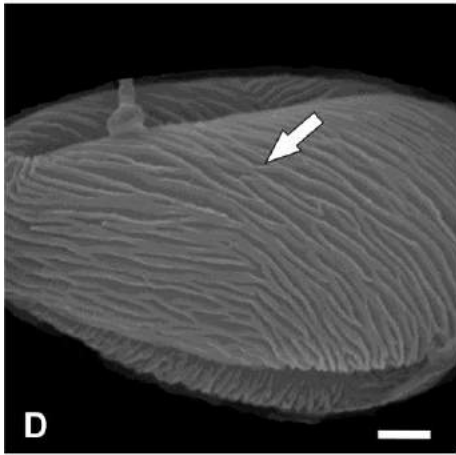
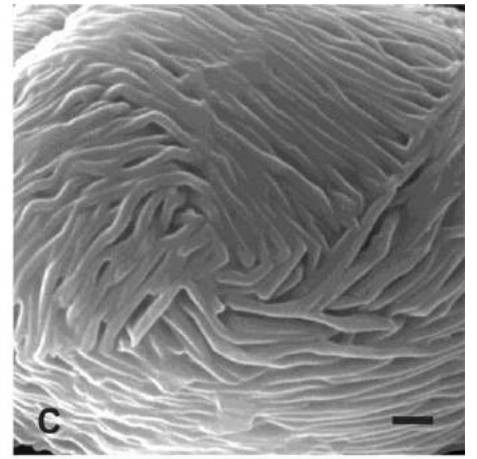
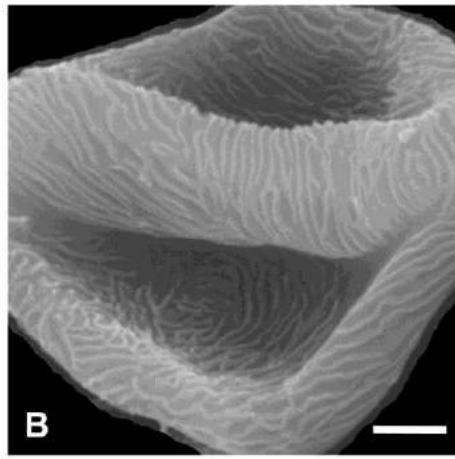
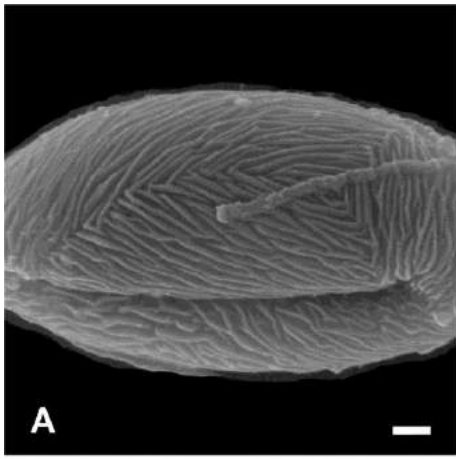
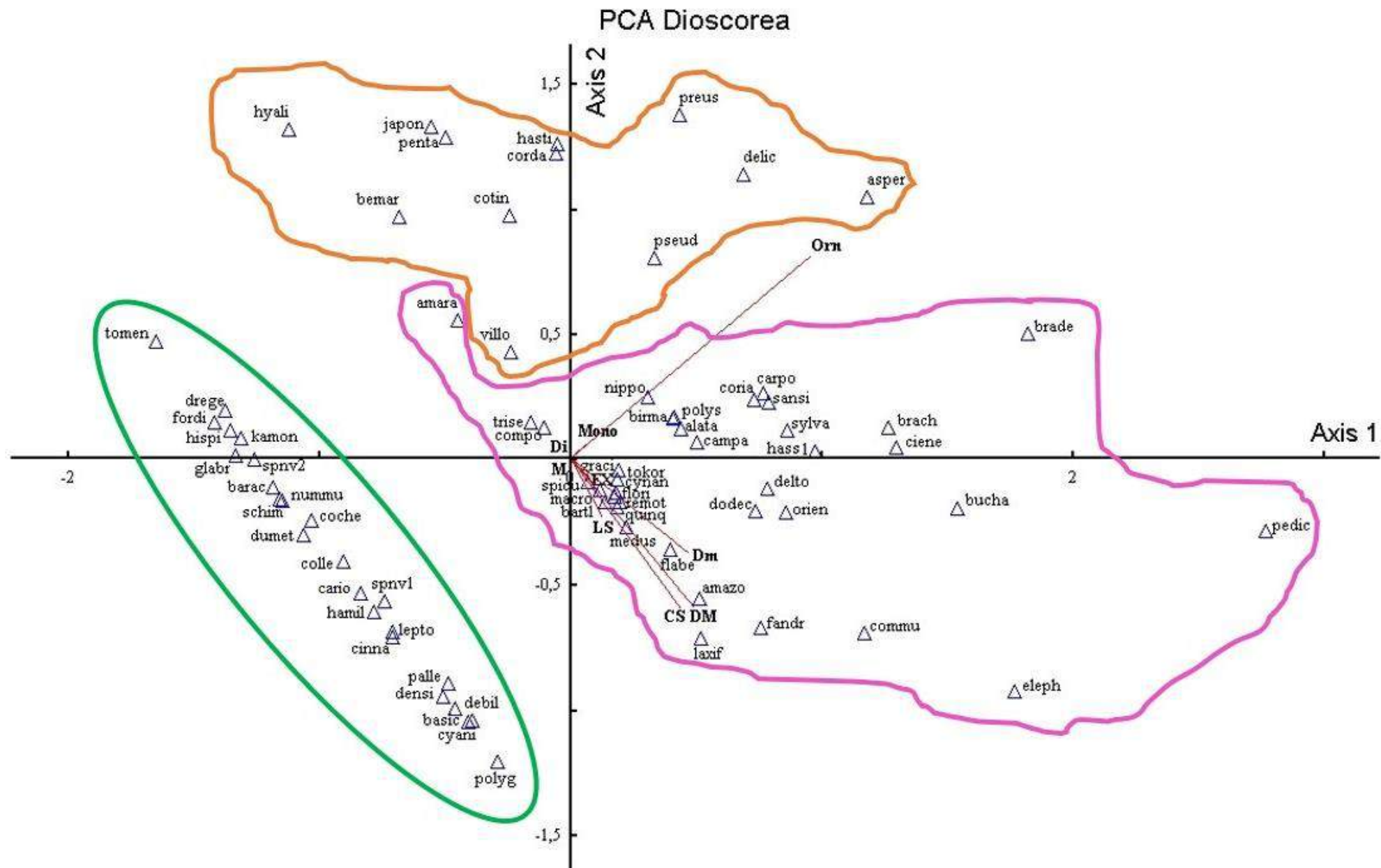
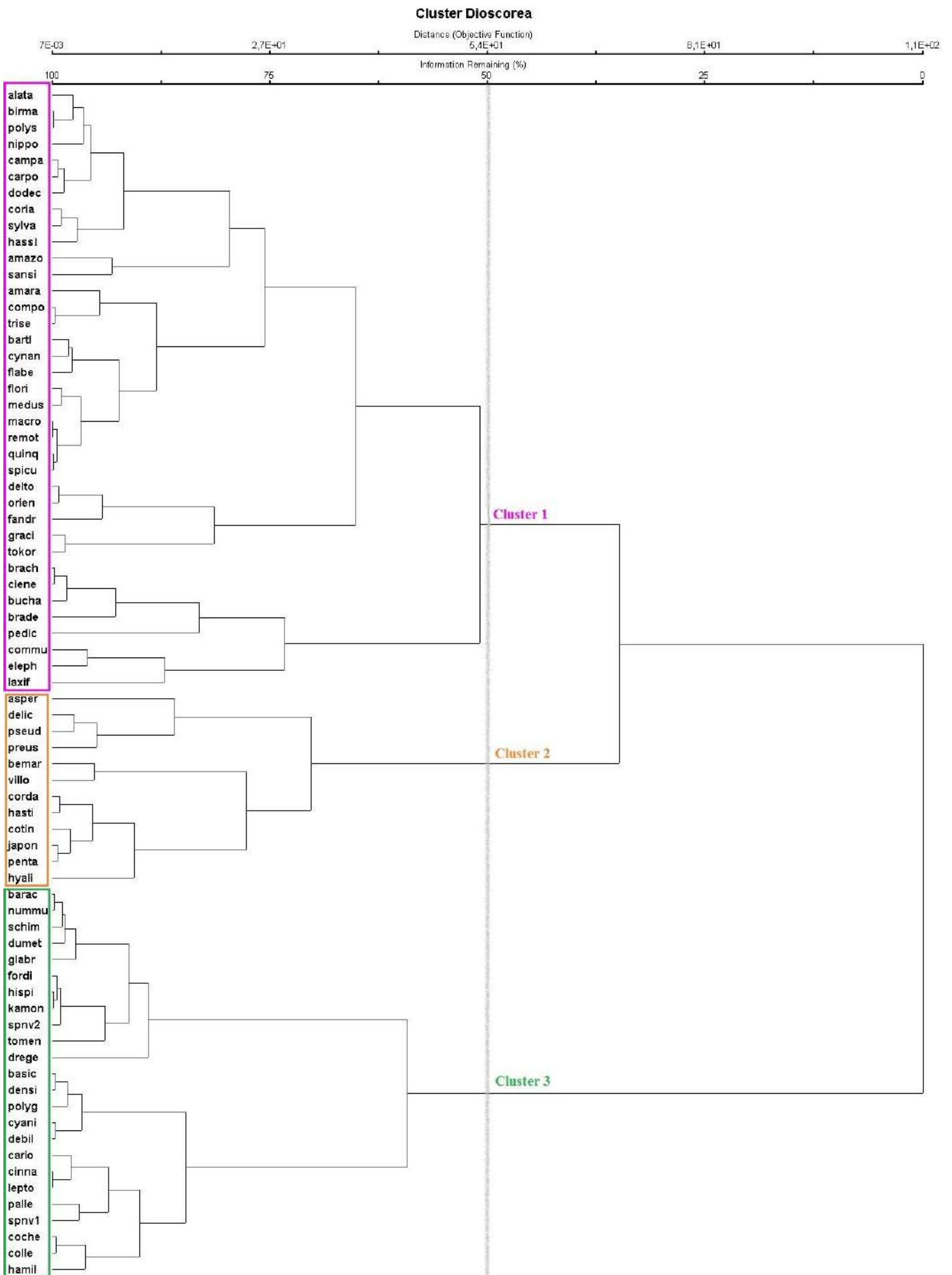


Figura 1. Gráfico bidimensional representando espécies de *Dioscorea* L. em Análise do Componente Principal (PCA).



**Figura 2.** Dendrograma combinado de dados quantitativos e presença e ausência de espécies de *Dioscorea* L. por análise hierárquica de aglomeração (HCA).



## Abreviações:

### **Cluster 1:**

*D. alata* (alata), *D. amaranthoides* (amara), *D. amazonum* (amazo), *D. bartlettii* (bartl), *D. birmanica* (birma), *D. brachybotrya* (brach), *D. bradei* (brade), *D. buchananii* (bucha), *D. campanulata* (campa), *D. carpomaculata* (carpo), *D. cienegensis* (ciene), *D. communis* (commu), *D. coriacea* (coria), *D. cynanchifolia* (cynan), *D. deltoidea* (delto), *D. dodecaneura* (dodec), *D. elephantipes* (eleph), *D. fandra* (fandr), *D. flabelispina* (flabe), *D. floribunda* (flori), *D. gracillima* (graci), *D. hassleriana* (hassl), *D. laxiflora* (laxif), *D. macrostachya* (macro), *D. medusae* (medus), *D. nipponica* (nippo), *D. orientalis* (orien), *D. pedicellata* (pedic), *D. polystachya* (polys), *D. quinquelobata* (quinq), *D. remotiflora* (remot), *D. sansibarensis* (sansi), *D. spiculiflora* (spicu), *D. sylvatica* (sylva), *D. tokoro* (tokor) e *D. trisecta* (trise).

### **Cluster 2:**

*D. asperula* (asper), *D. bemarivensis* (bemar), *D. cordata* (corda), *D. cotinifolia* (cotin), *D. delicata* (delic), *D. hastifolia* (hasti), *D. hyalinomarginata* (hyali), *D. japonica* (japon), *D. pentaphylla* (penta), *D. preussii* (preus), *D. pseudomacrocapsa* (pseud) e *D. villosa* (villo).

### **Cluster 3:**

*D. baracoensis* (barac), *D. basiclavicaulis* (basic), *D. carionis* (caron), *D. cinnamomifolia* (cinna), *D. cochleari-apiculata* (coche), *D. colletii* (colle), *D. cyanisticta* (cyani), *D. debilis* (debil), *D. densiflora* (densi), *D. dregeana* (drege), *D. dumetorum* (dumet), *D. fordii* (fordi), *D. glabra* (glabr), *D. hamiltonii* (hamil), *D. hispida* (hispi), *D. kmoonensis* (kamon), *D. leptostachya* (lepto), *D. nummularia* (nummu), *D. pallens* (palle), *D. polygonoides* (polyg), *D. schimperiana* (schim), *D. sp nova 1* (spnv1), *D. sp nova 2* (spnv2) e *D. tomentosa* (tomen).

#### 4. DISCUSSÃO

O estudo morfológico aqui realizado mostrou a grande diversidade morfológica dos grãos de pólen em *Dioscorea*. Os grãos de pólen foram classificados pelo contorno elíptico na maior parte das espécies, exceto em vista polar que registramos como triangular (*D. bartlettii* e *D. dumetorum*) e circular (*D. bemarivensis* e *D. tomentosa*), e em vista equatorial lateral registramos circular (*D. gracillima* e *D. quinquelobata*). Para o caracter tamanho, foi diferenciado em pequeno ou médio, conforme indicado pelo comprimento do diâmetro maior (DM), dissulcados na maioria das espécies, monossulcados em *D. gracillima* e *D. tokoro*, e 1 (2-) sulcos no mesmo espécime em *D. asperula*, *D. bemarivensis*, *D. deltoidea*, *D. fandra*, *D. orientalis*, *D. quinquelobata* e *D. villosa*. No que diz respeito as ornamentações da sexina, foi possível registrar nove tipos: perfurado (ocorreu na maioria das espécies), reticulado, microrreticulado, birreticulado, rugulado, verrucado, vermiculado, cristado e estriado, sendo a última registrada e classificada em seis diferentes subtipos, baseados na caracterização e disposições dos cordões das estrias.

Erdtman (1952) analisou 20 espécies da família Dioscoreaceae e observou que o tamanho dos grãos de pólen variou de 18µm - 45µm sendo considerado de pequeno a médio, no entanto o autor não menciona o tipo de contorno. Quanto à abertura, os grãos de pólen apresentaram 1-sulcado, 2-3 sulcados ou 4-5 sulcados. Quanto à ornamentação pode ser reticulada com tamanho dos lúmens diminuindo ao longo da abertura, estriada e pilada. Os dados palinológicos aqui registrados para as mesmas espécies, não apresentaram grão de pólen 3-sulcados, 4-5 sulcados e ornamentação pilada. Até o presente momento não foi encontrado registro em *Dioscorea* de grãos de pólen com ornamentação pilada. Há uma possibilidade de ser um equívoco no momento da análise, devido ao método utilizado de apenas microscopia de luz, que não traz clareza as ornamentações. Em relação à aberturas, a maioria das espécies não foram observados grãos de pólen com mais de 2 aberturas, com exceção daqueles encontrados nos trabalhos de Erdtman (1952) e Su (1987).

Barroso *et al.* (1974), analisaram 24 espécies de *Dioscorea* considerando o contorno e a abertura um caracter semelhante entre as espécies, porém, o tamanho apresentou variação de pequeno a médio. Diferenças foram observadas na estrutura e na superfície da exina. A exina se manteve delgada, no qual a variação da sexina foi entre 0,7µm - 2,3µm e da nexina 0,2µm - 0,5µm. As espécies estudadas sob microscopia de

luz, foram divididas em quatro grupos de acordo com a ornamentação da exina (A- reticulado-ornamentado, B- reticulado, C- ornamentado e D- estriado). Das espécies de *Dioscorea* estudadas pelos autores, sete espécies fazem parte do presente estudo. Entre as espécies analisadas, cinco espécies se distinguiram no atributo ornamentação da sexina: *D. leptostachya*: perfurada, *D. cinnamomifolia* e *D. polygonoides*: perfurada com teto regular; *D. pseudomacrocapsa*: rugulada com microrretículos abaixo das rúgulas e *D. dodecaneura*: microrreticulada. Somente *D. cynanchifolia* e *D. laxiflora* apresentaram ornamentação da sexina semelhantes às descritas por Barroso *et al.* (1974). Essa divergência de dados é possível pela falta de recursos referentes à microscopia eletrônica de varredura, que traz clareza quanto ao tipo de sexina.

Clarke & Jones (1981), descreveram *D. communis* com grãos de pólen pequenos e contorno elíptico nas vistas polar, equatorial 1 (colpo em vista “final”) e 2 (colpo em vista lateral). No presente trabalho, registramos contorno elíptico na maioria das espécies, em vista polar, registramos contorno triangular (*D. bartlettii* e *D. dumetorum*) e circular (*D. bemarivensis* e *D. tomentosa*) e, em vista equatorial lateral, registramos contorno circular (*D. gracillima* e *D. quinquelobata*).

Zavada (1983), descreveu os grãos de pólen de *D. polygonoides* como monossulcados e exina reticulada e afirmou que os grãos de pólen na família Dioscoreaceae são monossulcados ou multiaperturados. No presente estudo observamos dissulcado com ornamentação perfurada e não observamos o caracter multiaperturados.

Su (1987) descreveu a morfologia polínica de 33 espécies chinesas de *Dioscorea*, 18 espécies foram consideradas mais basais por apresentarem grãos de pólen monossulcados, 14 espécies foram consideradas mais derivadas por apresentarem grão de pólen dissulcados, com exceção de *D. bulbifera* com grãos de pólen 2 (3-) sulcos. A hipótese acima não está de acordo com os resultados atribuídos por este estudo, pois três destas espécies foram observadas e registradas com grãos de pólen 1 (2-) sulcos em *D. deltoidea* e *D. nipponica*; grãos de pólen dissulcados em *D. colletii* e nenhum grão de pólen com 2 (3-) sulcos foi registrado. No entanto não foi possível fazer afirmações no que diz respeito ao processo evolutivo, pois é necessário utilizar um estudo de classificação cladística com dados preferencialmente moleculares, reconstruindo a filogenia da sistemática e traçando sua história evolutiva.

Embora autores como Erdtman (1952) e Su (1987), mencionem a descrição de grãos de pólen 3- sulcados em *D. densiflora*; *D. cordata* e *D. bulbifera*, neste estudo registrou-se grãos de pólen dissulcados em *D. densiflora* e *D. cordata*, e os grãos de



pólen de *D. bulbifera* não foram analisados pela falta de material fértil. O registro de grãos de pólen 3- sulcados nos trabalhos citados acima, pode ter sido atribuído a uma dobra que é possível ocorrer nas margens do sulco, que ao ser observado em microscopia de luz, dá a impressão de constituir uma outra abertura.

Roubik & Moreno (1991) analisaram seis espécies de *Dioscorea*, sendo *D. alata*, *D. macrostachya* e *D. polygonoides* estudadas no presente trabalho. Os resultados divergiram em relação ao contorno e ornamentação.

Estudando a flora polínica no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, Corrêa (1996) descreve cinco espécies de *Dioscorea*. Apenas *D. dodecaneura* foi analisada no presente estudo e os dados aqui obtidos corroboram com a autora.

Caddick *et al.* (1998), estudaram os caracteres da morfologia polínica de 13 espécies de Dioscoreaceae, onde 10 apresentaram grãos de pólen dissulcados e três espécies monossulcados. Os autores observaram quatro tipos de ornamentação da sexina (perfurado-estriado (rugulada) em *Dioscorea* e *Rajania*; perfurada-finamente reticulada em *Dioscorea* e *Epipetrum*; perfurado-reticulado em *Tamus* e *Dioscorea* e gemado em *Dioscorea*). Referente aos táxons do estudo aqui apresentado foram observados seis táxons com grãos de pólen dissulcados, *D. brachybotrya*, *D. pentaphylla*; *D. schimperiana*; *D. sylvatica*; *Rajania cordata* (= *D. cordata*), *Tammus communis* (= *D. communis*), concordando com os autores acima. No caracter ornamentação da sexina, foram registrados quatro tipos diferentes: birreticulado, perfurado, rugulado e microrreticulado, na respectiva ordem. Essa diferença demonstra que as ornamentações na morfologia polínica em *Dioscorea* é um atributo importante e que as espécies compartilham características micromorfológicas que agregadas a características macromorfológicas desempenham um papel fundamental na sistemática do gênero.

Schols *et al.* (2001), descreveram os grãos de pólen de 35 espécies de *Dioscorea* registrando a variação de tamanho (16,2-45,8µm). Os autores afirmaram que 22 espécies apresentaram grãos de pólen com aberturas dissulcadas; duas espécies com grãos de pólen monossulcados e 11 espécies tem ambos os tipos de abertura (monossulcado e dissulcado). Como resultado do exame palinológico aqui realizado com 14 táxons também descritos pelos autores acima, os táxons *D. buchananii*, *D. colletii* e *D. dodecaneura*, apresentaram apenas grãos de pólen dissulcados, diferindo dos autores. Continuando o interesse pela palinologia do gênero, em 2003, Schols e colaboradores, analisaram a morfologia polínica de 61 espécies e afirmaram que cerca de 75% apresentaram duas aberturas (dissulcados); 10% são monossulcados e 15% das

espécies possuem ambos os tipos aperturais (grãos de pólen monossulcados e dissulcados). Essa característica também foi observada no presente estudo, das 73 espécies analisadas, 86% apresentaram grãos de pólen dissulcados; 3% são monossulcados e 11% são dissulcados e monossulcados, sendo a maioria com predominância em grãos de pólen dissulcados, com exceção de *D. nipponica* que predominou grãos de pólen monossulcados.

Schols *et al.* (2001, 2003 e 2005a), apresentaram grãos de pólen com ornamentação da sexina estriada, em táxons representantes dos clados da Malásia, África, *Stenophora*, *Rajania* e Novo Mundo. Os autores observaram que as estrias apresentaram posições distintas: dispostas em círculos e polígonos concêntricos; em duas direções diferentes; em diversas direções; estrias conectadas entre elas e estrias com perfurações entre elas. De acordo com nossos dados palinológicos, ao comparar as características citadas acima, observamos que 20 táxons apresentaram ornamentação da sexina estriada com as mesmas características.

Harley (2004), utilizou caracteres polínicos em seus resultados, enfatizando grãos de pólen em monocotiledôneas com três aberturas. É sabido que aproximadamente 27 gêneros de monocotiledôneas apresentam grãos de pólen triaperturados, característica que é considerada rara. O autor relata que para um grão de pólen triaperturado ocorrer em monocotiledônea, é possível uma ou outra de três situações: (1) é o estado normal; (2) bastante comum, mas o grão de pólen com mais ou menos aberturas também ocorre no táxon ou amostra e (3) é um estado raro ou anormal para o grão de pólen que geralmente tem menos de três aberturas. O autor considerou para o gênero *Dioscorea*, grãos de pólen com três aberturas (trissulcados) uma condição anormal. No presente estudo não foi observado grãos de pólen trissulcados.

Schols *et al.* (2005a), a fim de avaliar a evolução dos caracteres polínicos e com intuito de otimizar resultados em relação à filogenia, acrescentaram os dados polínicos de Schols *et al.* (2001, 2003) aos resultados da árvore matriz de parcimônia de sequências *rbcL* e *matK* apresentadas por Wilkin *et al.* (2005). Os resultados indicaram que em *Dioscorea*, o tamanho do grão de pólen diminui nos clados mais derivados podendo estar relacionada a evolução dos tubérculos substituídos anualmente. Em outro trabalho Schols e colaboradores (2005b), analisaram o desenvolvimento dos grãos de pólen de três gêneros de Dioscoreales e dentre eles, *Dioscorea*. Os autores afirmaram que os grãos de pólen apresentam duas aberturas alongadas latitudinalmente, pouco

visíveis e situadas entre os polos. No presente estudo, 63 espécies (ou seja 86%) apresentaram apenas duas aberturas.

Wilkin *et al.* (2009) analisaram, os grãos de pólen de populações de *Dioscorea gillettii* Milne-Redh de duas regiões do continente africano (Quênia e Etiópia). Em relação à ornamentação da sexina foi definida como estriada. No presente estudo, 20 espécies (ou seja 27%) apresentaram esse padrão de ornamentação. Apesar do mesmo tipo de ornamentação, as estrias apresentaram direções e formas diferentes. Essas distinções entre elas, determinam características representativas para os resultados finais da palinologia adicionados a taxonomia.

Raz & Pérez-Camacho (2017), descreveram em *Dioscorea* Seção *Rajania*, uma nova espécie para Cuba (*D. pseudocleistogama* Raz & Pérez), tal fato se deu pela utilização de caracteres macromorfológicos e micromorfológicos como os grãos de pólen (grãos de pólen dissulcados e ornamentação da sexina rugulada) que pôde distingui-la das outras espécies da seção. Através dos estudos de palinotaxonomia aqui realizados, foi possível confirmar características específicas e diferenciadas para as espécies do gênero, o que sugere que tais características são úteis para a classificação taxonômica em *Dioscorea*.

Sheik & Kumar (2018), avaliaram a significância taxonômica dos caracteres polínicos (orbículos; nº de abertura; ornamentação da sexina; tamanho do grão de pólen e diâmetro do orbículo) para diferenciar as espécies. Os caracteres foram codificados, analisados por PCA e posteriormente, organizada uma chave dicotômica para distinguir e identificar as espécies (*D. alata*, *D. belophylla*, *D. bulbifera*, *D. glabra*, *D. lepcharum*, *D. oppositifolia*, *D. pentaphylla* e *D. pubera*). Os autores registraram grãos de pólen maiores e menores que 16 µm; monossulcados e dissulcados; ornamentação perfurada e microrreticulada. Os dados palinológicos aqui registrados apresentaram tamanho pequeno, grão de pólen dissulcado e ornamentação perfurada em *D. glabra* e *D. pentaphylla*, enquanto em *D. alata* a diferença ficou no em tamanho médio.

Couto *et al.* (2018), realizaram estudos filogenéticos de dados moleculares e morfológicos com ca. 180 táxons que representam a diversidade taxonômica da família, que foram divididos em 11 clados. Nos dados palinológicos aqui registrados, destacamos os atributos tamanho, número de abertura e ornamentação da sexina, que apresentou uma grande diversidade sendo possível dividir em nove tipos polínicos (perfurado; estriado; microrreticulado; rugulado; birreticulado; reticulado; vermiculado, verrucado e cristado) que estão representados na maioria dos clados com exceção dos

clados Dioscoreaceae hermafroditas e *Shannicorea*. Devido a grande variabilidade morfológica, nossos resultados contribuíram na delimitação de espécies.

Luz *et al.* (2020), realizaram a descrição palinológica em nove espécies de *Dioscorea* ocorrentes em um fragmento de Mata Atlântica do Estado de São Paulo, dentre elas, *D. amaranthoides*, *D. laxiflora* e *D. dodecaneura*, aqui analisadas. Os resultados encontrados pelas autoras foram aqui também observados com exceção do termo utilizado “sulculi” e no presente trabalho consideramos sulco por apresentar abertura localizada no polo.

Alzer (2017) e Alzer *et al.* (2020), analisaram 24 espécies de *Dioscorea* e identificaram caracteres polínicos de valor taxonômico e filogenético. Descreveram contorno elíptico em vista polar na maioria das espécies com exceção de *D. anomala* que apresentou contorno circular e uma das faces sendo aproximadamente aguda, *D. monadelphica* que variou de elíptica a triangular e em *D. perdicum* onde contorno variou de elíptico a quadrangular. Na vista equatorial foi considerado circular-lobado. Para o caracter polínico tamanho, os grãos de pólen variaram de pequenos a médios (14,8µm – 35,5µm). O tipo de abertura dos grãos de pólen em 21 táxons foram dissulcados e apenas três táxons foram identificados como monossulcados e dissulcados no mesmo espécime, *D. anomala*, *D. campestris* e *D. glandulosa*. Em relação a ornamentação foram descritas como perfurada, estriada, reticulada, microrreticulada, vermiculada, rugulada e espiculada. Neste estudo, a maioria das espécies apresentou contorno elíptico em vista polar, vista equatorial e vista equatorial lateral, exceto em *D. bartlettii* e *D. dumetorum* (triangular em vista polar), *D. bemarivensis* e *D. tomentosa* (circular em vista polar), *D. gracillima* e *D. quinquelobata* (circular em vista equatorial lateral) e a maior parte das espécies apresentou grãos de pólen de tamanho pequeno seguido de médio. Embora os dados aqui obtidos mostrem divergências quanto ao contorno, os registros desse caracter são escassos e ainda não foi possível sua utilização como fonte de delimitação na classificação de tipos polínicos. Dos sete tipos de ornamentação descritos pelos autores acima, apenas espiculado não foi observado no presente estudo.

Na análise do PCA (figura 1), o eixo 1 e 2 no polo positivo observamos que o caracter mais importante da análise do componente principal foi a ornamentação da sexina. *Dioscorea pedicellata* se distanciou no eixo 1 positivo apresentando ornamentação verrucada e no eixo 2 positivo, se destacou *D. asperula* com ornamentação cristada, se posicionando mais próxima deste caracter.

Nos eixos 1 negativo e 2 positivo, posicionaram as espécies *D. amaranthoides*, *D. trisecta* e *D. composita* que apresentaram como caracteres importantes grãos de pólen de tamanho pequeno, dissulcados e ornamentação da sexina estriada. Essas espécies estão distribuídas no Brasil com exceção de *D. amaranthoides* que possui distribuição na Bolívia. As espécies se posicionaram como irmãs no clado New World I e são sustentadas pela filogenia apresentada por Couto *et al.* (2018).

Em ambos os eixos e polaridades, as espécies *D. deltoidea*, *D. orientalis* e *D. dodecaneura* apresentaram caracteres significativos da análise polínica como: tamanho médio, diâmetro menor e número de aberturas. *D. dodecaneura* se diferenciou apenas quanto o número de abertura que registrou grãos de pólen dissulcados (apenas duas aberturas).

Para o eixo 2 positivo, os caracteres significativos da análise destacamos o diâmetro maior e ornamentação da sexina (rugulada), posicionando as espécies *D. coriacea*, *D. carpomaculata*, *D. sansibarensis*, *D. sylvatica* e *D. hassleriana*, enquanto *D. elephantipes* se distanciou das demais por apresentar o comprimento do sulco (CS) muito longo.

Conforme os eixos 1 e 2 com polaridades distintas, caracteres analisados separadamente como Di, M, Ex, LS e Mono apesar de não apresentarem “coordenadas” com forte sustentação, foi possível observar que ao serem analisados em conjunto, pode-se destacar as espécies *D. gracillima*, *D. tokoro*, *D. spiculiflora*, *D. macrostachya*, *D. cynanchifolia*, *D. floribunda*, *D. bartlettii*, *D. remotifolia*, *D. quinquelobata* e *D. medusae*.

Em ambos os eixos e polaridades distintas, foi possível observar a dispersão das espécies do cluster 2 por demonstrarem características significativas em relação ao tamanho (DM) dos grãos de pólen e ornamentação da sexina. O caracter mais importante da análise do componente principal foi a ornamentação da sexina destacado por *D. asperula* (cristada).

No eixo 1 negativo e eixo 2 positivo e negativo, se posicionaram as espécies do cluster 3. O caracter ornamentação da sexina (perfurada), posicionou todas as espécies no eixo 1 negativo, enquanto o caracter tamanho do grão de pólen distanciou *D. tomentosa*, que apresentou grãos de pólen pequenos e está posicionada no eixo 2 positivo, enquanto *D. polygonoides* apresentou grãos de pólen médios e está posicionada no eixo 2 negativo.

De acordo com as informações remanescentes no gráfico do dendograma (figura 2), foi possível observar que o conjunto de caracteres polínicos influenciaram o agrupamento das espécies como um todo. A análise HCA permitiu a formação de 3 grupos (cluster) entre as espécies, de acordo com a similaridade.

A maioria das espécies do cluster 1 se posicionaram em ambos os eixos e polaridades do PCA. As espécies *D. amazonum*, *D. flabelispina*, *D. fandra* e *D. laxiflora* demonstraram características significativas nos componentes principais da análise: diâmetro maior, diâmetro menor e comprimento do sulco.

No cluster 1 as espécies apresentaram ornamentação da sexina variadas: verrucada, reticulada, birreticulada, rugulada, microrreticulada e estriada (que representou 46% das espécies (17)). Dentre as espécies, se destacaram *D. amaranthoides*, *D. amazonum*, *D. cynanchifolia*, *D. laxiflora* e *D. trisecta*, estão distribuídas no Brasil (com exceção de *D. amaranthoides* que foi encontrada na Bolívia). As mesmas fazem parte do clado New World I, porém se divergem em relação a biogeografia, representando quatro tipos (Amazonia, Diagonal Seca, Floresta Atlântica e Sul dos Andes), Couto *et al.* (2018).

No cluster 2, *D. asperula*, *D. delicata* e *D. pedicellata* estão no mesmo cluster apesar de apresentarem ornamentações diferentes: cristada, vermiculada e rugulada, respectivamente. As espécies acima são representantes encontrados no Brasil. *D. preussi* se posicionou como irmã do clado citado anteriormente, entretanto, está distribuída na África. Em relação a árvore filogenética de Couto *et al.* (2018), *D. asperula* e *D. pseudomacrocapsa* estão posicionadas em New World I, *D. delicata* em New World II e *D. preussi* próxima ao clado Malagasy. *D. hyalinomaginata* se posicionou como irmã do clado onde encontra-se *D. cordata*. As espécies são encontradas em países diferentes (República Dominicana e Cuba/Porto Rico, na devida ordem), porém na América Central. Nossos dados palinológicos corroboram com a filogenia de Couto *et al.* (2018), onde as duas espécies formaram o clado *Rajania* em New World III.

No cluster 3, a maioria das espécies (exceto *D. pentaphylla*, presente no cluster 2) apresentaram similaridade com a ornamentação da sexina perfurada. A maioria das espécies apresentaram grãos de pólen de tamanho pequeno, exceto *D. pallens*, *D. debilis*, *D. cyanistica* e *D. polygonoides*.

## 5. CONCLUSÃO

Conclui-se que as espécies de *Dioscorea* estudadas apresentaram grãos de pólen em mônades, heteropolares, o contorno apresentou na maioria das espécies elíptico, triangular em vista polar (*D. bartlettii* e *D. dumetorum*), circular em vista polar (*D. bemarivensis* e *D. tomentosa*), circular em vista equatorial lateral (*D. gracillima* e *D. quinquelobata*), os tamanhos variaram entre pequeno e médio, o número de aberturas variou em 1-sulcado (*D. gracillima* e *D. tokoro*), 1-2 sulcados e 2- sulcados e encontrados nove tipos de ornamentação da sexina (perfurada, estriada, microrreticulada, rugulada, birreticulada, reticulada, vermiculada, verrucada e cristada), essa última como primeiro registro em *Dioscorea*. O carácter polínico número de abertura pôde diferenciar sete espécies, que apresentaram grãos de pólen monossulcados e dissulcados no mesmo espécime (*D. asperula*, *D. bemarivensis*, *D. deltoidea*, *D. fandra*, *D. orientalis*, *D. quinquelobata* e *D. villosa*). Os grãos de pólen apenas dissulcados representaram 86% das espécies analisadas neste estudo. Foi possível registrar cinco tipos de membrana apertural ornamentada em diferentes espécies (*D. asperula*, *D. bemarivensis*, *D. floribunda*, *D. macrostachya*, *D. medusae*, *D. tokoro*, *D. trisecta*, *D. spiculiflora* e *D. villosa*). A espessura das camadas da exina, apresentou variação na maioria das espécies. Quanto as ornamentações da sexina, destacamos perfurada em 25 espécies e a estriada organizamos em seis subtipos baseados na caracterização e disposições dos cordões das estrias (em uma direção, duas a quatro direções ou mais, estrias interligadas entre elas e dispostas em círculos e polígonos). No Componente de Análise Principal (PCA), o eixo 1 e 2 no polo positivo observamos que o carácter mais importante da análise do componente principal foi a ornamentação da sexina. Com as informações remanescentes no gráfico do dendograma, foi possível observar que o conjunto de caracteres polínicos influenciaram o agrupamento das espécies com a formação de 3 cluster, de acordo com a similaridade. Os resultados aqui observados demonstraram a importância dos caracteres morfológicos (principalmente os nove tipos polínicos aqui registrados), que auxiliou na delimitação de espécies e grupos de espécies, viabilizando dados palinológicos para a classificação sistemática de *Dioscorea* (Dioscoreaceae).

## 6. REFERÊNCIAS

ALZER, F.C. 2017. Palinotaxonomia de representantes de *Dioscorea* subgênero *Helmia* e *D.* subgênero *Dioscorea* (Dioscoreaceae) ocorrentes no neotrópico. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) - Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ.

ALZER, F.C.; COUTO, R.S.; LOPES, R.C.; GONÇALVES-ESTEVEZ, V. & MENDONÇA, C.B.F. 2020. Palynotaxonomy of Neotropical species of *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae). *Palynology*, 45: 73-86.

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

BROWN, R. 1810. *Prodromus Florae Novae Hollandie*. v. 1, London, J. Johnson & co., p. 294-295.

BURKILL, I.H. 1960. The organography and the evolution of Dioscoreaceae, the family of the Yams. *Journal of the Linnean Society of London. Botany*, 56: 319–412.

CACCAVARI, M.A.; NAAB, O.A. & TAMAME, M.A. Palynological and physicochemical characteristics of three unifloral honey types from central Argentina. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6(4): 566-576. 2008.

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

CHU, E.P. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 1991. Native and Exotic Species of *Dioscorea* Used as Food in Brazil. *Economic Botany*, 45(4): 467-479.



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

CORRÊA, A.M.S. 1996. Flora Polínica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil). Família: 196 – Dioscoreaceae. *Hoehnea*, 23(2):103-106.

COUTO, R.S. 2010. Dioscoreaceae (R. Br.) Lindley do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ.

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

COUTO, R.S.; MARTINS, A.C.; BOLSON, M.; LOPES, R.C.; SMIDT, E.C.; BRAGA, J.M.A. 2018. Time calibrated tree of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) indicated four origins of yams in the Neotropics since Eocene. *Botanical Journal the Linnean Society*, 20: 1-17.

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

GAERTNER, J. 1788. *De Fructibus et Seminibus Plantarum, Stutgardiae*, s. ed. v.1, t.14, p. 44.

GOVAERTS, R.; WILKIN, P.; SAUNDERS, R.M.K. 2007. World checklist of Dioscoreales: yams and their allies. Royal Botanic Gardens, Kew. 65pp.

GRISEBACH, A. 1842. Dioscoreaceae. in Martius *et al.*, A. G. (eds.), *Flora brasiliensis*. 3(1): 26-48.

HARLEY, M. M. 2004. Triaperturate pollen in the monocotyledons: configurations and conjectures. Palynology Unit. The Herbarium, Royal Botanic Gardens, Kew, UK. *Plant Systematics and Evolution*,. 247: 75–122.

HESSE, M.; HALBRITTER, H.; ZETTER, R.; WEBER, M.; BUCHNER, R.; FROSCH-RADIVO, A. & ULRICH, F. 2009. Pollen terminology. An illustrated handbook. New York, NY: Springer Wien New York.

HUTCHINSON, J. 1934. The families of flowering plants, II: Monocotyledons. 1st. ed. London, MacMillan.

JUSSIEU, A.L. 1788. Genera Plantarum Secundum Ordines Naturales deposita. Weinheim, J. Cramer. 526p.

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

LINNAEUS, C. 1753. Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas ad genera relatas. Holmiae, Impensis Laurentii Salvii. Tomo 2, p. 1032-1034.

LUZ, C.F.P.; BARBUGLIO-SANTIAGO, L.O.; SIMÕES, A.R.G.; SILVA, J.H.; SANTOS, V.L. & KIRIZAWA, M. 2020. Pollen morphology of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) from the Atlantic Forest in southeast Brazil (São Paulo) with a contribution to the systematics of Neotropical species. Grana, 59:239-257.

MANEENOON, K.; SIRIRUGSA P. & SRIDITH K. 2008. Ethnobotany of *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae), a Major Food Plant of the Sakai Tribe at Banthad Range, Peninsular Thailand. Ethnobotany Research & Applications, 6: 385-394.

MCCUNE, B. & MEFFORD, M. J. 2011. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 6. MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.

MELHEM, T.S.; CORRÊA, A.M.S.; MAKINO-WATANABE, H.; CRUZ-BARROS, M.A.V.; SILVESTRE-CAPELATO, M.S.F. & ESTEVES, V.G. 2003. Variabilidade polínica em plantas de Campos de Jordão (São Paulo, Brasil). São Paulo. Boletim do Instituto de Botânica, 16: 16-104.

MUSTAFA, A.; AHMAD, A.; TANTRAY, A.H.; PARRY, P.A. 2018. Ethnopharmacological Potential and Medicinal Uses of Miracle Herb *Dioscorea* spp. *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*, 4(2): 79-85.

PÉREZ, J.; ALBERT, D.; ROSETE, S.; SOTOLONGO, L.; FERNÁNDEZ, M.; DELPRETE, P.; RAZ, L. 2005. Consideraciones etnobotánicas sobre el género *Dioscorea* (*Dioscoreaceae*) en Cuba. *Ecosistemas*. (URL: [http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=115&Id\\_Categoria=2&tipo=portada](http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=115&Id_Categoria=2&tipo=portada))

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

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

RAZ, L. & PÉREZ-CAMACHO, J. 2017. A new species of *Dioscorea* (*Dioscoreaceae*) from Central Cuba. *Brittonia*, 69(1): 109–113.

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

ROUBIK, W.D. & MORENO P.J. E. 1991. Pollen and Spores of Barro Colorado Island. *Monographs in Systematic Botany*, Missouri Botanical Garden, St. Louis, MO. 131p.

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.

SALISBURY, R.A. 1824. *Testudinaria*. in Burchell, *Trav. S. Africa* 2: 147.

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

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

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

SCHOLS P, FURNESS CA, MERCKX V, WILKIN P, SMETS E. 2005b. Comparative pollen development in Dioscoreales. International Journal of Plant Sciences. 166(6):909–924.

SHEIKH, N. & KUMAR, Y. 2008. Palynological Implication to the Systematic of the Genus *Dioscorea* in Meghalaya, North East India, Internacional Journal of. Pure & Applied Bioscience, 6(1): 94-100.

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

TENORIO, V.; COUTO, R.S.; ALBUQUERQUE, E.S.B.; BRAGA, J.M.A. & VIEIRA, R.C. 2017. Stem anatomy of Neotropic *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae) and its importance to the systematics of the genus. Plant Systematic and Evolution, 303: 775–786.

THIERS, B. 2019. Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium [accessed 2019 Dec 10] <http://sweetgumnybgorg/ih/>.

ULINE, E.H. 1897. Dioscoreaceae. In: Engler, A. & Pratl, K. (eds.). Pflanzenfam., 2(5): 80-87.

ULINE, E.H. 1898. Eine monographie der Dioscoreaceen. Engler's Bot. Jahrb. 25: 126-165.

VIEIRA, S. 2011. Introdução à Bioestatística. 4ª Ed., Elsevier Editora, Rio de Janeiro. 345p.

VIRUEL, J.; SEGARRA-MORAGUES, J. G.; RAZ, L.; FOREST, F.; SANMARTIN, I.; WILKIN, P.; CATALÁN, P. 2016. Late Cretaceous–Early Eocene origin of yams (*Dioscorea*, Dioscoreaceae) in the Laurasian Palaeartic and their subsequent Oligocene–Miocene Diversification. *Journal of Biogeography*, 43: 750-762.

VIRUEL, J.; FOREST, F.; PAUN, O.; CHASE, M.W.; DEVEY, D.; COUTO, R.S.; SEGARRA-MORAGUES, J.G.; CATALÁN, P.; WILKIN, P. 2018. A nuclear *Xdh* phylogenetic analysis of yams (*Dioscorea*: Dioscoreaceae) congruent with plastid trees reveals a new neotropical lineage. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 20: 1-15.

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

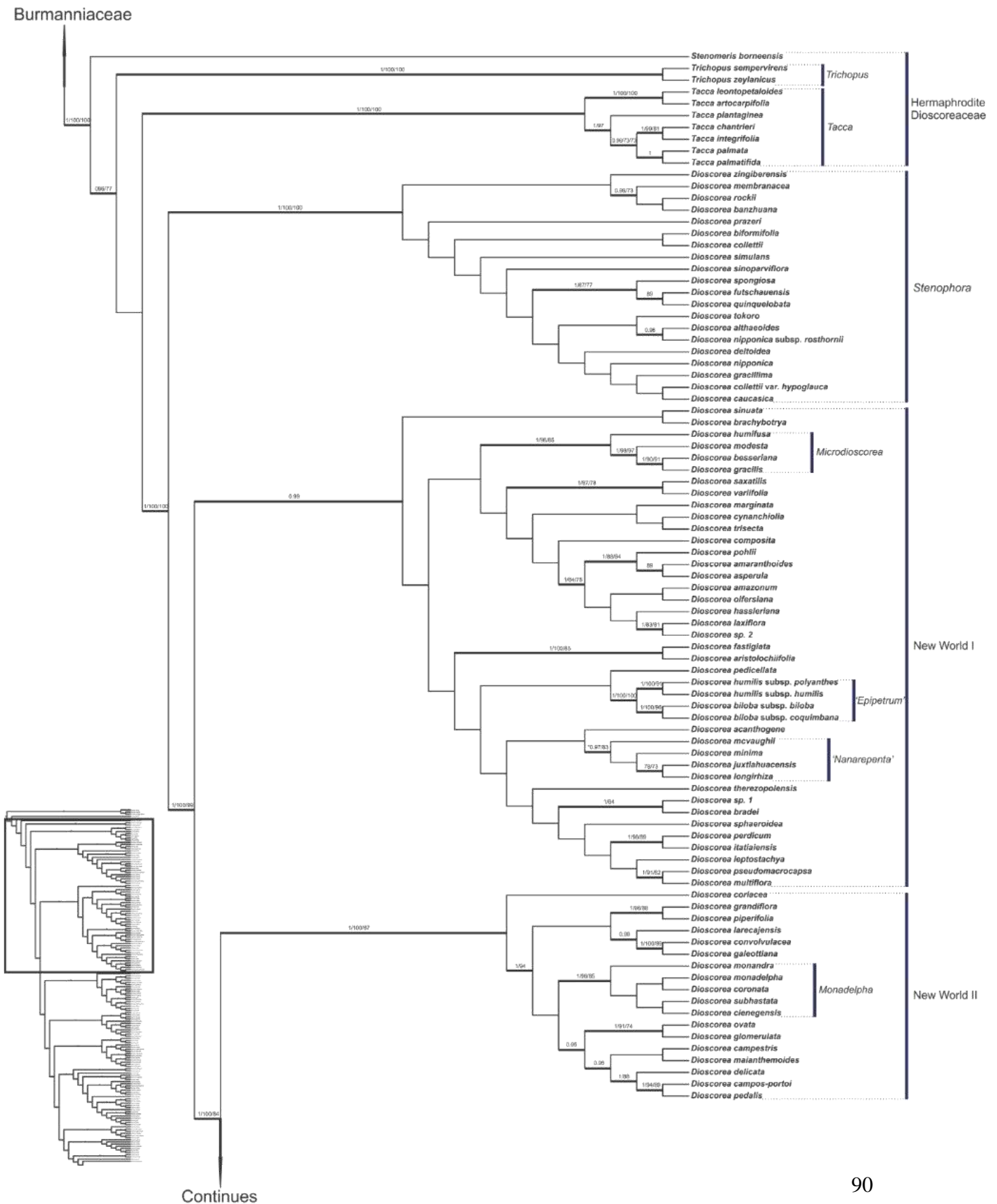
WILKIN, P.; SCHOLS, P.; CHASE, M.W.; CHAYAMARIT, K.; FURNESS, C.A.; HUYSMANS, S.; RAKOTONASOLO, F.; SMETS, E.; THAPYAI, C. 2005. A plastid gene phylogeny of the yam genus, *Dioscorea*: Roots, fruits and Madagascar. *Systematic Botany*, 30: 736-749.

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

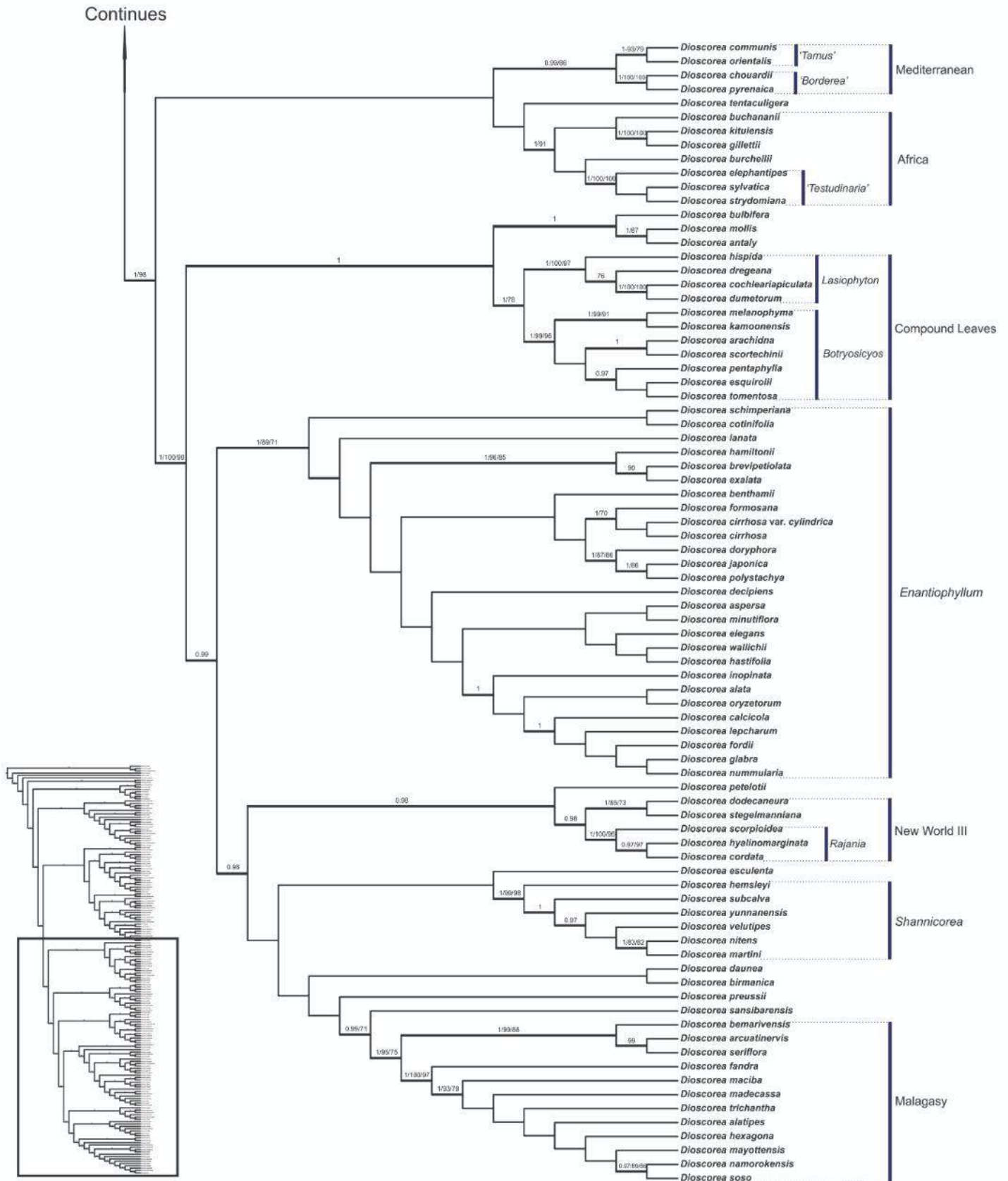
XIFREDA, C.C. 2000. Evaluation of pollen and vegetative characters in the systematics of South American species of *Dioscorea* (Dioscoreaceae). In: Wilson KL, Morrison DA, editors. *Monocots: Systematics and Evolution*. p. 488–496.

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

ANEXO 1: Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 1/2)



ANEXO 1: Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 2/2)





ANEXO 2: Material examinado.

1. *Dioscorea alata* L. - Tobago. West Indies. Botanic Station. Cultivated. 10-III-1909, *W.E. Broadway*, 3149 (S17-42239).
2. *Dioscorea amaranthoides* C. Presl – Brazil. Mato Grosso: Loc: Juruena. [lat: -10.3180999755859 long: -58.3588981628418: ±65163 WGS84]. VI/1909, *Hoehne, F.C.* (R 53041).
3. *Dioscorea amazonum* Griseb. – Brasil. Pará: Oriximiná. Igarapé próximo a cachoeira do "Benjamim". 27-X-2007. *R.S. Couto*, 63 (RB00613132).
4. *Dioscorea asperula* Pedralli – Brasil. Minas Gerais: Nova Ponte. 03-V-1988. *Pedralli, G*, 1436 (ICN00000188).
5. *Dioscorea baracoensis* (R. Knuth) Raz – Cuba. Guantánamo. Oriente: Bayate in Monte Oscuro. Scandens. 10-I-1916, *E. L. Ekman* 6707 (S17-42241).
6. *Dioscorea bartlettii* C.V. Morton – México. Chiapas. No date. V-2002. *Álvarez, D*, 959 (MBM302506).
7. *Dioscorea basiclavicaulis* Rizzini & A. Mattos – Brasil. Espírito Santo: Água Doce do Norte. Margem do Córrego Rio Preto, costa da Bela Vista. Propriedade Laura Bernardino. Moita sobre afloramento rochoso. 17-XI-2018. *F.R.M. Fraga*, 231 (RB01401566).
8. *Dioscorea bemarivensis* Jum. & H. Perrier – Madagascar. Toliara. Manasoa: Mahafaly. 29-I-1913, *Karl Afzelius*, s/n (S17-42247).
9. *Dioscorea birmanica* Prain & Burkill – Myanmar. Birma: Rangum. V-1911, *A. Meebold*, 15630 (S17-42298).
10. *Dioscorea brachybotrya* Poepp. - Chile. Juan Fernandez Islands. Valdivia. Payahuinte: Los Lagos. 160m. XII-1924, *P. Ath.*, 356 (S17-42314).

11. *Dioscorea bradei* R. Knuth. - Brasil. Rio de Janeiro: Serra do Itatiaia. V-1926, Sampaio, A.J. (R 50932).

12. *Dioscorea buchananii* Benth. - Mozambique. Zambézia. Quelimane: District. Namagoa. 22-IV-1949, H. Faulkner, K. 295 (S17-42336).

13. *Dioscorea campanulata* Uline ex R. Knuth – Brasil. Rio de Janeiro: São Fidélis. Serra Pedra do Marial. Área de afloramentos rochosos ao chegar na parte alta da montanha. Local mais preservado em relação ao resto, que se encontra bem devastado pela passagem de fogo. Parque Estadual do Desengano. 27-I-2016. C. Baez, 447 b (RB01084907).

14. *Dioscorea carionis* Prain & Burkiel – México. S. Martin Zaratepequez. II-1878. Bernoulli, 848 (K000099004).

15. *Dioscorea carpomaculata* Téllez & Schubert – México. 25-X-1985. Martínez, E S, 14335 (MBM208380).

16. *Dioscorea cienegensis* R. Knuth – Brasil. Paraná, Foz do Iguaçu. Parque Nacional do Iguaçu, Trilha das Cataratas. 13-X-2011. P.L.R. de Moraes, 8750 (MBML048108).

17. *Dioscorea cinnamomifolia* Hook. – Brasil. Espírito Santo: Castelo. Topo do Forninho. Inselbergues. Parque Estadual do Forno Grande. 21-I-2009. C.N. Fraga, 2378 (RB00549214).

18. *Dioscorea cochleariapiculata* De Wild. – Zambia. Tanganyika. Msipa: Dist. 15 mls from N Rhodesian border. 1050m. 15-X-1962, H. M. Richards, 16840 (S17-42482).

19. *Dioscorea colletii* Hook. f. - Taiwan. Haulien Hsien, Hsiulin Hsiang, Taroko National Park, at road mileage sign 151 km along Provincial Highway #8. 24° 12' 44" N / 121° 25' 25" E 1200m. 15-VI-1999, Ching-I Peng with A. Anderberg, 17291 (S17-42486).

20. *Dioscorea communis* (L.) Caddick & Wilkin – Switzerland. Bern. Schweiz: Spiez. 20-VI-1894, *Hj. & A. Hafström* (S15-2072).
21. *Dioscorea composita* Hemsl. – Honduras. Departament Choluteca: Thickets of Cedeños beach, Fonseca gulf. Vine on *Jatropha curcas*. 11-X1970, *Antonio Molina R. & Albertina R. Molina*, 25874 (S17-42370).
22. *Dioscorea cordata* (L.) Raz – Haiti. Hispaniola. Civ. Haiti: Massif de la Hotte, group. Morne Rochelois, Miragoane, Limestone crag at Quate. 1000m. 17-VII-1927, *E. L. Ekman*, 8600 (S17-42389).
23. *Dioscorea coriacea* Humb. & Bonpl. ex Willd. – Columbia. Huila: La Plata, In silva primaeva. Scandens. 2600m. 21-III-1939, *Kjell von Sneidern*, 2050 (S17-42399).
24. *Dioscorea cotinifolia* Kunth - South Africa. Mpumalanga. Komatie Poort: Barberton, Transvaal. 3100m. *F. A. Rogers*, *M+R 543* (S17-42562).
25. *Dioscorea cyanisticta* Donh. Sm. – México. Chiapas. Mpio. Unión Juárez. En Chiquihuite. 29-IV-1987. *E. Martínez S.*, 20534 (RB00489214).
26. *Dioscorea cynanchifolia* Griseb. – Brasil. Rio de Janeiro: Rio de Janeiro. Trilha Paineiras - Mirante da Freira. Parque Nacional da Tijuca. 17-IV-2017. *R.G. Barbosa-Silva*, 750 (RB01320132).
27. *Dioscorea debilis* Uline ex. R. Knuth – Brazil. Minas Gerais, Santana do Riacho. Serra do Cipó. Rodovia Belo Horizonte - Conceição do Mato Dentro, ca. 18 km após Chapéu de Sol. Fazenda Cachoeira da Capivara. 10-III-1995. *V.C. Souza et. al.*, 8218 (MBM311547).
28. *Dioscorea delicata* R. Knuth – Brasil. Santa Catarina, Joinville. Serra Dona Francisca, Trilha do Castelo dos Bugres, descendo o rio. 30-X-2017. *Schwirkowski, P.*, 2531 (MBM427756).

29. *Dioscorea deltoidea* Wall. ex Griseb. – Pakistan. Kashmir. Hazara. Kaghan: Naran. 2500m. 1999-06-27, *E. Emanuelsson*, 2702 (S13-11200).
30. *Dioscorea densiflora* Hemsl. - Guatemala. Department of Peten: on old Santa Ana Trail, about 6.5 km S.E.E. of Santa Elena, In high forest. 1961-03-23, *Elias Contreras*, 2023 (S17-20435)
31. *Dioscorea dodecaneura* Vell. – Brasil, São Paulo, Pindorama. 15-IV-1994. *V.C. Souza et al.*, 5721 (ESA015519).
32. *Dioscorea dregeana* (Kunth) T. Durand & Schinz - South Africa. Eastern Cape: South side of Umtamvuma forest, 2 km up stream from alp Pont Holiday resort, opposite Leopard Beach. 2003-08-19, *Robert Brand & T. Abbatt*, 621 (S17-42586).
33. *Dioscorea dumetorum* (Kunth) Pax – Congo Brazzaville. Belge: Matadi. 1933, *Dacremont*, 417 (S17-42597).
34. *Dioscorea elephantipes* (L' Hér.) Engl. – South Africa. Eastern Cape. Uitenhaag: Zwischen Karrogebüsch am Zondagrivier, unter 1000. *Ecklon & Zeyher* (S17-42601).
35. *Dioscorea fandra* H. Perrier – Madagascar. Toliara: Manasoa Tanosy. 11-I-1913, *Karl Afzelius* (S17-42616).
36. *Dioscorea flabelispina* Couto et al. – Brasil. Serra Pedra do Marial. Área de afloramentos rochosos ao chegar na parte alta da montanha. Parque Estadual do Desengano. 27-I-2016. *R.S. Couto*, 235.
37. *Dioscorea floribunda* M. Martens & Galeotti – México. No data. 22-X-1984. *E.S. Martínez*, 8595B (MBM208376).

38. *Dioscorea fordii* Prain & Burkill – China. Hainan: Chim Fung Ling near Sam Mo Watt village (Kan-en District). 14-IV-1934, *Lau, S. K.*, 3768 (S17-42625).
39. *Dioscorea glabra* Roxb. – Vietnam. Ho Chi Minh: Hab. Cochinchina. *L. Pierre* (S17-42647)
40. *Dioscorea gracillima* Miq. – Japan. Yamanashi. Honshu: Yamanaka Lake in Kai. 05-VII-1954, *M. Togasi*, 1060 (S17-42664).
41. *Dioscorea hamiltonii* Hook. f. – Myanmar. Tenasserim and Andamans. 1862 – 1863, *Helper*, 5553 (S17-42677).
42. *Dioscorea hassleriana* Chodat – Brasil. Mato Grosso: Corumbá. II-1911. *F. C. Hoehne*, 3775 (R53043).
43. *Dioscorea hastifolia* Nees – Australia. Western Australia. Australiae occidentalis. District Swan: in silvis subumbrosis montium Darling Range. 1901-05, *E. Pritzel*, 303 (S17-42685).
44. *Dioscorea hispida* Dennst. – India. Jammu and Kashmir. West Bengal. Nymensingh-Kangsa. 1946-04-23, *Dr. S. K. Mukerjee*, 1608 (S17-42700).
45. *Dioscorea hyalinomarginata* Raz – Haiti. Hispaniola: Montagnes du From d'Eau, edge of Riviere Grande Aochue In thickets. 27-X-1924, *E. L. Ekman*, 2287 (S17-42772).
46. *Dioscorea japonica* Thunb. - Japan. Honshu: Yamamoto in Settsu. 06-VII-1954, *M. Togasi*, 1098 (S17-42780).
47. *Dioscorea kamoonsensis* Kunth - E. Tibet and S. W. China. South end of the Sengyeh valley. 6000m. 1912-08, *G. Forest*, 8865 (S17-42792).
48. *Dioscorea laxiflora* Mart. ex Griseb. – Brasil. Rio Grande do Sul: Osório. Morro Alto. 07-VI-1985. *J.L. Waechter*, 2124 (ICN00029027).

49. *Dioscorea leptostachya* Gardner – Brasil. Rio de Janeiro: Lagoa Rodrigues de Freitas. Carl August Wilhelm Schwacke, C. A. W., 1887 (R50894).
50. *Dioscorea macrostachya* Benth. – Brasil. Amazonas. Rio Negro. Próximo ao aeroporto de S. Gabriel. 17-III-1975. Pires, JM, 146799 (IAN146799).
51. *Dioscorea medusae* F.Fraga, R.Couto & J.M.A.Braga - Brasil. Espírito Santo: Município de Águia Branca, Comunidade São Pedro, Pedra da Bandeira. Propriedade do Sr. João Ferreira, 800 m. 18.9846114°S, 40.659528°W. 4-XII-2017. F.R.M. Fraga & R.S. Couto, 163 (RB01387961).
52. *Dioscorea nipponica* Makino - Japan. Nagano. Honshu: Nobeyama in Shinano. 1955-08-13, M. Togasi, 1214 (S17-42822).
53. *Dioscorea nummularia* Lam. - Pacific Islands. Fiji. Viti Levu: Tailevu: Hills east of Wainimbuka River, in vicinity of Nadkuivuna In thickets along road. 100-200m. 1953-04-14 – 1953-04-26, A. C. Smith, 7001 (S17-42845).
54. *Dioscorea orientalis* (J. Thiébaud) Caddick & Wilkin – Lebanon. Liban Littoral: raus mue gorge, prés de Djebail. I-1934, J. Thiébaud (S17-42852).
55. *Dioscorea pallens* Schlecht - México. No data. 21-XI-1987. Villalobos, GC, 228 (MBM241218).
56. *Dioscorea pedicellata* Phil. – Chile. Juan Fernandez Islands. Bío-Bío: Talcuhan. VI-1856, W. H. Harvey (S17-42864).
57. *Dioscorea pentaphylla* L. - Sri Lanka. Kandy. Flora of Ceylon. District: Kadugannawa. 7° 15' N / 80° 31' E. 11-XI-1979, Fagerlind & Klackenberg, 294 (S09-27854).

58. *Dioscorea polygonoides* Humb. & Bonpl. ex Willd. – Ecuador. Esmeraldas 15' al sur Bosque transicional seco-húmedo tropical. 0° 53' N / 79° 40' W. 80m. 1994-05-23, X. Cornejo & C. Bonifaz, 2660 (S10-7747).
59. *Dioscorea polystachya* Turcz. - Japan. Gifu. Foot of Kiso-ontake, Masuda-dun, Hida, Hondo. 18-VII-1954, M. Mizushima, 13408 (S17-42905).
60. *Dioscorea preussii* Pax – Tanzania. Ostafrika. (Tanganjika Terr.) Bezirk Lindi: 100 km. NW Lindi. 200m. 21-II-1935, H. J. Schlieben, 6044 (S17-42941).
61. *Dioscorea pseudomacrocapsa* G.M. Barroso et al. – Brasil. Rio de Janeiro: Maricá. Itaipuaçu, acesso pela Estrada de Itaipuaçu e pela Rua Cinco Monumento Natural Municipal da Pedra de Itaocaia. 17-IV-2014. D.N.S. Machado, 753 (RB01121295).
62. *Dioscorea quinquelobata* Thunb. – Japan. Kagoshima. Loc. Kyushu: Kagoshima Pref., Tarumizu-shi, Takakuma, the Experimental Forest of Kagoshima University, in the east of Sakurajima Volcano. Climbing on a bamboo shoot at sunny place by forestry road. 500m. 24-II-2010, Fumihiko Kenta & Hideaki Noguchi, 35754 (S12-24153).
63. *Dioscorea remotiflora* Kunth – México. No data. 05-X-1988. A. Campos V., 2570 (MBM177808).
64. *Dioscorea sansibarensis* Pax – Tanzania. Tanganyika: Pangani Distr. Bushivi Estate. 24-V-1950, H. G. Faulkner, K. 580 (S17-42951).
65. *Dioscorea schimperiana* Hochst. ex Kunth – Tanzania. Africa Oriental. Nyassa Hochland - Station Kyimbila. 1300m. 1913, A. Stolz, 1961 (S17-42960).
66. *Dioscorea spiculiflora* Hemsl. - México. Carretera Xalapa - Veracruz desviacion para los Banos de Carrizal. Mun. de Emiliano Zapata. 08-X-1975. J. I. Calzada, 2046 (RB00490033).

67. *Dioscorea sylvatica* Eckl.-South Africa. Orange Free State: Dist. Harrismith Besters ulei. XII-1893, *H. G. Flanagan, 2001* (S17-42967).
68. *Dioscorea trisecta* Griseb. – Brazil. Minas Gerais. *Widgren, J.F. 1845* (R 50876).
69. *Dioscorea tokoro* Makino ex Miyabe – Japan. Nippon: prov. Schimotsuk in radicibus montis Nahtai-San. In ripa lacus Chutzenji 14 km procula Nikko. 14-VII-1913, *S. J. Enander* (S17-42969).
70. *Dioscorea tomentosa* J. König ex Spreng. – Sri Lanka. Matale. Flora of Ceylon. District: Dambulla. 27-XI-1973, *F. Fagerlind, 1169* (S11-30642).
71. *Dioscorea villosa* L. - United States. Hawaii. Illinois: Peoria County. Peoria Heights. Open woods. 30-VI-1958, *Virginus H. Chase, 15310* (S17-42970).
72. *Dioscorea sp nova 1* – Brasil. Espírito Santo. *F.R.M. Fraga, 164*.
73. *Dioscorea sp nova 2* – Brasil. Espírito Santo: Colatina, alto Moacir, Pedra do Cruzeiro, propr.: Landislau. 19 20 53 S, 40 33 3 W, 150.0-850.0 m. 17/04/2006, *Magnago, L.F.S.; Demuner, V.; Cruz e Elias Bausen, T., 769* (K001171695).



**Capítulo 2:**  
**Morfologia polínica de linhagens de *Dioscorea* anãs**

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo descrever palinomorfológicamente 10 espécies representantes de *Dioscorea* das linhagens anãs, contribuindo para o conhecimento palinológico de Dioscoreaceae, pesquisando a possibilidade da utilização dos achados morfopolínicos como um elemento a ser incluído no critério da classificação sistemática atualmente aceita. Os grãos de pólen foram tratados por acetólise láctica, medidos, descritos, fotomicrografados e submetido à análise estatística. Utilizamos a análise de componentes principais (PCA) para verificar se os atributos polínicos permitem o agrupamento das espécies e a análise hierárquica de agrupamento (HCA) para classificar as espécies analisadas, conforme a similaridade das variáveis polínicas. Os grãos de pólen não acetolisados foram depositados em suportes recobertos por fita de carbono para análise em microscopia eletrônica de varredura. Nossos resultados mostraram que os grãos de pólen dos táxons de *Dioscorea* das linhagens anãs apresentam heterogeneidade entre eles. Os grãos de pólen foram classificados pelo contorno elíptico em vista polar na maioria das espécies, exceto em *D. saxatilis* (circular) e *D. multinervis* (triangular). O tamanho variou entre pequeno a médio, conforme indicado pelo comprimento do diâmetro maior (DM), dissulcados na maioria das espécies e 1-2 sulcos no mesmo espécime em *D. humifusa*, *D. obtusifolia*, *D. pyrenaica* e *D. saxatilis*. O padrão da ornamentação da sexina foi registrado em cinco tipos: estriado, microrreticulado-perfurada, reticulado, rugulado e gemado. Esses resultados micromorfológicos foram de grande importância na delimitação das espécies.

Palavras-Chaves: análise multivariada, dioscoreaceae, morfopolínicas, palinologia.

## ABSTRACT

The present study aimed to describe palynomorphologically 10 representative species of *Dioscorea* from the dwarf lineages, contributing to the palynological knowledge of Dioscoreaceae, investigating the possibility of using the morphopollinic findings as an element to be included in the criteria of the currently accepted systematic classification. Pollen grains were treated by lactic acetolysis, measured, described, photomicrographed and subjected to statistical analysis. We used principal component analysis (PCA) to verify if the pollen attributes allow the grouping of the species and hierarchical cluster analysis (HCA) to classify the analyzed species according to the similarity of the pollen variables. The non-acetolysed pollen grains were deposited on carbon tape for scanning electron microscopy analysis. Our results suggested that the pollen grains of *Dioscorea* taxa of dwarf lineages show heterogeneity among them. Pollen grains were classified by elliptical contour in most species, except in polar view in *D. saxatilis* (circulate) and *D. multinervis* (triangulate). Size ranged from small to medium as indicated by the length of the largest diameter (MD), disulcated in most species and 1 (2-) grooves in the same specimen in *D. humifusa*, *D. obtusifolia*, *D. pyrenaica* and *D. saxatilis*. The pattern of sexine ornamentation was recorded in five types: striate, microreticulate-perforate, reticulate, rugulate, and gemmate.

These micromorphological results of pollen characters were of great importance in species delimitation.

Keywords: *Dioscorea*, dwarf lineages, multivariate analysis, palynology.

## 1. INTRODUÇÃO

Dioscoreaceae apresenta como sinapomorfias os órgãos subterrâneos tuberosos, pulvinos em ambas as extremidades do pecíolo, inflorescências axilares, sementes aladas, floema interno ao metaxilema no caule entre outras (Stevens, 2017). *Dioscorea* L. (633 spp. ca. 95% das spp. de Dioscoreaceae) representa grande parte da diversidade morfológica, química e genética da família (Govaerts *et al.* 2007) sendo possível encontrar suas espécies em grande parte das regiões do mundo.

Burkil (1960), observou que espécies com hábito não trepador, foram encontradas em ambiente desfavorável à família. Localizadas em sua grande maioria em locais abertos, desprovidos de árvores para se escorarem, alta ocorrência de luz solar, ventos, pouca água e vivendo entre rochas. O autor relata que estas espécies desenvolveram características adaptáveis a sua sobrevivência e essa disputa por um habitat favorável, uma possível evidência ao processo de adaptação do seu tamanho reduzido.

De acordo com Burkill (1960), a regra para a família Dioscoreaceae é o hábito trepador, mas também volúvel, ocorrendo em algumas espécies consideradas “não trepadoras”, associadas a certa limitação no crescimento sem perder sua volubilidade. Em relação às espécies “não-trepadoras”, elas crescem eretas aproximadamente um metro de altura e depois apresentam volubilidade no seu caule (exemplo: *D. multiflora* Mart. ex Griseb., *D. olfersiana* Klotzsch ex Griseb. e *D. pseudomacrocapsa* Barroso *et al.*).

Em relação a agricultura e comercialização das espécies de *Dioscorea*, é possível considerar o nanismo em Dioscoreaceae uma importante característica para o cultivo, já que as espécies que apresentam o nanismo possuem atributos específicos de grande importância em relação à adaptação a ambientes campestres, de altitude sem precisar de árvores para se desenvolver.

O nanismo é considerado um processo evolutivo dentro da diversidade de Dioscoreaceae. Um importante caracter de adaptação desses táxons anões pode estar relacionado a sobrevivência e crescimento em ambientes incomuns à família. Em relação à origem das *Dioscorea* anãs, Burkill (1960) propôs que sua ocorrência em diferentes continentes e a existência em vários grupos infragenéricos é uma indicação que seu surgimento aconteceu de forma paralela e não como um grupo único.

Após apresentar uma filogenia com dados moleculares, onde aparecem 11 clados formados por espécies anãs, Viruel *et al.* (2016) e Couto *et al.* (2018) deixam evidente que estas espécies “não-trepadeiras” advêm de linhagens distintas.

As linhagens anãs não foram solucionadas definitivamente em Viruel *et al.* (2016) e Couto *et al.* (2018), tendo em vista que estes trabalhos não tiveram foco específico para esse assunto. A utilização de marcadores de plastídeos (matK, rbcL, psbA e trnL–F), não possibilita a resolução necessária para esse tipo de análise, além dos estudos estarem subamostrados no que tange às espécies anãs. As filogenias, porém, demonstram que os táxons representantes do nanismo surgiram em diversos momentos evolutivos em *Dioscorea*.

Estudos palinológicos realizados em Dioscoreaceae, foram encontrados nos trabalhos de Erdtman (1952), Su (1987), Caddick *et al.* (1998), Xifreda (2000), Schols *et al.* (2001), Schols *et al.* (2005), Viruel *et al.* (2010), Wilkin *et al.* (2009), Couto (2015), Luz *et al.* (2020) e Alzer *et al.* (2017, 2020), onde ressaltam a importância filogenética e taxonômica dos seguintes caracteres: tamanho, número de abertura, ornamentação da exina e presença ou não de orbículos.

Viruel *et al.* (2010), realizaram uma análise da sistemática de *Epipetrum* Phil., grupo de *Dioscorea* anã com táxons endêmicos do Chile: *D. biloba* (Phil.) Caddick & Wilkin, *D. humilis* Colla e *D. polyanthes* (Phil.) Caddick & Wilkin. Os autores analisaram caracteres taxonômicos e palinológicos, que revelaram diferenças entre as populações.

Couto *et al.* (2014) mostraram que espécies pertencentes ao clado NWII (Couto *et al.* (2018) como *Dioscorea campestris* Griseb. e *Dioscorea pedalis* (Uline ex R. Knuth) R. Couto & J. M. A. Braga (*Dioscorea* anã), foram separadas com base na palinologia e morfologia.

Recentemente, Alzer (2017) e Alzer *et al.* (2020) apresentaram a palinologia de espécies de *Dioscorea*, representantes dos clados NWI, NWII e NWIII NWII (Couto *et al.* (2018), com os caracteres polínicos como tamanho, número de abertura e ornamentação da sexina. Foi possível observar que os atributos polínicos utilizados corroboram para a importância taxonômica nos clados com as linhagens de *Dioscorea*.

Em relação aos conhecimentos dos aspectos específicos do nanismo em *Dioscorea*, são praticamente inexistentes. A amostragem dos táxons das 11 linhagens anãs é muito reduzida dificultando o desenvolvimento de pesquisas relacionadas à diversidade morfológica e ao processo evolutivo do nanismo. O presente estudo tem

como objetivo caracterizar e aprimorar o conhecimento palinológico acerca das linhagens de espécies anãs, buscando a variabilidade dos caracteres morfológicos que diferencie espécies e ajudem a resolver a distribuição entre as linhagens anãs e a evolução do nanismo. Pretende-se ainda, identificar sinapomorfias nas diferentes linhagens anãs.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas 10 espécies representantes de *Dioscorea* das 11 linhagens distintas (Couto *et al.* 2018), que se encontram conforme o quadro 1.

<b>Quadro 1:</b> Associação dos representantes de <i>Dioscorea</i> das 11 linhagens distintas			
Espécies	Clado	Linhagens Anãs (*)	Distribuição
<i>D. besseriana</i> Kunth	NW I	1	Chile
<i>D. humifusa</i> Poepp.	NW I	1	Chile
<i>D. maianthemoides</i> Uline ex R.Knuth	NW II	7	Brasil
<i>D. minima</i> C.B. Rob. & Seaton	NW I	5	México
<i>D. multinervis</i> Benth.	-	5	México
<i>D. obtusifolia</i> Hook. & Arn.	-	1	Chile
<i>D. pedalis</i> (R. Knuth) R.S.Couto et J.M.A.Braga	NW II	8	Brasil
<i>D. pyrenaica</i> Bubani & Bordère ex Gren.	EU	9	Mediterrâneo
<i>D. saxatilis</i> Poepp.	NW I	2	Chile
<i>D. sphaeroidea</i> R.S.Couto & J.M.A.Braga	NW I	6	Brasil

(\*) A numeração utilizada para as linhagens anãs é uma nomenclatura informal, para facilitar o entendimento do leitor.

Buscou-se contemplar um conjunto de espécies representantes das 11 linhagens existente, que abrangem uma grande diversidade morfológica e o habitat onde os táxons ocupam. (Anexos 1 e 2).

## **2.1. Análise Polínica**

O material polínico foi obtido a partir de anteras férteis de flores em antese e/ou botões em pré-antese, provenientes de exsicatas depositadas nos herbários:

ESA: Herbário da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo

K: Herbarium Royal Botanic Gardens Kew London, UK

R: Herbário do Museu Nacional, da Universidade Federal do Rio de Janeiro

RB: Instituto de Pesquisa do Jardim Botânico do Rio de Janeiro

RFA: Herbário da Universidade Federal do Rio De Janeiro

S: Naturhistoriska Riksmuseet, Stockholm, SE

As siglas de acordo com o Index Herbariorum (Thiers *continuous up date*). Priorizaram-se materiais identificados por especialista da família, evitando erros durante as análises palinológicas. O material utilizado no presente estudo foi listado em ordem alfabética de espécie, seguido das principais informações de coleta (Anexo 1).

As lâminas utilizadas no estudo foram depositadas na Palinoteca do Laboratório de Palinologia Álvaro Xavier Moreira, do Departamento de Botânica do Museu Nacional/UFRJ.

## **2.2. *Microscopia de luz***

Para a realização do estudo em microscopia de luz, o material foi processado segundo o método da acetólise láctica 60%, estabelecida por Raynal & Raynal (1971), pelo fato de os grãos de pólen se mostrarem pouco resistentes à acetólise tradicional. As anteras foram colocadas sobre uma lâmina histológica utilizando-se estiletes devidamente flambados e, com auxílio de um bastão de vidro, as mesmas foram maceradas com o intuito de liberar os grãos de pólen. Posteriormente, por meio de uma pipeta, os grãos de pólen receberam de uma a duas gotas da mistura acetolítica, que consiste na combinação de ácido sulfúrico (1,0mL), ácido láctico (6,0mL) e anidrido acético (3,0mL). Após receber a mistura acetolítica, o material foi colocado imediatamente sobre uma placa aquecedora por ca. 30 segundos, para que todo o conteúdo citoplasmático fosse destruído. Quando os grãos de pólen encontravam-se sem conteúdo, todo o processo foi interrompido com uma gota de água morna e uma gota de álcool. Para a montagem das lâminas foi utilizada gelatina glicerinada preparada segundo Kissler (1935 apud Erdtman 1952) e cortada em pequenos cubos. Com o auxílio de um estilete, previamente flambado, e devidamente resfriado, os cubos de gelatina entraram em contato com o sedimento polínico e por meio de movimentos giratórios, os grãos de pólen aderiram-se a eles. Distribuíram-se os cubos num mínimo de três lâminas histológicas, previamente limpas, que levadas à placa aquecedora para que a gelatina derretesse. Homogeneizou-se o material com o auxílio de um estilete. Colocou-se então, uma lamínula sobre a gelatina glicerinada e lutou-se o conjunto com parafina. São colocadas esferas de massa de modelar (ca. 1 mm de diam.) entre a lâmina e a lamínula para evitar o amassamento dos grãos de pólen (Reitsma 1969). As lâminas então foram identificadas com o número de registro do herbário de origem do material em questão. As fotomicrografias dos grãos de pólen em microscopia de luz foram realizadas com auxílio de câmera digital Cânon Power Shot G6 acoplada ao microscópio Zeiss Axiostar Plus, na objetiva 100X.

## **2.3. *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



estiletos previamente esterelizados, maceradas e os grãos de pólen, não acetolisados, pulverizados sobre suportes de alumínio devidamente numerados e recobertos por fita de carbono (Melhem *et al.* 2003). O conjunto foi transferido para uma bomba a vácuo e metalizado com uma camada de ouro puro por ca. três minutos, sendo posteriormente, em aparelho MEV Inspect S 50, marca FEI, localizado no CENANO: Centro de Caracterização em Nanotecnologia em Catálise e Materiais. As eletromicrografias de cada espécie foram organizadas em pranchas elaboradas no programa CorelDraw 12.

#### **2.4. Medidas**

Do material padrão foram mensurados os grãos do pólen em vista polar, vista equatorial e vista equatorial lateral tomados aleatoriamente, em pelo menos três lâminas a fim de homogeneizar a amostra (Salgado-Labouriau 1973). Foram feitas 25 medidas, em microscópio binocular com uma ocular micrométrica, dos diâmetros maior (DM) e menor (Dm) quando em vista polar, dez medidas dos diâmetros polar (DP) e equatorial (DE), quando em vista equatorial; dez medidas dos diâmetros maior (DM) e menor (Dm), quando em vista equatorial lateral; dez medidas das camadas da exina (sexina e nexina), dez medidas da abertura (comprimento, largura, entre aberturas e margem (quando visível)). Os grãos de pólen se posicionam na lâmina preferencialmente, em vista polar, tornou-se difícil a obtenção de grãos de pólen em vista equatorial e vista equatorial lateral. Para as mensurações das comparações, foram medidos dez grãos de pólen em vista polar. 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 (Salgado-Labouriau 1973, Wanderley & Melhem 1991). 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.

## **2.5. Análise Estatística**

Para os resultados das amostras com 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 e da análise morfológica foram apresentados em forma de tabelas.

## **2.6. Terminologia**

A terminologia adotada para descrição dos grãos de pólen foi de Punt *et al.* (2007) e Hesse *et al.* (2009) levando-se em consideração o tamanho, o contorno e o padrão de ornamentação da sexina. Para a classificação dos grãos de pólen quanto ao tamanho foram utilizados os seguintes parâmetros propostos por Erdtman (1952), a saber: pequeno (10-25  $\mu\text{m}$ ) e médio (25-50  $\mu\text{m}$ ). De acordo com Alzer *et al.* (2020), os sulcos foram considerados longos (15,0-20,0  $\mu\text{m}$ ), muito longos (20,1-26,1  $\mu\text{m}$ ) ou extra longos (34,7  $\mu\text{m}$ ), determinados pela autora uma vez que não havia na literatura classificação quanto ao tamanho dos sulcos em *Dioscorea*, o que determina de forma mais precisa a área polínica.

## **2.7. Análise Multivariada**

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

As variáveis incluídas nas análises multivariadas foram: Diâmetro Maior - DM, Diâmetro menor - Dm, Sulco, Comprimento do Sulco - CS, Largura do Sulco - LS, Margem - M, Ornamentação - Orn, com suas respectivas numerações.

Os dados categóricos foram expressos na matriz, levando em consideração a seguinte categoria:

Ornamentação: (0) estriada, (1) microrreticulada, (2) reticulada, (3) rugulada e (4) gemada.

A matriz utilizada para a análise multivariada (PCA e Cluster) foi transformada pela raiz quadrada de potência 0.5 a fim de padronizar os dados mensuráveis. Para a ordenação das variáveis realizou-se a análise de componente principal (PCA) para verificar se os atributos polínicos permitem o agrupamento das espécies. A matriz de variância e covariância (var-cov) foi obtida a partir da média dos dados morfométricos na análise palinológica, ordenadas em um gráfico biplot com base na distância euclidiana. Os resultados foram mostrados em um gráfico bidimensional com o primeiro e segundo componente principal. Os valores dos vetores em cada eixo e o total da variância acumulativa foram representados em tabelas, assim como a matriz de caracteres para análise de agrupamento.

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

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Tamanho

O tamanho dos grãos de pólen variou de pequeno a médio. Das espécies analisadas três apresentou grãos de pólen pequenos (*D. humifusa*; *D. maianthemoides* e *D. obtusifolia*) e a maioria apresentou grãos de pólen médios (*D. besseriana*; *D. minima*; *D. multinervis*; *D. pedalis*; *D. pyrenaica*; *D. saxatilis* e *D. sphaeroidea*) (Tabela 1).

Em vista polar, os grãos de pólen pequenos registraram as menores dimensões do diâmetro maior (DM) em *D. humifusa* (24,0  $\mu\text{m}$ ) e as maiores dimensões do diâmetro maior (DM) em *D. maianthemoides* (24,9  $\mu\text{m}$ ). Grãos de pólen médios apresentam as menores dimensões do diâmetro maior (DM) registradas em *D. multinervis* (25,2  $\mu\text{m}$ ) e as maiores dimensões do diâmetro maior (DM) registradas em *D. pyrenaica* (40,7  $\mu\text{m}$ ) (Tabela 1).

Em vista equatorial lateral, a maior dimensão do diâmetro maior (DM) foi registrada em *D. besseriana* (25,0 µm) e do diâmetro menor (Dm) para *D. humifusa* (17,5 µm). Enquanto a menor dimensão do diâmetro maior (DM) foi registrada em *D. saxatilis* (7,0 µm) e do diâmetro menor (Dm) para *D. saxatilis* (4,5 µm) (Tabela 2).

### **3.2. Unidade de dispersão, polaridade e contorno**

Todas as espécies de *Dioscorea* apresentaram grãos de pólen em mônades, heteropolares, em vista polar com contorno elíptico em todas as espécies (Prancha 1 – A, D-F, H) e (Prancha 2 – A, B, D-I, K). *D. multinervis* apresentou em vista polar, contorno triangular (Prancha 1 – J, K) e *D. saxatilis*, contorno circular (Prancha 2 – I).

### **3.3. Abertura**

Grãos de pólen com dois sulcos foram encontrados na maioria das espécies (Prancha 1 – A, E, F, H, J, K) e (Prancha 2 – D, E); e com 1-2 sulcos em *D. humifusa* (Prancha 1 – C, D), *D. obtusifolia* (Prancha 2 – A, B, C), *D. pyrenaica* (Prancha 2 – F-H) e *D. saxatilis* (Prancha 2 – I, J). A maioria das espécies apresentou margem nos sulcos com ca. de 1,0 µm, exceto *D. besseriana* (0,9 µm). Os sulcos foram de difícil mensuração sob microscopia de luz devido aos grãos de pólen sofrerem ruptura com o processo de acetólise, sendo possível sua visualização melhor sob microscopia eletrônica de varredura. O maior valor para o comprimento do sulco foi classificado como extra-longo em *D. pyrenaica* (34,7 µm) (Prancha 2 – F-H) e o menor foi classificado como longo em *D. humifusa* (18,2 µm) e quanto a largura o maior valor foi em *D. pedalis* (7,2 µm) e o menor em *D. minima* (2,9 µm). A distância entre aberturas foi registrada de maior valor em *D. pyrenaica* (17,6 µm) (Prancha 2 - I) e de menor valor em *D. obtusifolia* (9,0 µm) (Tabela 3). As espécies apresentaram membrana ornamentada no sulco: *D. obtusiflora*, *D. pyrenaica* e *D. saxatilis* observa-se grânulos na membrana do sulco (Prancha 2 – B, F, G, K).

### **3.4. Estratificação e ornamentação da sexina**

As espécies apresentaram variação na espessura das camadas da exina. A exina mais espessa foi registrada em *D. pyrenaica* (2,0 µm) e a menos espessa em *D. sphaeroidea* (1,2 µm). A sexina foi tão espessa quanto à nexina em sete espécies, mais espessa que a nexina em *D. pedalis* e menos espessa em *D. besseriana* e *D. saxatilis*. (Tabela 3).

A ornamentação da sexina variou entre as espécies, sendo três estriadas, duas microrreticuladas, duas reticuladas, duas ruguladas e uma gemada.

#### **I. Estriada:**

##### **A. Cordões das estrias em uma direção**

*Dioscorea besseriana*: cordões das estrias altos e estreitos, com perfurações entre eles. (Prancha 1 – B)

##### **B. Cordões das estrias em duas direções**

*Dioscorea obtusiflora*: cordões das estrias de superfície arredondada e estreita. (Prancha 2 – C)

##### **C. Cordões das estrias em três direções**

*Dioscorea humifusa*: cordões das estrias altos, com perfurações entre eles. (Prancha 1 – D)

#### **II. Microrreticulado-perfurada:**

*Dioscorea maianthemoides*: lúmens de diferentes tamanhos e grânulos no seu interior (Prancha 1 – G).

*Dioscorea minima*: lúmens de diferentes tamanhos e grânulos no seu interior (Prancha 1 – I).

### III. Reticulada:

*Dioscorea pedalis*: heterobrocada, muros largos, retos e interrompidos, com ornamentação no interior do lúmen. (Prancha 2 - E)

*Dioscorea saxatilis*: heterobrocada, com muros altos e com granulos no interior do lúmen (Prancha 2 – L).

### IV. Rugulada:

*Dioscorea multinervis*: rugulas com perfurações. (Prancha 1 – L)

*Dioscorea sphaeroidea*: rugulas com muros largos e perfurações. (Prancha 2 - M)

### V. Gemada:

*Dioscorea pyrenaica*: as gemas se encontram bem próximas e apresentam grânulos no teto (Prancha 2 – H).

## 3.5. Análises Multivariadas

### 3.5.1. Análise de componente principal (PCA)

O resultado do PCA explicou 92.98 % do total da variância. Os dois primeiros eixos principais foram significativos, com 70.98 % e 22.00 % de variância, respectivamente (Tabela 4).

Na análise de PCA (Figura 1), no eixo 1, polo positivo as variáveis mais significativas foram ornamentação (Orn), diâmetro maior (DM), comprimento do sulco (CS) e diâmetro menor (Dm). A espécie *D. pyrenaica* apresentou o maior valor no eixo 1 positivo influenciada pelo caráter ornamentação deixando-a polarizada no eixo. Esse mesmo vetor também influenciou a espécie *D. sphaeroidea*, distanciando-a das demais espécies. As variáveis DM e Dm influenciaram as espécies *D. pedalis* e *D. multinervis* apresentando certa similaridade. As espécies *D. humifusa*, *D. obtusifolia* e *D. besseriana* também foram influenciadas pelo vetor ornamentação do eixo 1 positivo, apresentando valores negativos opostos ao eixo. O eixo 1 negativo não apresentou variável.

No eixo 2 positivo a variável ornamentação (Orn) foi a mais representativa, influenciando as espécies *D. minima* e *D. maianthemoides*. As espécies localizadas no eixo 2 positivo também sofreram influência dos vetores do eixo 2 negativo que foram: Largura do sulco (LS), Diâmetro menor (Dm), Diâmetro Maior (DM) e Comprimento do Sulco (CS). *D. multinervis* e *D. saxatilis* apresentaram os maiores valores do eixo 2 positivo, influenciadas pelas variáveis LS, Dm e DM que estão posicionadas no eixo 2 negativo, apresentando certa similaridade. O vetor DM influenciou a espécie *D. sphaeroidea* separando-a das demais. A espécie *D. pyrenaica* apareceu com o maior valor do eixo 2 negativo, afastando-a das outras espécies, sendo influenciada pelo vetor ornamentação do eixo 2 positivo. O mesmo ocorreu com *D. besseriana*, *D. humifusa* e *D. obtusifolia*, que estão próximas influenciadas pelo mesmo vetor.

### 3.5.2. Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA)

As relações entre as espécies analisadas produziram um dendrograma com percentual de encadeamento de 70.00 %. Ao levar em consideração o percentual de informações (variáveis) e a quantidade final de cluster formados, observa-se a formação de três cluster, quando analisadas 80% das informações remanescentes (Figura 2).

- Cluster 1: *D. besseriana*, *D. humilis*, *D. maianthemoides*, *D. minima*, *D. multinervis*, *D. obtusifolia*, *D. pedalis* e *D. saxatilis*.
- Cluster 2: *D. sphaeroidea*.
- Cluster 3: *D. pyrenaica*.

**Tabela 1.** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=25) em vista polar: diâmetro maior (DM) e diâmetro 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%
<i>Dioscorea bessleriana</i> Kunth	22,5-32,5	26,9 $\pm$ 0,5	25,9-27,9	12,5-22,5	18,3 $\pm$ 0,6	17,0-19,6
<i>Dioscorea humifusa</i> Poepp.	20,0-30,0	24,0 $\pm$ 0,4	23,1-24,9	12,5-25,0	16,9 $\pm$ 0,7	15,5-18,3
<i>Dioscorea maianthemoides</i> Uline ex R.Knuth	22,5-27,5	24,9 $\pm$ 0,3	24,2-25,6	12,5-20,0	17,6 $\pm$ 0,3	17,0-18,2
<i>Dioscorea minima</i> C.B. Rob. & Seaton	22,5-30,0	25,7 $\pm$ 0,4	24,9-26,5	12,5-22,5	17,0 $\pm$ 0,5	16,0-18,0
<i>Dioscorea multinervis</i> Benth.	20,0-27,5	25,2 $\pm$ 0,4	24,5-25,9	12,5-22,5	16,6 $\pm$ 0,5	15,5-17,7
<i>Dioscorea obtusifolia</i> Hook. & Arn.	22,5-30,0	24,8 $\pm$ 0,5	23,8-25,8	12,5-22,5	16,3 $\pm$ 0,5	15,3-17,3
<i>Dioscorea pedalis</i> (R. Knuth) R.S.Couto et J.M.A.Braga	20,0-30,0	27,2 $\pm$ 0,5	26,1-28,3	15,0-22,5	17,9 $\pm$ 0,5	16,9-18,9
<i>Dioscorea pyrenaica</i> Bubani & Bordère ex Gren.	35,0-47,5	40,7 $\pm$ 0,7	39,2-42,2	25,0-37,5	30,8 $\pm$ 0,6	29,5-32,1
<i>Dioscorea saxatilis</i> Poepp.	19,0-35,5	25,6 $\pm$ 0,6	24,3-26,9	15,0-27,5	18,5 $\pm$ 0,7	17,1-19,9
<i>Dioscorea sphaeroidea</i> R.S.Couto & J.M.A.Braga	27,5-35,0	31,1 $\pm$ 0,4	30,3-31,9	15,0-22,5	18,6 $\pm$ 0,5	17,6-19,6



**Tabela 2.** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) em vista equatorial lateral: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).

Espécie	Diâmetro Maior		Diâmetro Menor	
	Faixa de Variação	$\bar{x}$	Faixa de Variação	$\bar{x}$
<i>Dioscorea besseriana</i> Kunth	25,0-25,0	25,0	14,0-16,5	15,0
<i>Dioscorea humifusa</i> Poepp.	20,0-22,5	22,5	12,5-18,5	17,5
<i>Dioscorea maianthemoides</i> Uline ex R.Knuth	16,0-20,0	18,7	5,0-12,5	8,5
<i>Dioscorea minima</i> C.B.Rob. & Seaton	20,0-25,0	21,7	10,0-17,5	12,5
<i>Dioscorea multinervis</i> Benth.	-	-	-	-
<i>Dioscorea obtusifolia</i> Hook. & Arn.	17,0-23,0	20,0	9,0-17,0	13,0
<i>Dioscorea pedalis</i> (R. Knuth) R.S.Couto et J.M.A.Braga	-	-	-	-
<i>Dioscorea pyrenaica</i> Bubani & Bordère ex Gren.	-	-	-	-
<i>Dioscorea saxatilis</i> Poepp.	6,0-8,0	7,0	4,0-5,0	4,5
<i>Dioscorea sphaeroidea</i> R.S.Couto & J.M.A.Braga	16,0-17,0	16,8	5,0-9,0	6,5

**Tabela 3.** Medidas ( $\mu\text{m}$ ) do sulco e das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10).

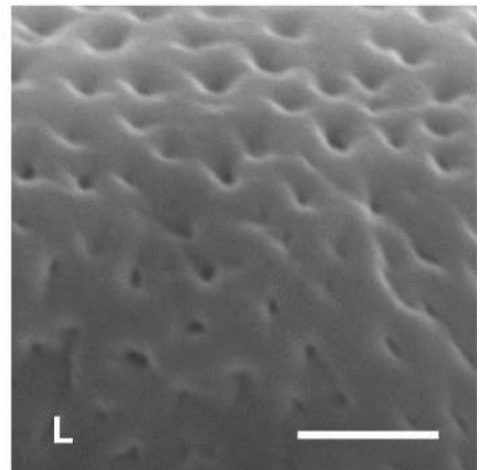
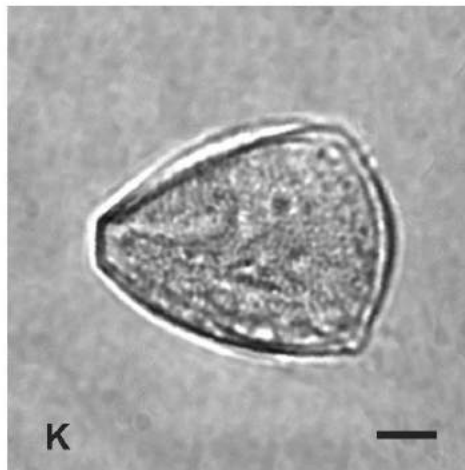
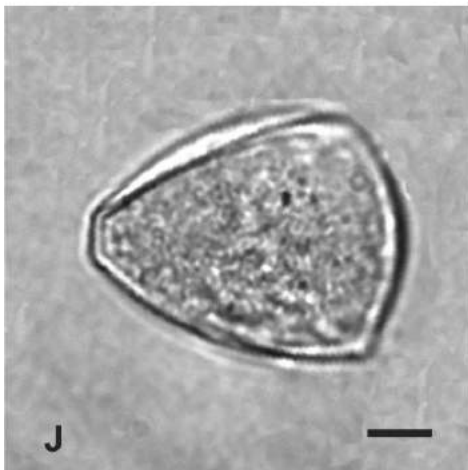
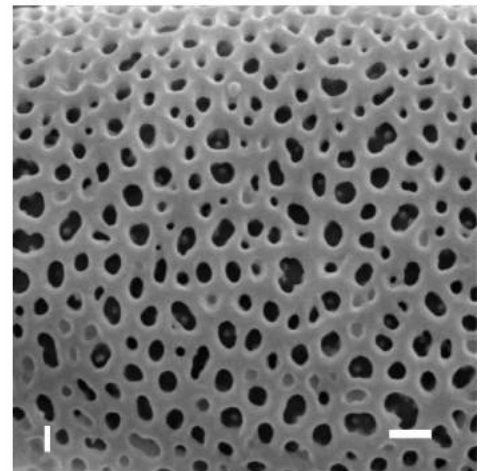
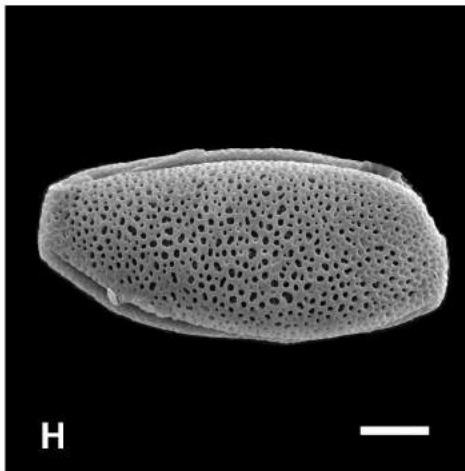
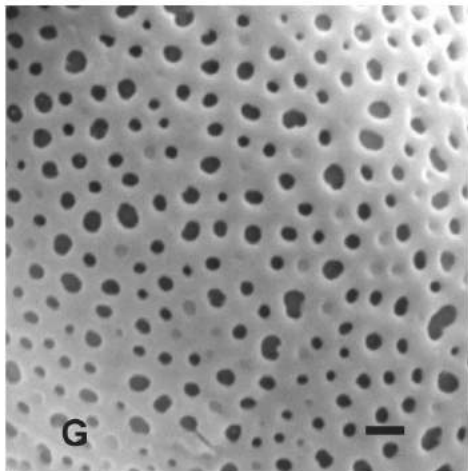
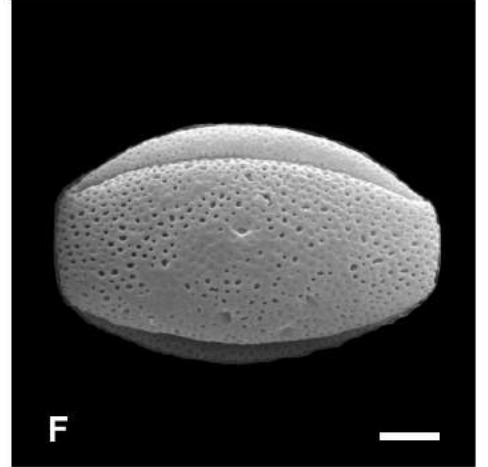
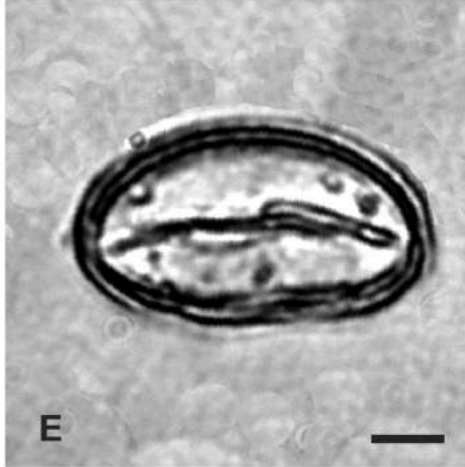
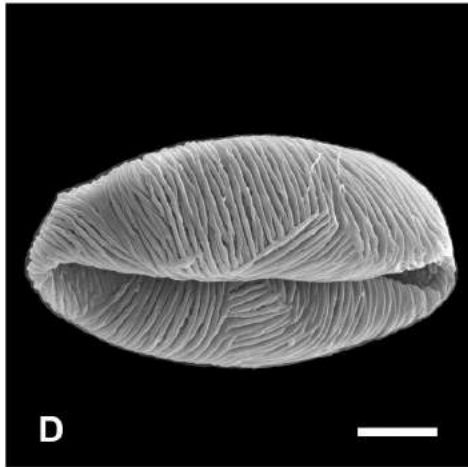
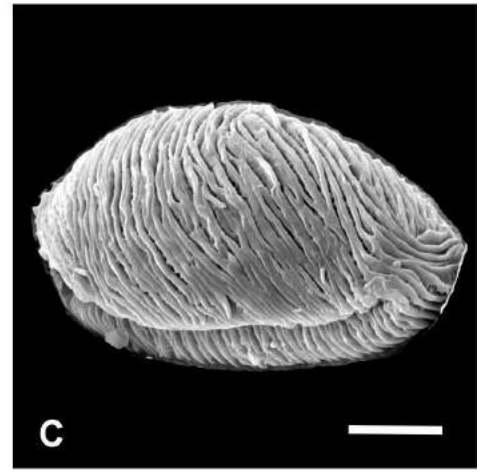
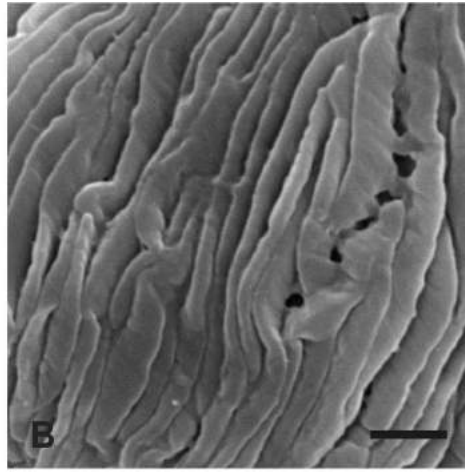
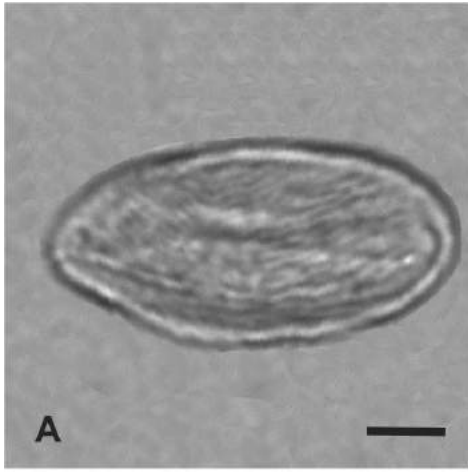
Espécies	Sulco				Espessura da Exina		
	Comp.	Larg.	Margem	Distância entre aberturas	Exina	Sexina	Nexina
<i>Dioscorea besseriana</i> Kunth	21,2	5,2	0,9	12,9	1,4	0,5	0,9
<i>Dioscorea humifusa</i> Poepp	18,2	5,2	1,0	9,6	1,4	0,7	0,7
<i>Dioscorea maianthemoides</i> Uline ex R.Knuth	21,3	4,1	1,0	11,1	1,8	0,9	0,9
<i>Dioscorea minima</i> C.B.Rob. & Seaton	23,0	2,9	1,0	9,8	1,6	0,8	0,8
<i>Dioscorea multinervis</i> Benth.	20,1	3,2	1,0	10,3	1,6	0,8	0,8
<i>Dioscorea obtusifolia</i> Hook. & Arn.	19,4	3,8	1,0	9,0	1,8	0,9	0,9
<i>Dioscorea pedalis</i> (R. Knuth) R.S.Couto et J.M.A.Braga	23,1	7,2	1,0	-	1,9	1,0	0,9
<i>Dioscorea pyrenaica</i> Bubani & Bordère ex Gren.	34,7	7,1	1,0	17,6	2,0	1,0	1,0
<i>Dioscorea saxatilis</i> Poepp.	19,7	3,4	1,0	9,1	1,7	0,8	0,9
<i>Dioscorea sphaeroidea</i> R.S.Couto & J.M.A.Braga	26,1	3,5	1,0	14,5	1,2	0,6	0,6

**Tabela 4.** Variância cumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA) utilizando caracteres palinológicos de *Dioscorea* anãs.

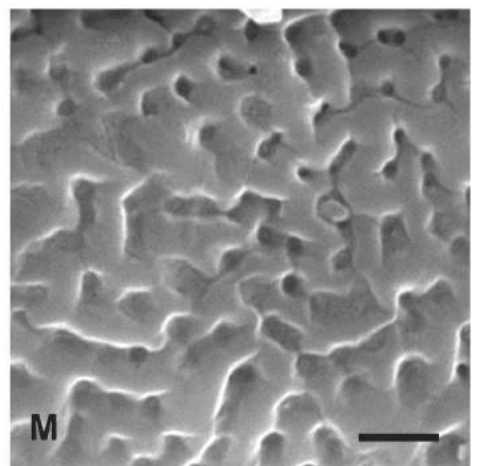
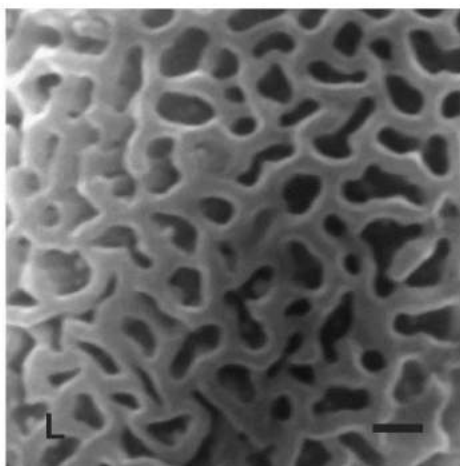
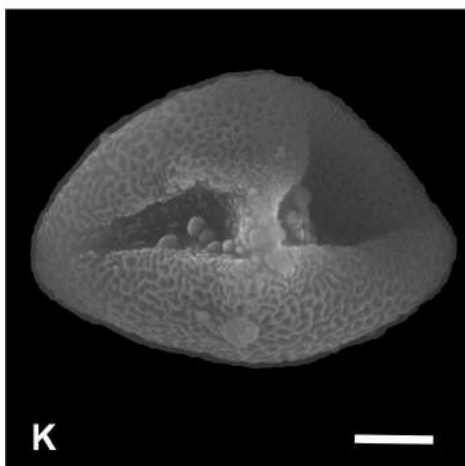
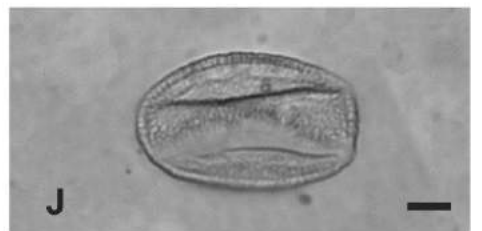
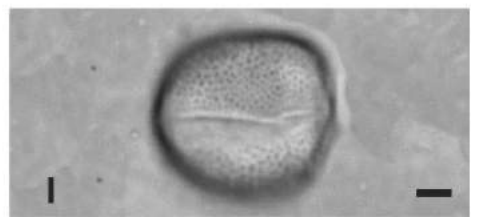
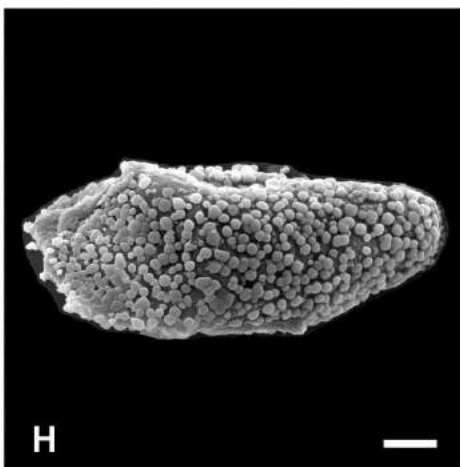
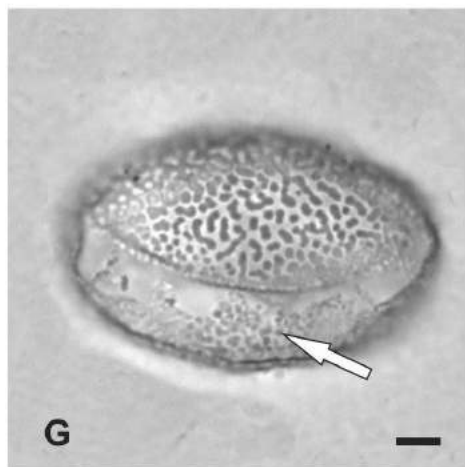
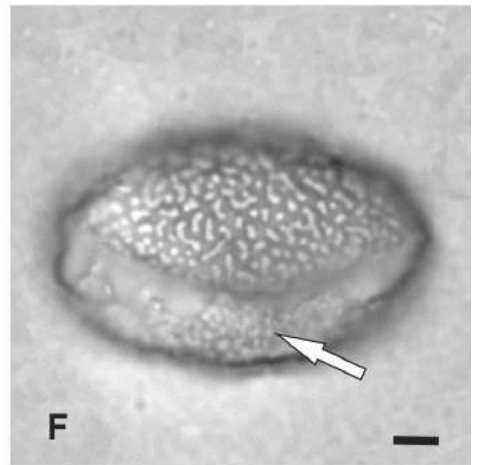
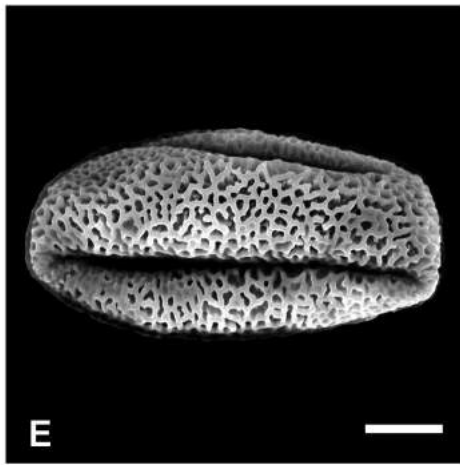
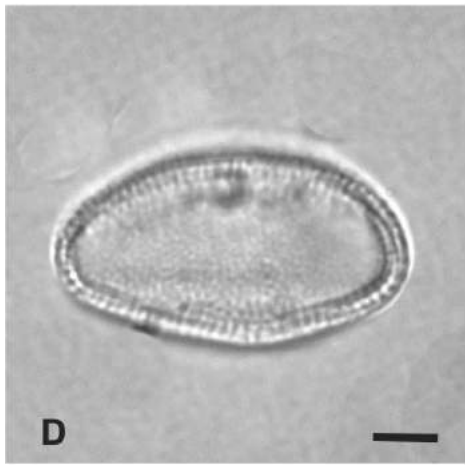
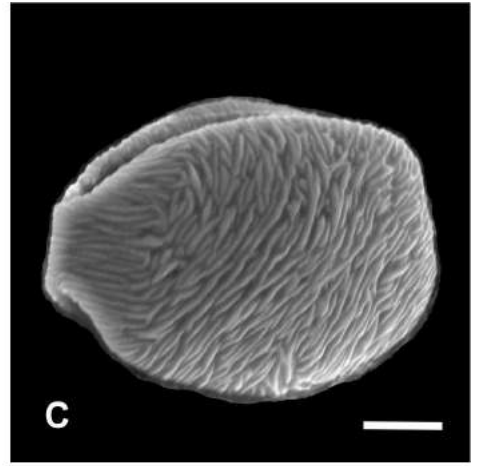
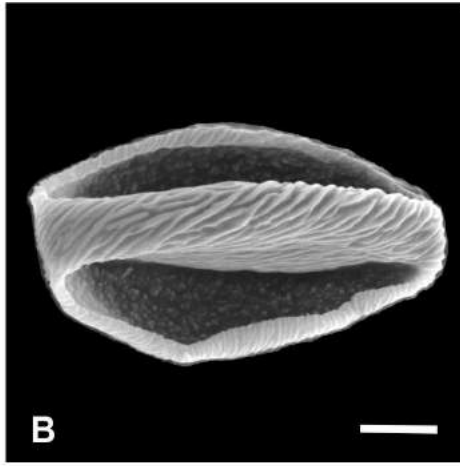
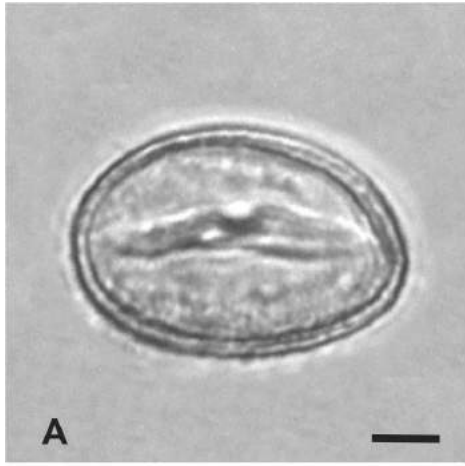
<b>Eixo Principal</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
Variância Cumulativa (%)	70.981	22.004
<b>Caracteres</b>	<b>Eixos</b>	
Diâmetro Maior (DM)	1.1892	-0.5414
Diâmetro menor (Dm)	1.1080	-0.6513
Comprimento do Sulco (CS)	1.2893	-0.4580
Largura do Sulco (LS)	0.3791	-0.7351
Margem (M)	0.0139	0.0217
Exina (EX)	0.0995	-0.0471
Ornamentação da Sexina (Orn)	2.0412	1.0970

Prancha 1. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* anã. *D. besseriana* – vista polar proximal: A. aspecto geral (ML), B. detalhe da superfície (MEV). *D. humifusa* - vista polar distal: C. superfície (MEV), D. sulco e detalhes na superfície (MEV). *D. maianthemoides* - vista polar distal: E. corte óptico (ML), F. aspecto geral (MEV) e G. detalhe da superfície (MEV). *D. minima* – vista polar proximal: H. aspecto geral (MEV) e I. detalhe da superfície (MEV). *D. multinervis* – vista polar proximal: J, K. análise de L.O. (ML), L. detalhe da superfície (MEV). Escalas: A, C-F, H, J, K = 5  $\mu\text{m}$  e B, G, I, L = 1  $\mu\text{m}$ .

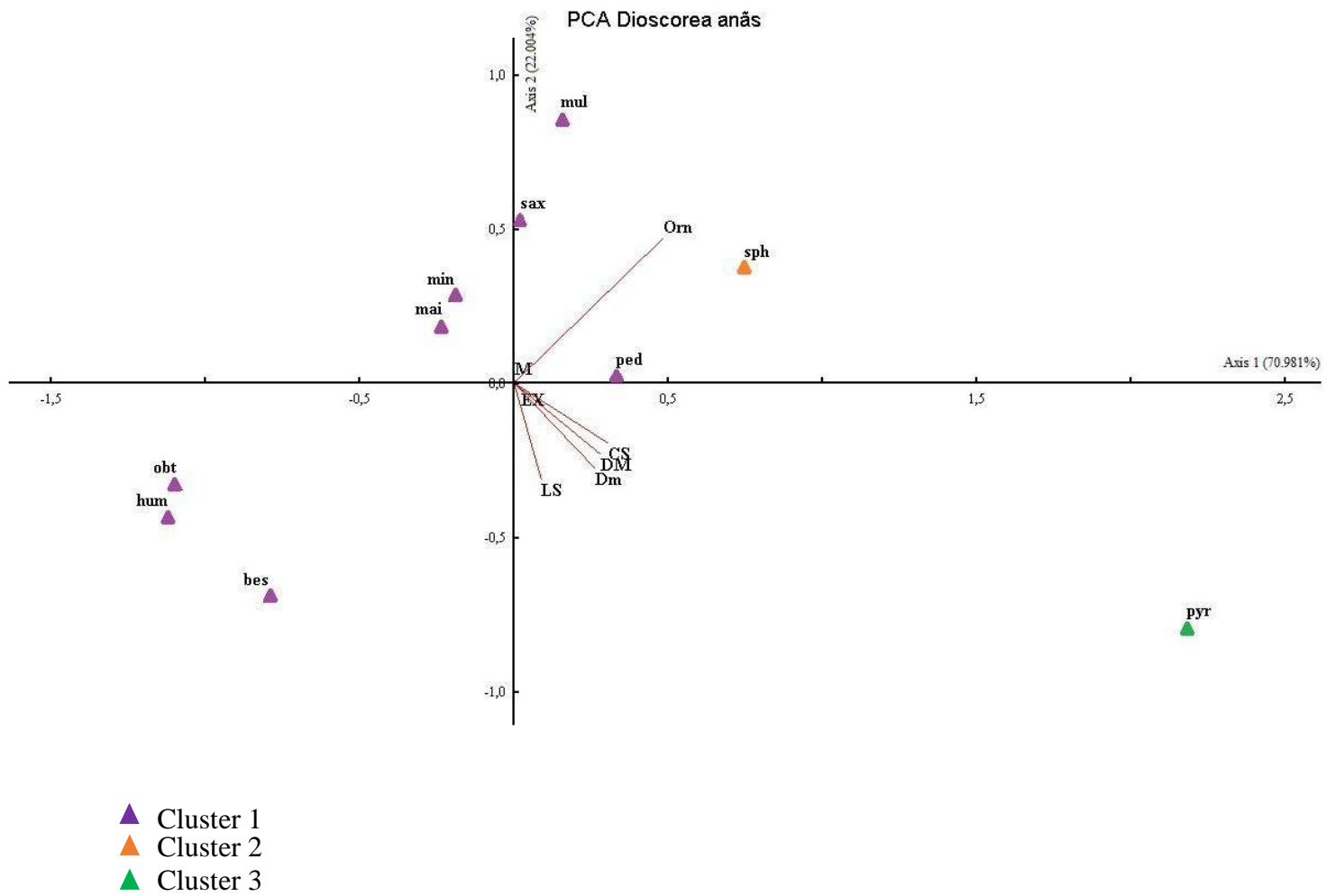
Prancha 1



Prancha 2. Eletromicrografias e fotomicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* anã. *D. obtusifolia* – vista polar distal: A. corte óptico (ML), B. detalhe no interior dos sulcos com grânulos (MEV), C. superfície (MEV). *D. pedalis* - vista polar distal: D. corte óptico (ML), E. aspecto geral e superfície (MEV). *D. pyrenaica* - vista polar distal: F, G. análise L.O. e detalhe da membrana apertural (ML), vista polar proximal: H. aspecto geral e superfície (MEV). *D. saxatilis* – vista polar distal: I. um sulco (ML), J. dois sulcos (ML), K. detalhe da membrana apertural (MEV), L. detalhe da superfície (MEV). *D. sphaeroidea* – M. detalhe da superfície (MEV). Escalas: A-K = 5  $\mu\text{m}$  e L, M = 1  $\mu\text{m}$ .

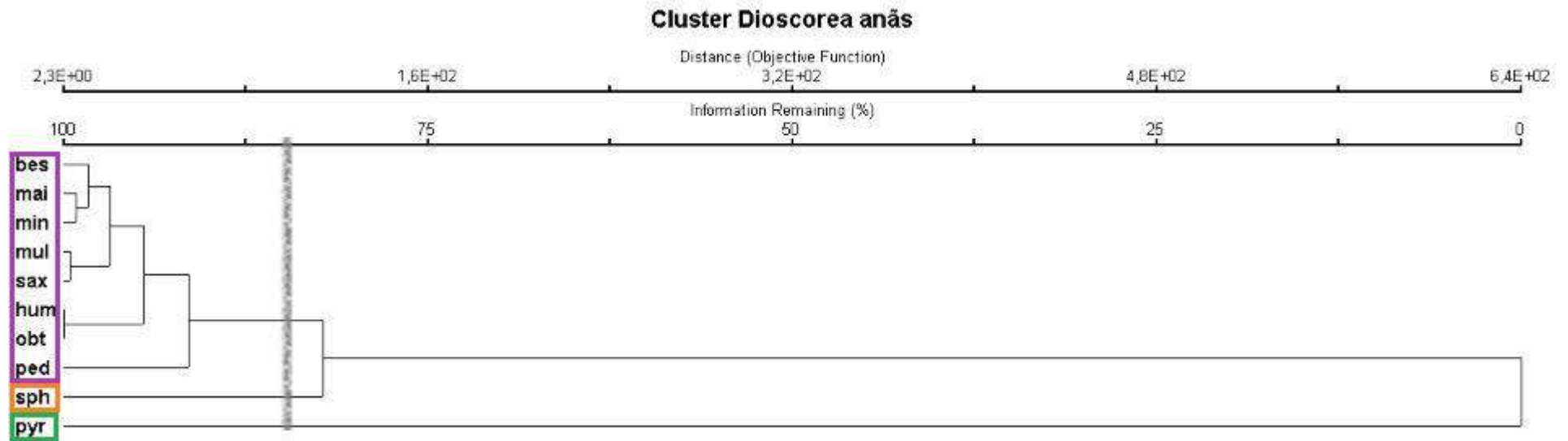


**Figura 1.** Gráfico bidimensional representando espécies de *Dioscorea* L. em Análise do Componente Principal (PCA).





**Figura 2.** Dendrograma combinado de dados quantitativos e presença e ausência de espécies de *Dioscorea* L. por análise hierárquica de aglomeração (HCA).



Abreviações: **Cluster 1:** *D. besseriana* (bes), *D. humifusa* (hum), *D. maianthemoides* (mai), *D. minima* (min), *D. multinervis* (mul), *D. obtusifolia* (obt), *D. pedalis* (ped) e *D. saxatilis* (sax). **Cluster 2:** *D. sphaeroidea* (sph). **Cluster 3:** *D. pyrenaica* (pyr).

#### 4. DISCUSSÃO

Os dados palinomorfológicos mostram que os grãos de pólen dos táxons de *Dioscorea* das linhagens anãs apresentam heterogeneidade entre eles. Os grãos de pólen foram classificados pelo contorno elíptico em vista polar na maioria das espécies, exceto em *D. saxatilis* (circular) e *D. multinervis* (triangular). O tamanho variou entre pequeno a médio (esse último predominou em sete espécies), conforme indicado pelo comprimento do diâmetro maior (DM), dissulcados na maioria das espécies e 1-2 sulcos no mesmo espécime em *D. humifusa*, *D. obtusifolia*, *D. pyrenaica* e *D. saxatilis*. O padrão da ornamentação da sexina foi registrado em cinco tipos: estriado (na maioria das espécies), microrreticulado-perfurado, reticulado, rugulado e gemado.

Erdtman (1952), após estudar palinologia de 20 espécies de Dioscoreaceae em diferentes gêneros, registrou os seguintes atributos polínicos: tamanho 18 µm – 45 µm (pequeno – médio), número de aberturas 1-, 2-, 3-, 4- e 5- aberturas, ornamentações da sexina foram identificadas como reticulada, estriada e pilada. Entre as espécies analisadas pelo autor, destacamos *Bordera pyrenaica* (= *D. pyrenaica*) por ser representante da linhagem de *Dioscorea* anã. Esta espécie no presente estudo apresentou grão de pólen dissulcado, 38,0 µm (médio) e nexina espessa. Em relação à ornamentação da sexina, Erdtman observou em microscopia de luz detalhes finos nos canais entre as ilhas. De acordo com sua descrição, o nome da possível ornamentação da sexina é gemada, são gemas que apresentam canais estreitos entre elas. No presente estudo os dados palinológicos confirmaram os caracteres descritos acima, com exceção no número de aberturas que foi registrado 1-2 sulcos (10% monossulcado e 90% dissulcado) e as ilhas citadas pelo autor foram aqui descritas como gemas.

Barroso *et al.* (1974) examinaram dados palinológicos de 24 espécies de representantes da família Dioscoreaceae, com intuito de adicionar dados micromorfológicos à família. O caracter semelhante encontrado pelos autores foram contorno elíptico e grãos de pólen com duas aberturas, no entanto há divergências entre o tamanho (pequeno – médio). A exina se apresentou delgada. Existem também algumas diferenças na ornamentação da sexina que foram representadas em quatro padrões: A) reticulado-ornamentado, B) reticulado, C) ornamentado e D) estriado. A morfologia polínica das espécies analisadas no presente estudo se manteve equivalente no caracter tamanho, porém demonstraram diferenças entre os caracteres contorno em *D. saxatilis* (circular) e *D. multinervis* (triangular) em vista polar, quatro espécies

apresentaram 1 (2-) sulcos no mesmo espécime (*D. humifusa*, *D. obtusiflora*, *D. pyrenaica* e *D. saxatilis*). A espessura da exina manteve-se similar na maioria das espécies, exceto em *D. besseriana*, *D. pedalis* e *D. saxatilis*. Referente ao padrão das ornamentações da sexina, foram observados três tipos diferentes dos autores citados acima: gemada, rugulada e microrreticulada. Essas diferenças entre os grãos de pólen das espécies representantes da linhagem de *Dioscorea* anã favorecem a diversidade taxonômica entre as espécies do gênero.

Schols *et al.* (2001, 2003) descreveram a morfologia polínica em um total de 96 espécies, registrando o tamanho variante entre 16,2  $\mu\text{m}$  – 58  $\mu\text{m}$ , o número de abertura nos grãos de pólen se diferenciou com 2-, 1- e 1 (2-) sulcos. A superfície da exina foi representada pelos tipos: estriado, microrreticulado, reticulado, cerebroide-perfurada, gemado, rugulado, perfurado-rugulada, perfurado-microrreticulada e perfurado (em sua maioria). Os autores acima analisaram cinco espécies representantes das linhagens de *Dioscorea* anãs que variaram no tamanho pequeno a grande (21,6  $\mu\text{m}$  – 58  $\mu\text{m}$ ), grãos de pólen dissulcados em *D. saxatilis*, *D. minima* e *D. anomala*, monossulcado em *D. pyrenaica* e 2 (1-) *D. hexagona*. Os padrões das ornamentações da sexina foram: perfurado (*D. saxatilis*), perfurado-microrreticulada (*D. minima* e *D. anomala*), gemado (*D. pyrenaica*) e estriado (*D. hexagona*). No presente estudo, foram analisados palinologicamente três das espécies citadas acima, *D. pyrenaica* e *D. saxatilis*, que apresentaram grãos de pólen de tamanho médio, ambas com grãos de pólen com aberturas monossulcadas e dissulcadas, porém se diferenciando na ornamentação da sexina gemada e reticulada respectivamente. *D. minima* se diferenciou com grãos de pólen dissulcados e ornamentação da sexina microrreticulada.

Viruel *et al.* (2010) promoveram uma revisão sistemática de *Epipetrum* Phil., grupo de *Dioscorea* das linhagens anãs representados por três táxons, endêmicos do Chile. Foram utilizados atributos macro e micromorfológicos, dentre eles o palinológico, como tamanho, número de abertura e ornamentação da sexina, para diferenciar as espécies, das quais foram significativas entre as populações do norte e do sul de *D. biloba*. Os grãos de pólen das espécies estudadas pelos autores (*D. biloba* subsp. *biloba*, *D. biloba* subsp. *coquimbana*, *D. humilis* subsp. *humilis* e *D. humilis* subsp. *polyantes*) são representantes da linhagem anã 4 (L4), apresentaram tamanho médio (25,7  $\mu\text{m}$  – 35  $\mu\text{m}$ ), dissulcados com ornamentação da sexina perfurado-finemente reticulada. Os táxons analisados no presente estudo se distinguem em tamanho que variou pequeno-médio (24,0  $\mu\text{m}$  – 40,7  $\mu\text{m}$ ), em relação as aberturas 2-

sulcos e 1 (2-) sulcos. A ornamentação da sexina aqui observada foi estriada em sua maioria, seguida de rugulada, microrreticulado-perfurada, reticulada e gemada. Consideramos no presente estudo a ornamentação perfurado-finemente reticulada descrita pelos autores como microrreticulado-perfurada, de acordo com o glossário Punt *et al.* (2007).

Couto *et al.* (2014) indicaram que espécies de *Dioscorea* podem ser separadas pela morfologia polínica como em *D. campestris* e *D. pedalis*, que se diferenciam por apresentarem tamanho pequeno e médio, monossulcados e ornamentação da sexina reticulada. Alzer (2017), registrou em *D. campestris* grãos de pólen similares no tamanho, porém no atributo número de aberturas foi descrito como dissulcado (93%) e monossulcado (7%) e a ornamentação da sexina foi descrita como reticulada. No presente estudo, a análise palinológica demonstrou que *D. pedalis* apresentou variação no número de aberturas (dissulcado). Não analisamos *D. campestris*, porém observamos *D. maianthemoides*, que apresentou grãos de pólen pequenos, dissulcados e padrão da ornamentação da sexina microrreticulada. As espécies *D. maianthemoides* e *D. campestris* são irmãs e estão posicionadas no clado New Word II, conforme Couto *et al.* (2018). Nossos dados palinológicos, assim como de outros autores, estão de acordo com os dados filogenéticos produzidos por Couto *et al.* (2018).

Alzer (2017), estudou a palinotaxonomia de 24 espécies de *Dioscorea* da região neotropical, onde os grãos de pólen se diferenciaram em tamanho pequeno a médio; 2-sulcos e 1 (2-) sulcos, apresentando na maioria das espécies sexina tão espessa quanto a nexina. Para ornamentação da sexina foram registrados sete padrões: perfurado, microrreticulado, vermiculado, rugulado, espiculado, estriado e reticulado (na maioria das espécies). No presente estudo foram registrados dados palinológicos similares em relação ao tamanho do grão de pólen, espessura da exina e número de aberturas, exceto para os grãos de pólen apenas monossulcados que não foram observados por Alzer (2017). Comparando o atributo ornamentação da sexina, observamos quatro padrões (reticulada, microrreticulada, estriada e rugulada) dos apresentados acima pela autora e também a ornamentação gemada (*D. pyrenaica*). Dentre as espécies citadas acima pela autora, *D. perdicum* e *D. itatiaiensis* (espécies representantes das linhagens anãs), apresentaram os caracteres polínicos similares (tamanho médio: 26,7 µm - 30,3 µm, grãos de pólen dissulcados e ornamentação da sexina vermiculada e vermiculado-perfurada. Em nosso estudo polínico, analisamos *D. sphaeroidea*, que também apresentou caracteres similares, com exceção no padrão de ornamentação da sexina

(rugulado-perfurado). Essas três espécies compreendem a linhagem (6) de *Dioscorea* anã e se encontram no clado com bootstrap de 96% para *D. perdicum* e *D. itatiaiensis* enquanto *D. sphaeroidea* se posicionou como irmã do grupo, se diferenciando apenas pela ornamentação padrão rugulada. As espécies fazem parte do clado New Word II representado por Couto *et al.* (2018). Esse posicionamento corrobora a filogenia existente até o presente momento.

Couto *et al.* (2018), afirmam que *D. pedicellata* (cap. 1) está representada como espécie irmã do clado *Epipetrum* com registro de 100% de bootstrap. Conforme os estudos polínicos aqui realizados, *D. pedicellata* apresentou ornamentação da sexina verrucada com rúgulas e muros largos com perfurações. Viruel *et al.* (2010), registraram ornamentação da sexina perfurado-finamente reticulada nos grãos de pólen de *Epipetrum*. A morfologia polínica apresentada apoia a relação filogenética da hipótese dos autores (Couto *et al.* (2018), sustentando *D. pedicellata* como espécie irmã de *Epipetrum*.

De acordo com Couto *et al.* (2018), *D. delicata* (cap. 1) espécie irmã de *D. campos-portoi* e *D. pedalis*, apresenta 94% de suporte pelo bootstrap no clado New Word II. De acordo com a morfologia polínica das espécies representadas nesse clado, *D. delicata* apresenta ornamentação vermiculada, observada no presente estudo. As espécies *D. pedalis* e *D. campos-portoi* foram registradas com ornamentação reticulada por Couto *et al.* 2014 e Alzer (2017) e Alzer *et al.* (2020). Estes resultados demonstraram que a palinologia sustenta e corrobora a relação filogenética apresentada por Couto *et al.* (2018).

Na análise hierárquica de agrupamento (HCA), o cluster 1 foi determinado por influência das dimensões do vetor do diâmetro maior (DM) e ornamentação (Orn). Em ambas as análises multivariadas (PCA e HCA), a espécie *D. pyrenaica*, aqui estudada, se afastou das outras espécies devido ao vetor ornamentação da sexina. Segundo a análise do componente principal (PCA), o vetor diâmetro maior (DM) apresentou relações de similaridade em *D. sphaeroidea*. Desta forma, as análises multivariadas em conjunto com a análise filogenética de Couto *et al.* (2018), demonstraram consistência nos dados apresentando similaridade entre as espécies.

## 5. CONCLUSÃO

Conclui-se que as espécies de *Dioscorea* das linhagens anãs estudadas apresentaram grãos de pólen em mônades, heteropolares, classificados pelo contorno elíptico na maioria das espécies, exceto em vista polar em *D. saxatilis* (circular) e *D. multinervis* (triangular). O tamanho variou entre pequeno a médio, abertura dissulcada na maioria das espécies e 1 (2-) sulcos no mesmo espécime. O padrão da ornamentação da sexina foi registrado em cinco tipos: estriada (na maioria das espécies), microrreticulado-perfurada, reticulada, rugulada e gemada. As análises multivariadas, demonstraram consistência nos dados apresentando similaridade entre as espécies. Os resultados aqui observados demonstraram a importância dos caracteres morfopolínicos na delimitação de espécies e grupos de espécies, viabilizando dados palinológicos para a classificação sistemática de *Dioscorea* das linhagens anãs (Dioscoreaceae), que podem ser utilizados tendências evolutivas através do mapeamento dos caracteres na filogenia.

## 6. REFERÊNCIAS

ALZER, F.C. 2017. Palinotaxonomia de representantes de *Dioscorea* subgênero *Helmia* e *D.* subgênero *Dioscorea* (Dioscoreaceae) ocorrentes no neotrópico. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica): Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ.

ALZER, F. C.; COUTO, R. S.; LOPES, R. C.; GONÇALVES-ESTEVEVES, V. & MENDONÇA, C. B. F.; 2020. Palynotaxonomy of Neotropical species of *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae). *Palynology*, 45: 73-86.

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

BURKILL, I. H. 1960. The organography and the evolution of Dioscoreaceae, the family of the Yams. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 56: 319–412.

CACCAVARI, M.A.; NAAB, O.A. & TAMAME, M.A. 2008. Palynological and physicochemical characteristics of three unifloral honey types from central Argentina. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6(4): 566-576.

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

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

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

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica): Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ.

COUTO, R.S., MARTINS, A.C., BOLSON, M., LOPES, R.C., SMIDT, E.C., BRAGA, J.M.A., 2018. Time calibrated tree of *Dioscorea* (*Dioscoreaceae*) indicated four origins of yams in the Neotropics since Eocene. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 20: 1-17.

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

GOVAERTS R., WILKIN P., SAUNDERS R.M.K. 2007. World checklist of Dioscoreales: yams and their allies. Kew: Royal Botanic Gardens, 65pp.

HESSE, M., HALBRITTER, H., ZETTER, R., WEBER, M., BUCHNER, R., FROSCH-RADIVO, A., ULRICH, F. 2009. Pollen terminology. An illustrated handbook. New York, NY: Springer Wien New York.

LUZ, C.F.P.; BARBUGLIO-SANTIAGO, L.O.; SIMÕES, A.R.G.; SILVA, J.H.; SANTOS, V.L. & KIRIZAWA, M. 2020. Pollen morphology of *Dioscorea* (*Dioscoreaceae*) from the Atlantic Forest in southeast Brazil (São Paulo) with a contribution to the systematics of Neotropical species. *Grana*, 59:239-257.

MCCUNE, B. & MEFFORD, M. J. 2011. PC-ORD. Multivariate analysis of Ecological Data, Version 5.0 for Windows.

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

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



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

REITSMA, T. 1969. Size modification of recent pollen grains unter different tratments. *Review of Paleobotany and Palynology*, 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. Rio de Janeiro. Academia Brasileira de Ciências.

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

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

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

STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July [2017] <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.

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

THIERS, B. 2019. Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff.

New York Botanical Garden's Virtual Herbarium [accessed 2019 Dec 10]  
<http://sweetgumnybgorg/ih/>.

VIEIRA, S. 2011. Introdução à Bioestatística. Rio de Janeiro. Editora Elsevier. 345p.

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

VIRUEL, J.; SEGARRA-MORAGUES, J. G.; RAZ, L.; FOREST, F.; SANMARTIN, I.; WILKIN, P.; CATALÁN, P. 2016. Late Cretaceous–Early Eocene origin of yams (*Dioscorea*, Dioscoreaceae) in the Laurasian Palaeartic and their subsequent Oligocene–Miocene Diversification. *Journal of Biogeography*, 43: 750-762.

VIRUEL, J., FOREST, F., PAUN, O., CHASE, M.W., DEVEY, D., COUTO, R.S., SEGARRA-MORAGUES, J.G., CATALÁN, P., WILKIN, P., 2018. A nuclear *Xdh* phylogenetic analysis of yams (*Dioscorea*: Dioscoreaceae) congruent with plastid trees reveals a new neotropical lineage. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 20: 1-15.

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

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

XIFREDA CC. 2000. Evaluation of pollen and vegetative characters in the systematics of South American species of *Dioscorea* (Dioscoreaceae). In: Wilson KL, Morrison DA, editors. *Monocots: Systematics and Evolution*. Melbourne (Australia): Collingwood; p. 488–496.

ANEXO 1: Material examinado.

1 - *Dioscorea besseriana* Kunth – Chile. Santiago: Cerro San Cristóbal in Santiago (excl. Juan Fernandez Islands). 1920-X. *M. Gusinde*, 706 (S17-42286).

2 - *Dioscorea humifusa* Poepp. – Chile. Coquimbo: Coquimbo, Las Cardas. (excl. Juan Fernandez Islands). 400m. 1947-IX-23. *B. Sparre*, 2675 (S17-40658).

3 - *Dioscorea maianthemoides* Uline ex R. Knuth – Brasil. Goiás, Alto Paraíso de Goiás. Chapada dos Veadeiros. 28-I-1991. *A. Fonseca Vaz*, 870 (RB00583797).

4 - *Dioscorea minima* C.B. Rob. & Seaton - Mexico. Vicinity of Morelia: State of Michoacán, Punguato. 200m. 1909-06-26. *Bro. G. Arsène*, 2738 (S17-42805).

5 - *Dioscorea multinervis* Benth. - México. Satet of Michoacan. Damp glades near Patzcuaro. 1892-VII-23. *C. G. Pringle*, 4158 (S17-42818).

6 - *Dioscorea obtusifolia* Hook. & Arn.- Chile, Provincia: Coquimbo. Depto.: La Serena. Punta de Teatinos a 16 kmts norte de La Serena cerca del Portezuelo. Entre grupos de rochas em pequenas clareiras sem vegetação rasteira. 80m. 1952-VII-20. *Rodolfo Wagenknecht H.*, 417 (S17-40663).

7 - *Dioscorea pedalis* (R. Knuth) R. S. Couto et J. M. A. Braga – Brasil. Rio de Janeiro: Itatiaia. Parque Nacional de Itatiaia. Encosta rochosa, úmida na estrada cerca de 50m antes do abrigo Rebouças. 7-XI-2011. *R. S. Couto, et al.* 587 (R227184).

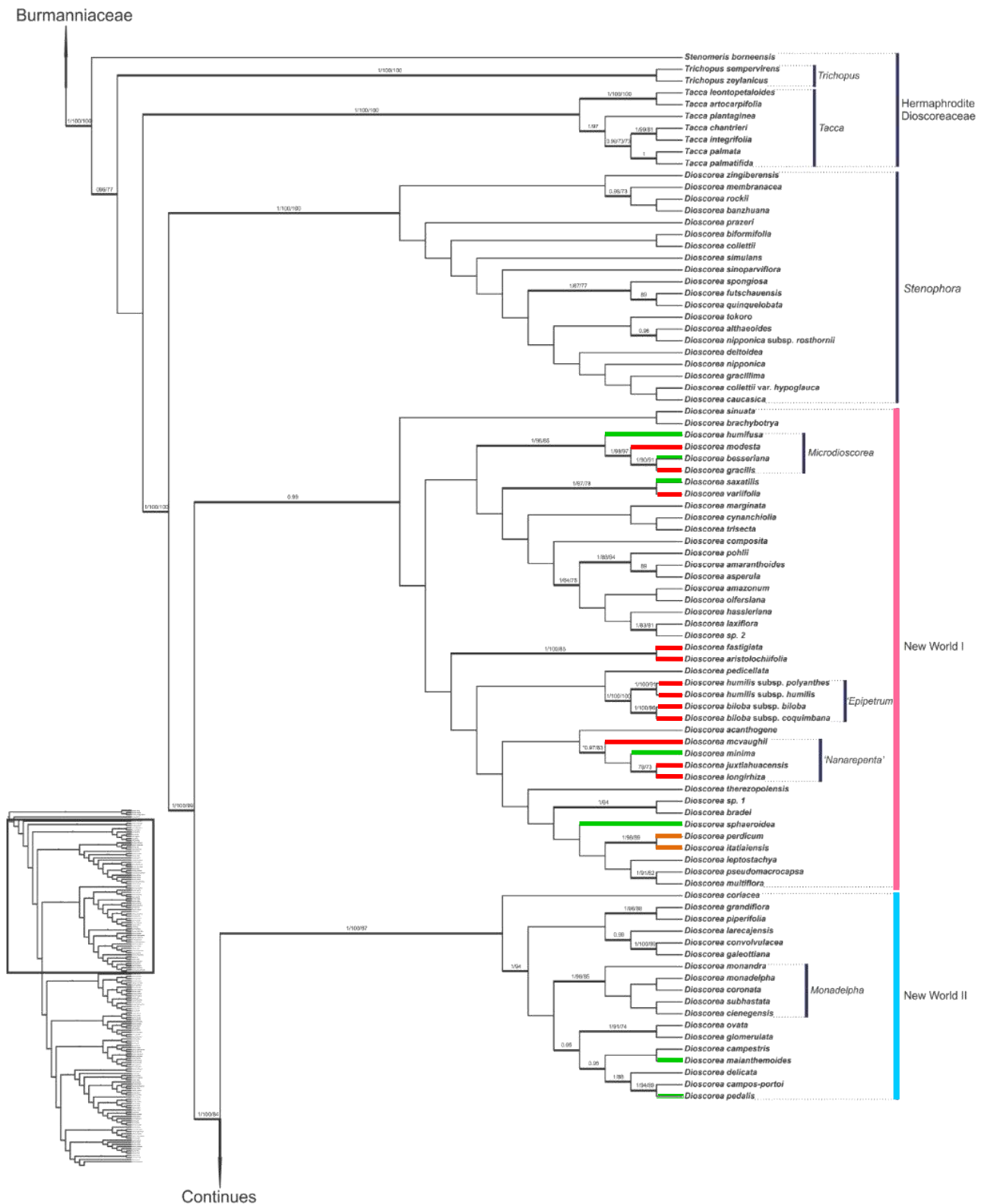
8 - *Dioscorea pyrenaica* Bubani & Bordère ex Gren. – França. Midi-Pyrénées. 1500m. 1924-VII-28. *Erik Wall*, 39 (S17-40672).

9 - *Dioscorea saxatilis* Poepp. – Chile. Orientalis, El Salto prope Valparaiso (excl. Juan Fernandez Islands). 1896-VI-28. *P. Dusén*, 29 (S17-42954).

10 - *Dioscorea sphaeroidea* R. Couto & J.M.A. Braga – Brasil. Rio de Janeiro: Teresópolis. Parque Nacional da Serra dos Órgãos. Pedra do sino, próximo ao marco no cume. 31-III-2010. *R.S. Couto*, 316 (RB00613151).

ANEXO 2:

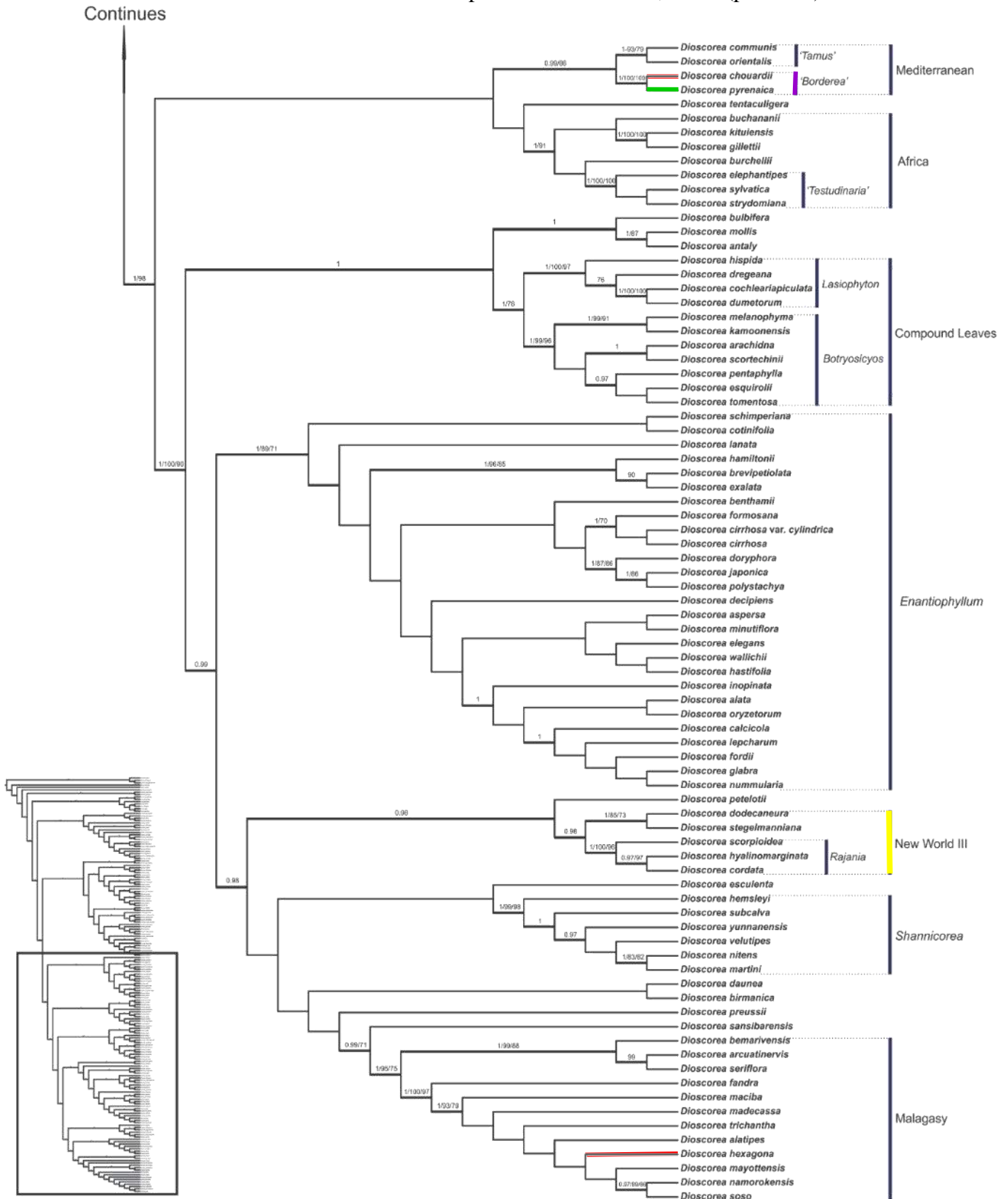
Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 1/2)



Representantes das Linhagens Anãs

- Spp. linhagens anãs
- Spp. feitas doutorado
- Spp. feitas mestrado

Anexo 2: Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 2/2).



**Representantes das Linhagens Anãs**  
— Spp. linhagens anãs  
— Spp. feitas doutorado  
— Spp. feitas mestrado

**Capítulo 3:**  
**Evolução polínica em *Dioscorea* L.**

## RESUMO

Dioscoreaceae possui cerca de 650 espécies com distribuição predominantemente pantropical, é aceita como monofilética e, composta pelos gêneros *Stenomeris*, *Trichopus*, *Tacca* e *Dioscorea*. *Dioscorea* representa 95% da diversidade morfológica, química e genética da família. Embasado nos estudos filogenéticos mais recentes, buscou-se a identificação de sinapomorfias polínicas que corroborem com os clados internos de *Dioscorea*, com o intuito de ampliar a base de dados de cada clado. Considerando que o grão de pólen é um importante indicador morfológico, utilizamos o método de parcimônia no presente estudo juntamente com registros palinológicos para gerar árvores de cada carácter significativo (tamanho polínico, número de aberturas e ornamentação da sexina), para analisar a evolução dos caracteres polínicos, traçar linhas evolutivas dos diferentes táxons, registrar as principais evidências evolutivas pela reconstrução do estado ancestral polínico. Foi possível identificar sinapomorfias entre os clados, autapomorfias em algumas espécies de *Dioscorea*, simplesiomorfias, plesiomorfias e apomorfias. Os resultados aqui obtidos demonstraram que os dados da palinotaxonomia aplicados na filogenia apresentam potencial marcador morfológico corroborando com a delimitação das espécies e com a classificação infragenérica atual.

Palavras-Chaves: Dioscoreaceae, filogenia, palinologia.



## ABSTRACT

Dioscoreaceae has about 650 species with a predominantly pantropical distribution, is accepted as monophyletic and is composed of the genera *Stenomeris*, *Trichopus*, *Tacca* and *Dioscorea*. *Dioscorea* represents 95% of the morphological, chemical and genetic diversity of the family. Based on the most recent phylogenetic studies, we sought to identify pollen synapomorphies that corroborate with the internal clades of *Dioscorea*, in order to expand the database of each clade. Considering that the pollen grain is an important morphological indicator, we used the parsimony method in the present study together with palynology to generate trees of each character considered significant (pollen size, number of apertures and sexine ornamentation), to analyze the evolution of pollen characters, trace evolutionary lines of the different taxa, record the main evolutionary evidences by reconstructing the pollen ancestral state. It was possible to identify synapomorphies among the clades, autapomorphies in some species of *Dioscorea*, simpleiomorphies, plesiomorphies and apomorphies. The results obtained here demonstrated that palynotaxonomy data applied to phylogeny present potential morphological markers corroborating with species delimitation and current infrageneric classification.

Keywords: Dioscoreaceae, palynology, parsimony, phylogenetics, synapomorphy.

## 1. INTRODUÇÃO

Dioscoreaceae ao longo dos anos apresentou diferentes posicionamentos referentes às suas classificações infragenéricas. Desde o século XVIII quando Linnaeus (1753) iniciou a história da família passando ao longo do tempo por diversas revisões taxonômicas. Autores como Grisebach (1842), Uline (1897, 1898), Knuth (1924), Hutchinson (1934) e Burkill (1960), realizaram revisões ou tratamentos mais aprofundados da família, propondo novas seções, novos gêneros, subgêneros, seções, propondo combinações com base em classificações anteriores, descreveram espécies novas e mais recentemente avaliaram a evolução da família.

Atualmente, *Dioscorea* L. compreende 95% das espécies de Dioscoreaceae, composta por aproximadamente 650 spp, representando grande parte da diversidade morfológica, química e genética da família (Govaerts *et al.* 2007). Wilkin *et al.* (2005), Viruel *et al.* (2016, 2018) e Couto *et al.* (2018) apresentaram estudos filogenéticos com espécies pertencentes aos diferentes subgêneros e as diversas seções de *Dioscorea* propostas por Grisebach (1842), Uline (1897, 1898), Knuth (1924), Hutchinson (1934) e Burkill (1960). Os autores encontraram apenas poucas seções como monofiléticas e outros clados com espécies de diversas seções agrupadas geralmente por sua distribuição geográfica, demonstrando que as classificações infragenéricas propostas até o momento não são sustentadas por abordagem filogenética.

Couto *et al.* (2018) realizaram o estudo filogenético mais abrangente até o presente momento, com maior amostragem dos táxons do neotrópico obtendo quatro clados neotropicais, New World I (NW I), New World II (NW II), New World III (NW III) e apenas uma espécie isolada (New World IV – NW IV).

Couto *et al.* (2018) afirmam que há a necessidade de uma maior amostragem dos clados neotropicais para sua melhor resolução na filogenia, os autores ainda destacam que as relações internas dos clados NW I e NW II foi pouco elucidada e reconhecem o papel dos caracteres morfológicos (em especial os polínicos) no entendimento das relações entre as espécies neotropicais.

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

suporte aos estudos filogenéticos, na tentativa de traçar as linhas evolutivas dos diferentes táxons. (Melhem *et al.* 2003).

Segundo Melhem *et al.* (2003), entre os vários caracteres morfológicos, genéticos, moleculares e fitoquímicos, o grão de pólen tem a vantagem de ter seus caracteres morfológicos bem estudados do ponto de vista evolutivo e documentados nos registros fósseis com datação de ocorrência conhecida.

Walker & Doyle (1975) e Doyle (2005), acreditavam que uma das bases para filogenia das angiospermas seria a palinologia, pois é o único estudo que em pouco tempo e com pouco material é capaz de obter uma grande quantidade de informação. Os autores listaram caracteres polínicos úteis filogeneticamente (tipo de abertura, estrutura da parede, unidade polínica, polaridade, simetria, forma e tamanho) e suas principais evidências evolutivas, revelando como esses caracteres correlacionavam com diferentes categorias superiores aos sistemas de classificação das angiospermas delimitando certas tendências filogenéticas constatadas nos grãos de pólen.

Segundo os autores Walker (1974, 1976) e Zavada (1983), as estratégias evolutivas sobre os caracteres polínicos como tamanho, tipo, número e tamanho de aberturas, parede e estruturas da exina foram relatadas como estratégias polínicas para polinização e estão ligadas às características do habitat (vento, água, umidade) desempenhando grande importância sobre a evolução morfológica do grão de pólen.

Wortley *et al.* (2015), afirmaram que pode ser considerada como uma proposta de classificação, o estudo de estados de caracteres morfológicos distribuídos em todos os grupos na filogenia e, pode ser interpretado como homoplasias, sinapomorfias, autapomorfias ou plesiomorfias. De acordo com os autores, é possível gerar hipóteses evolutivas em relação aos ancestrais e estados derivados, direção e padrão da evolução, identificar correlações entre a evolução dos estados de carácter palinológico, história de vida, estratégias e síndromes, fatores ecológicos e evolutivos, como origem em um grupo de animais polinizadores.

Segundo Luo *et al.* (2015), o grão de pólen pode desempenhar um papel fundamental nos estudos da evolução das angiospermas devido à sua variabilidade morfológica. Os autores utilizaram a diversidade morfopolínica na organização das ordens e famílias, de monocotiledôneas (incluindo Dioscoreaceae) e angiospermas basais. Analisaram 19 caracteres polínicos, ecológicos e uma árvore reconstruída de uma matriz DNA de Chase *et al.* (2006), a fim de revelar padrões e tendências

evolutivas do grão de pólen e seu valor sistemático através do mapeamento dos caracteres na filogenia.

Trabalhos abrangendo análise palinológica dos representantes de Dioscoreaceae são escassos: Erdtman (1952), Su (1987), Caddick *et al.* (1998), Xifreda (2000), Schols *et al.* (2001), Schols *et al.* (2005b), Wilkin *et al.* (2009) e Couto (2015), constataram a utilidade dos caracteres polínicos para a delimitação de espécies de *Dioscorea*, ressaltando a importância filogenética e taxonômica dos seguintes caracteres polínicos: tamanho, número de abertura, ornamentação da sexina e presença ou não de orbículos.

Para a região neotropical, foram encontrados poucos trabalhos de palinologia para este gênero: Barroso *et al.* (1974) estudaram 24 espécies de Dioscoreaceae, tanto no aspecto taxonômico quanto palinológico. Para este último afirmaram que os grãos de pólen são iguais quanto à forma e abertura, podendo variar em relação à estrutura da exina e ao aspecto da superfície.

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

Alzer (2017) e Alzer *et al.* (2020) analisaram palinologicamente representantes de espécies Neotropicais de *Dioscorea* e, seus resultados mostraram importantes diferenças na ornamentação da sexina e no número de aberturas entre os principais clados neotropicais.

Tratando-se de um indicador morfológico muito importante, o grão de pólen nos viabiliza explorar características moleculares. Embasado na proposta filogenética mais recente e abrangente (Couto *et al.*, 2018) e diante do que foi exposto no que diz respeito a diversidade de *Dioscorea*, este estudo busca analisar a evolução dos caracteres polínicos no gênero, com uso da reconstrução da filogenia. Objetiva-se ainda a identificação de sinapomorfias polínicas que corroborem com os clados internos de *Dioscorea*.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### ***2.1. Seleção das espécies***

As espécies examinadas de *Dioscorea* foram selecionadas de acordo com a hipótese filogenética com dados moleculares mais ampla publicada (Couto *et al.*, 2018). A fim de analisar comparativamente os atributos polínicos das espécies em questão, buscou-se o maior número possível dos 176 táxons utilizados por Couto *et al.* (2018) (Anexo 1). Levou-se em consideração principalmente o posicionamento entre os clados existentes (com seleção de múltiplos táxons por clado), local de ocorrência, boa representatividade nos herbários e cobertura da ampla variação morfológica observada no gênero.

Observaram-se os resultados já publicados dos grãos de pólen acetolizados estabelecidos por Raynal & Raynal (1971), medidos, fotomicrografados em microscopia de luz e os dados quantitativos submetidos a tratamento estatístico.

Foram analisadas 60 espécies representantes de *Dioscorea* entre os capítulos 1 e 2, 17 espécies realizadas por Alzer (2017) e 51 espécies de artigos científicos com dados palinológicos referentes à família, totalizando 128 táxons (Tabela 1).

Neste estudo foram analisados ca. 60% dos táxons apresentados na árvore filogenética de Couto *et al.* (2018), e 13% de outros autores, que totalizou ca. 73% da amostragem geral.

### ***2.2. Matriz de Morfologia Polínica***

Levou-se em consideração os referidos caracteres, através dos seguintes códigos das variáveis (Tabela 2). Os estados de caráter polínico foram codificados na matriz de caracteres das 128 espécies selecionadas (Tabela 3). O tamanho do grão de pólen, o número de aberturas e ornamentação da sexina foram os caracteres mais significativos.

### ***2.3. Análise da evolução dos caracteres polínicos em Dioscorea e grupos externos***

A matriz palinológica dos táxons selecionados, foi analisada com o auxílio do programa Mesquite v.3.61 (Maddison & Maddison, 2019). Utilizando o método de

verossimilhança foram geradas árvores para cada caráter. Os caracteres foram plotados sobre a árvore filogenética de Couto *et al.* (2018) com 176 táxons *Dioscorea* L., *Tacca* J.R. et. G. Forst., *Trichopus* Gaertn., *Stenomeris* Planch., como uma proposta esquemática para ilustrar e mapear os caracteres polínicos e suas relações entre os táxons. A história evolutiva dos caracteres polínicos é representada por cores diferenciadas para cada estado de caráter. As árvores foram demonstradas em forma de figuras com legendas que correspondem às cores do rastreamento de cada estado ancestral.

A análise palinológica resultou na seleção de 3 caracteres (Tabela 2), relacionados a morfologia polínica das espécies de *Dioscorea* e grupos externos, sendo relativo ao tamanho, sulco e a superfície do grão de pólen. Os caracteres morfopolínicos foram tratados como não ordenados, sendo (3) multiestados.

A partir dos dados palinológicos obtidos (Tabela 1, 3) foi realizada a análise de evolução dos caracteres polínicos, utilizando como base a árvore de consenso da filogenia proposta por Couto *et al.* (2018). Nas figuras 1-3 são apresentadas as análises da evolução dos caracteres polínicos (tamanho, número de aberturas e ornamentação da superfície), sendo possível observar a reconstrução destes caracteres nos diferentes clados do gênero.

Tabela 1: Lista dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos, e fonte de dados palinológicos.

Espécies	Fonte de dados palinológicos
<i>Dioscorea acanthogene</i> Rusby	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea alata</i> L.	Capítulo I
<i>Dioscorea alatipes</i> Burkill & H.Perrier	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea althaeoides</i>	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea amaranthoides</i> Presl.	Capítulo I
<i>Dioscorea amazonum</i> Griseb.	Capítulo I
<i>Dioscorea antaly</i> Jum. & H.Perrier	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea arcuatinervis</i> Hochr.	Schols <i>et al.</i> (2001)
<i>Dioscorea asperula</i> Pedralli	Capítulo I
<i>Dioscorea banzhuana</i> S. J. Pei & C.T.Ting	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea bemarivensis</i> Jum. & H.Perrier	Capítulo I
<i>Dioscorea besseriana</i> Kunth	Capítulo II
<i>Dioscorea biformifolia</i> S. J. Pei & C.T.Ting	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea biloba</i> (Phil.) Caddick & Wilkin subsp. <i>biloba</i>	Viruel <i>et al.</i> (2010)
<i>Dioscorea biloba</i> subsp. <i>coquimbana</i> Viruel, Segarra-Morages & Villar	Viruel <i>et al.</i> (2010)
<i>Dioscorea birmanica</i> Prain & Burkill	Capítulo I
<i>Dioscorea brachybotrya</i> Poepp.	Capítulo I
<i>Dioscorea bradei</i> R.Knuth	Capítulo I
<i>Dioscorea buchananii</i> Benth.	Capítulo I
<i>Dioscorea bulbifera</i> L.	Schols <i>et al.</i> (2001)
<i>Dioscorea burchellii</i> Baker	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea campestris</i> Griseb.	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea campos-portoi</i> R.Knuth	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea caucasica</i> Lipsky	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea cienegensis</i> R.Knuth	Capítulo I
<i>Dioscorea cirrhosa</i> Lour	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea cochleari-apiculata</i> De Wild	Capítulo I
<i>Dioscorea colletii</i> Hook. F.	Capítulo I
<i>Dioscorea colletii</i> var. <i>hypoglauca</i> (Palib.) S.J.Pei & C.T.Ting	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea communis</i> (L.) Caddick & Wilkin	Capítulo I
<i>Dioscorea composita</i> Heml.	Capítulo I
<i>Dioscorea convovulacea</i> Schltldl. & Cham.	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea cordata</i> (L.) Raz	Capítulo I
<i>Dioscorea coriacea</i> Humb. & Bonpl. ex Will	Capítulo I
<i>Dioscorea coronata</i> Hauman	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea cotinifolia</i> Kunth	Capítulo I
<i>Dioscorea cynanchifolia</i> Griseb.	Capítulo I
<i>Dioscorea daunea</i> Prain & Burkill	Schols <i>et al.</i> (2001)
<i>Dioscorea decipiens</i> Hook.f.	Schols <i>et al.</i> (2001)
<i>Dioscorea delicata</i> R.Knuth	Capítulo I
<i>Dioscorea deltoidea</i> Wall. ex Griseb.	Capítulo I
<i>Dioscorea dodecaneura</i> Vell.	Capítulo I
<i>Dioscorea dregeana</i> (Kunth) T.Durand & Schinz	Capítulo I
<i>Dioscorea dumetorum</i> (Kunth) Pax	Capítulo I

Tabela 1: Lista dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos, e fonte de dados palinológicos.

Espécies	Fonte de dados palinológicos
<i>Dioscorea elephantipes</i> (L'Hér.) Engl.	Capítulo I
<i>Dioscorea esculenta</i> (Lour.) Burkill	Schols <i>et al.</i> (2001)
<i>Dioscorea exalata</i> C.T.Ting & M.C.Chang	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea fandra</i> H.Perrier	Capítulo I
<i>Dioscorea fordii</i> Prain & Burkill	Capítulo I
<i>Dioscorea futschauensis</i> Uline ex R.Knuth	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea galeottiana</i> R.Knuth	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea gillettii</i> Milne-Redh	Wilkin (2009)
<i>Dioscorea glabra</i> Roxb.	Capítulo I
<i>Dioscorea glomerulata</i> Hauman	Xifreda & Seo (2009)
<i>Dioscorea gracillima</i> Miq.	Capítulo I
<i>Dioscorea grandiflora</i> Klotzsch ex Kunth	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea hamiltonii</i> Hook.F.	Capítulo I
<i>Dioscorea hassleriana</i> Chodat	Capítulo I
<i>Dioscorea hastifolia</i> Nees	Capítulo I
<i>Dioscorea hexagona</i> Baker	Schols <i>et al.</i> (2001)
<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.	Capítulo I
<i>Dioscorea humifusa</i> Poepp.	Capítulo II
<i>Dioscorea humilis</i> subsp. <i>humilis</i> (F.Phil.) Viruel, Segarra & Villar	Viruel <i>et al.</i> (2010)
<i>Dioscorea humilis</i> subsp. <i>polyanthes</i> (F.Phil.) Viruel, Segarra & Villar	Viruel <i>et al.</i> (2010)
<i>Dioscorea hyalinomarginata</i> Raz	Capítulo I
<i>Dioscorea itatiaiensis</i> R.Knuth	Alzer (2017)
<i>Dioscorea japonica</i> Thunb.	Capítulo I
<i>Dioscorea kamoonsensis</i> R.Knuth	Capítulo I
<i>Dioscorea kituiensis</i> Wilkin & Muasya	Wilkin <i>et al.</i> (2009)
<i>Dioscorea lanata</i> Bail	Caddick <i>et al.</i> (1998)
<i>Dioscorea laxiflora</i> Mart. ex Griseb.	Capítulo I
<i>Dioscorea lepcharum</i> Prain & Burkill	Sheikh and Kumar (2017)
<i>Dioscorea leptostachya</i> Gardner	Capítulo I
<i>Dioscorea longirhiza</i> Caddick & Wilkin	Caddick <i>et al.</i> (2002)
<i>Dioscorea maciba</i> Ju & H.Perrier	Schols <i>et al.</i> (2001)
<i>Dioscorea maianthemoides</i> Uline ex R.Knuth	Capítulo II
<i>Dioscorea melanophyma</i> Prain & Burkill	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea membranacea</i> Pierre ex Prain & Burkill	Wilkin <i>et al.</i> (2002)
<i>Dioscorea minima</i> C.B.Rob. & Seaton	Capítulo II
<i>Dioscorea mollis</i> Kunth	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea monadelpha</i> (Kunth) Griseb.	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea multiflora</i> Mart. ex Griseb.	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea namorokensis</i> Wilkin	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea nipponica</i> Makino	Capítulo I
<i>Dioscorea nipponica</i> subsp. <i>rosthornii</i> (Diels) C.T.Ting	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea nitens</i> Prain & Burkill	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea nummularia</i> Lam.	Capítulo I
<i>Dioscorea olfersiana</i> Klotzsch ex Griseb.	Alzer (2017)



Tabela 1: Lista dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos, e fonte de dados palinológicos.

Espécies	Fonte de dados palinológicos
<i>Dioscorea orientalis</i> (J. Thiébaud) Caddick & Wilkin	Capítulo I
<i>Dioscorea ovata</i> Vell.	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea pedalis</i> (R. Knuth) R.S.Couto & J.M.A.Braga	Capítulo II
<i>Dioscorea pedicellata</i> Phil.	Capítulo I
<i>Dioscorea pentaphylla</i> L.	Capítulo I
<i>Dioscorea perdicum</i> Taubert	Alzer (2017)
<i>Dioscorea piperifolia</i> Humb. & Bonpl. ex Wil	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea polystachya</i> Turcz.	Capítulo I
<i>Dioscorea preussii</i> Pax	Capítulo I
<i>Dioscorea pseudomacrocapsa</i> Barroso et al.	Capítulo I
<i>Dioscorea pyrenaica</i> Bubani & Bordère ex Gren.	Capítulo II
<i>Dioscorea quinquelobata</i> Thunb.	Capítulo I
<i>Dioscorea sansibarensis</i> Pax	Capítulo I
<i>Dioscorea saxatilis</i> Poepp.	Capítulo II
<i>Dioscorea schimperiana</i> Hochst. ex Kunth	Capítulo I
<i>Dioscorea simulans</i> Prain & Burkill	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea sinuata</i> Vell.	Alzer (2017)
<i>Dioscorea soso</i> Jum & H. Perrier	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea sphaeroidea</i> R.S.Couto & J.M.A.Braga	Capítulo II
<i>Dioscorea stegelmanniana</i> R.Knuth	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea subcalva</i> Prain & Burkill	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea subhastata</i> Vell.	Alzer <i>et al.</i> (2020)
<i>Dioscorea sylvatica</i> Eckl.	Capítulo I
<i>Dioscorea tentaculigera</i> Prain & Burkill	Su Pu (1987)
<i>Dioscorea therezopolensis</i> Unline ex R.Knuth	Alzer (2017)
<i>Dioscorea tokoro</i> Makino ex Miyabe	Capítulo I
<i>Dioscorea tomentosa</i> J. Köning ex Spreng	Capítulo I
<i>Dioscorea trisecta</i> Griseb.	Capítulo I
<i>Dioscorea velutipes</i> Prain & Burkill	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea wallichii</i> Hook.F.	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Dioscorea zingiberensis</i> C.H.Wright	Schols <i>et al.</i> (2003)
<i>Stenomeris borneensis</i> Oliv.	Caddick <i>et al.</i> (2002)
<i>Tacca artocarpifolia</i> Seem.	Schols <i>et al.</i> (2005)
<i>Tacca chantrieri</i> André	Schols <i>et al.</i> (2005)
<i>Tacca integrifolia</i> Ker Gawl.	Schols <i>et al.</i> (2005)
<i>Tacca leontopetaloides</i> (L.) O.Kuntze	Schols <i>et al.</i> (2005)
<i>Tacca palmata</i> Blume	Schols <i>et al.</i> (2005)
<i>Tacca palmatifida</i> Baker	Schols <i>et al.</i> (2005)
<i>Tacca plantaginea</i> (Hance) Drenth	Schols <i>et al.</i> (2005)
<i>Trichopus sempervivens</i> (H.Perrier) Caddick & Wilkin	Caddick <i>et al.</i> (1998)
<i>Trichopus zeylanicus</i> Gaertn.	Caddick <i>et al.</i> (1998)

Tabela 2. Caracteres polínicos de *Dioscorea* e grupos externos, seus respectivos estados e codificação.

Carácter	Estados e Códigos
1 Tamanho	pequeno = 0, médio = 1, grande = 2
2 Número de abertura	(1) abertura = 0; (2) aberturas = 1, (1-2) aberturas = 0&1
3 Ornamentação da sexina	estriada = 0, perfurada = 1, reticulada = 2, microrreticulada = 3, rugulada = 4, birreticulada = 5, espiculada = 6, vermiculada = 7, gemada = 8, fovoelada = 9, cerebroide = 'A', verrucada = 'C', cristada = 'D'.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Viruel *et al.* (2016), as linhagens dos gêneros *Stenomeris*, *Trichopus* e *Tacca*, registradas no clado Dioscoreaceae hermafroditas (grupo externo), teriam origem no Cretáceo Antigo. A linhagem de *Dioscorea* (dióica), é considerada monofilética e estima-se que a sua diversificação se originou no Eoceno médio. Na análise filogenérica de Couto *et al.* (2018), o clado *Stenophora* foi considerado clado irmão do restante das espécies de *Dioscorea*. Com a hipótese de Couto e colaboradores (2018), foi possível registrar dez cladogramas maiores (figura 1A: *Stenophora*, New World I, New World II e na figura 2: Mediterran, Africa, Compound Leaves, *Enantiophyllum*, *Shannicorea*, New World III e Malagasy), e alguns deles revelaram subdivisões em subclados (figura 1B: *Microdioscorea*, ‘*Epipetrum*’, ‘*Nanarepenta*’, *Monadelpa* e na figura 2: ‘*Tamus*’, ‘*Borderea*’, ‘*Testudinaria*’, *Lasiophyton*, *Botryosicyos*, *Rajania*).

#### Tamanho

No presente estudo, os resultados obtidos em *Dioscorea* mostraram que grãos de pólen de tamanho pequeno, médio e grande, são estados de caráter plesiomórfico derivados dos grupos externos: *Trichopus*, *Stenomeris* e *Tacca*. Foi possível registrar em *Tacca*, grãos de pólen de tamanho grande caracterizando uma sinapomorfia do gênero. Os dados palinológicos mostraram que todos os táxons estudados para *Tacca* possuem o mesmo estado (tamanho grande), sendo este estado exclusivo para *Tacca* na família, corroborando com o monofiletismo apontado na proposta de Couto *et al.* (2018). Em *Dioscorea* o estado de caráter tamanho, não caracteriza uma sinapomorfia, pois grãos de pólen variam entre pequeno e médio em *Dioscorea*, e são estados de caráter compartilhados também por *Trichopus* e *Stenomeris*.

De acordo com os autores Walker (1974, 1976), Zavada (1983) e Luo *et al.* (2015), caracteres polínicos como tamanho estão relacionados com as estratégias de polinização, podendo também estar relacionado às características do habitat e fatores abióticos como vento, água, umidade, desempenhando grande importância sobre a evolução morfológica do grão de pólen. De fato, as espécies de *Tacca* apresentam história evolutiva distinta do restante da família, sendo possível inclusive observar claras diferenças no hábito das espécies e nos habitats ocupados por elas.

Schol *et al.* (2005) e Wilkin *et al.* (2005) agregaram dados de caracteres polínicos (tamanho, número de abertura, ornamentação da sexina, densidade da perfuração e ausência ou presença de orbículo) e realizaram a reconstrução na árvore filogenética de análise de *rbcL* e *matK*, com reduzido número de terminais. Os autores observaram que em *Dioscorea* o tamanho do grão de pólen apresenta redução nos clados derivados. No presente estudo, o tamanho grande do grão de pólen caracteriza um estado plesiomórfico, não estando presente em *Dioscorea*, clados derivados apresentaram os tamanhos pequeno e médio, corroborando a hipótese dos autores citados acima.

### **Aberturas**

No presente estudo polínico, os representantes do clado *Stenophora* se mostraram divididos na sua maioria em grãos de pólen monossulcados (11 spp.), grãos de pólen monossulcados e dissulcados no mesmo espécime (4 spp.) e apenas *D. collettii* com grãos de pólen dissulcados. Essa hipótese foi observada como uma tendência evolutiva para o aumento do número de aberturas, de monossulcado para dissulcado, preservando ainda os dois estados de caráter na maioria dos clados. De acordo com Furness *et al.* (2013), os grupos externos de Dioscoreaceae e outras famílias de Dioscoreales, apresentam grãos de pólen com abertura monossulcada.

Os dados palinológicos mostraram que o caráter número de aberturas no grupo externo (*Stenomeris*, *Trichopus* e *Tacca*), foi definido como característica plesiomórfica: todos apresentaram grãos de pólen com apenas uma abertura (monossulcados). Segundo Furness *et al.* (2004) as espécies com grãos de pólen monossulcados ou derivados de monossulcados representam uma série de angiospermas basais (incluindo as monocotiledôneas). De acordo com os dados palinológicos aqui registrados, foi possível observar que em *Dioscorea* o aumento do número de aberturas (1-, 1- (2), 2-) se mostrou sustentado por todos os clados derivados, se caracterizando como uma sinapomorfia, corroborando com a hipótese de *Dioscorea* ser considerado um grupo monofilético (Caddick *et al.* 2002, Wilkin *et al.* 2005, Viruel *et al.* (2016, 2018) e Couto *et al.* (2018).

Nos clados NWI e NWII, observamos que a maioria das espécies apresentam grãos de pólen dissulcados, exceto: *D. humifusa*, *D. saxatilis*, *D. asperula*, *D. galeottiana* e *D. campestris* que apresentaram grãos de pólen monossulcados e dissulcados no mesmo espécime. Os dados palinológicos que se referem aos grãos de

pólen com 1 e 2 aberturas, podem ser caracterizado como uma tendência evolutiva em relação ao aumento no número de aberturas. Para Furness *et al.* (2004) os grãos de pólen com uma única abertura polar (sulcos) são encontrados em muitas angiospermas basais e com representantes em todas as famílias de Eudicotiledonea. O aperfeiçoamento deste carácter sobre a filogenia das Angiospermas, indica uma transição evolutiva na base do clado das eudicotiledôneas a partir de uma abertura para três aberturas. Os grãos de pólen monoaperturados ocorrem em algumas ordens, incluindo Dioscoreales (Burmanniaceae 1-2- porados e Dioscoreaceae 1-2- sulcos). No presente estudo polínico, observamos uma possível tendência de uma única abertura para as duas aberturas e podem estar relacionadas ao aumento da eficiência germinativa, corroborando com a hipótese filogenética proposta por Furness *et al.* (2004).

Segundo Viruel *et al.* (2016), o surgimento evolutivo para os táxons *D. pyrenaica* e *D. chouardii* (subclado *Borderea*) teve início no Plioceno e os táxons *D. communis* e *D. orientalis* (subclado *Tamus*) teve início no Mioceno. Os dois juntos formam o clado Mediterranean, segundo Couto *et al.* (2018). No presente estudo, os dados palinológicos registraram grãos de pólen com ambas as aberturas (1- (2) em *D. orientalis* e *D. pyrenaica* (apesar de não possuírem o surgimento evolutivo na mesma época) e em *D. communis*, os grãos de pólen apresentaram apenas duas aberturas. Podemos considerar a hipótese de que dentre as espécies acima, houve uma transição evolutiva em relação ao estado de carácter número de aberturas.

No clado Africa, *D. kituiensis* e *D. gillettii* são espécies irmãs, de origem Keniana. *Dioscorea kituiensis* apresentou grãos de pólen com duas e uma aberturas e *D. gillettii* grãos de pólen com apenas 2 aberturas. Grãos de pólen que apresentaram as duas aberturas (monossulcado e dissulcado), é considerado uma tendência evolutiva no clado e todas as espécies apresentam esse estado de carácter. O carácter monossulcado, ainda presente em *D. kituiensis* e *D. gillettii* foi considerado uma característica simplesiomorfia.

Couto *et al.* (2018), propõem um grande clado de *Dioscorea*, das linhagens representantes do Velho Mundo (figura 2-B), com exceção de *D. mollis* que é a única espécie do Novo Mundo e se posicionou no Velho Mundo. Os dados polínicos utilizados neste estudo, registraram que o táxon *Dioscorea bulbifera*, apresentou grãos de pólen com 1 e 2 aberturas e se posicionou como irmã de *D. mollis* e *D. antaly* que apresentaram grãos de pólen dissulcados. O clado *Dioscorea* (Figuras 2 A-B), apresentou uma forte tendência evolutiva para o aumento do número de aberturas de

monossulcado para dissulcado, preservando ainda os dois estados de carácter com grãos de pólen com 1- (2-) aberturas, na maioria dos clados sendo representado por 18 espécies nos clados: *Stenophora*: *D. quinquelobata*, *D. deltoidea*, *D. nipponica* e *D. caucasica*; *Microdioscorea*: *D. humifusa*; New World I: *D. saxatilis* e *D. asperula*; New World II: *D. galeottiana* e *D. campestris*; Mediterranean: *D. orientalis* (*Tamus*) e *D. pyrenaica* (*Borderea*); Africa: *D. kituiensis*; Malagasy: *D. bemarivensis*, *D. arcuatinervis*, *D. fandra*, *D. maciba* e *D. hexagona*; *D. bulbifera*: faz parte do clado *Dioscorea* Velho Mundo). O grupo externo representado pelo clado Dioscoreaceae hermafroditas, apresentaram apenas grãos de pólen monossulcados.

*Dioscorea sansibarensis* com grãos de pólen dissulcados se posicionou como espécie irmã do clado Malagasy onde a maioria das espécies apresentou grãos de pólen com 1 e 2 aberturas, com exceção de *D. alatipes*, *D. namorokensis* e *D. soso*, todas são de Madagascar e apresentaram grãos de pólen dissulcados.

### **Ornamentação**

No clado dos gêneros hermafroditas de Dioscoreaceae registramos as seguintes ornamentações da sexina: rugulada (*Stenomeris*); espiculada (*Trichopus*) e perfurada (*Tacca*), que são consideradas características plesiomórficas. No entanto, no clado *Dioscorea*, observamos as seguintes ornamentações da sexina para o gênero *Dioscorea*: estriada, reticulada, microrreticulada, cristada, verrucada, vermiculada, cerebroide, birreticulada, gemada e foveolada.

Zavialova & Gomankov (2009), observaram que os tipos de ornamentação perfurado-fosseolada; rugulado e reticulado podem ser um estado ancestral em potencial nas Angiospermas conforme os dados da parcimônia de Fitch. Entretanto, a ornamentação rugulada foi registrada por Lu Lu *et al.* (2015), como o tipo mais provável de plesiomorfia das angiospermas. Para *Trichopus*, observamos a ornamentação espiculada, caracterizada por pequenos espinhos. Segundo MC Dougall (1987), a ornamentação verrugada coberta com pequenos espinhos, foi registrada em uma das angiospermas mais antigas que também apresentam grão de pólen monossulcados. Walker & Doyle (1975) e Doyle (2005), sugerem que nas angiospermas o estado ancestral do carácter ornamentação da sexina é o psilado (teto imperfurado), seguida pela ornamentação perfurada (teto perfurado) e tipo reticulado (semi-tectado). As hipóteses evolutivas relativas à da parede do grão de pólen oferecem grande potencial na informação filogenética. Os resultados aqui obtidos mostraram *Tacca*

(grupo externo) como grupo monofilético tendo como sinapomorfia a ornamentação da sexina perfurada.

A morfologia polínica aqui apresentada demonstrou que o sentido da tendência evolutiva dos estados de caráter para as ornamentações em *Dioscorea* são plesiomórficas para: rugulada, espiculada e sinapomorfias para: perfurada, estriada e estados de caráter derivados para: sexina gemada, verrucada e cerebroide.

Segundo Walker & Doyle (1975), a ornamentação da sexina perfurada é considerada uma característica plesiomórfica nas Angiospermas. Conforme nossos dados polínicos, a ornamentação da sexina perfurada em *Dioscorea* foi considerada uma plesiomorfia. A maioria dos clados em *Dioscorea* apresentaram ornamentação perfurada: *Stenophora*, New World I, New World II (figura 1), Compound Leaves, *Enantiophyllum* e *Shannicorea* (figura 2). Em *Stenophora* registramos *D. membranacea*; *D. collettii* e *D. caucasica* em New World I (*D. leptostachya*) e em New World II (*D. galleottiana* e *D. glomerulata*) como táxons que possuem ornamentação da sexina perfurada.

Para Schol *et al.* (2001), a ornamentação da sexina estriada da seção *Stenophora* pode ter surgido independentemente, devido a posição isolada da seção em análises moleculares e micromorfológicas, Caddick *et al.* (2002). Schol e colaboradores (2001), apresentaram a hipótese de que a ornamentação da sexina estriada evoluiu em *Dioscorea*: nas espécies representantes de Madagascar na seção *Stenophora* e em *Rajania* e possivelmente nas seções do Novo Mundo. Os autores sugeriram uma análise morfológica e molecular para investigar esta hipótese. Couto *et al.* (2018) realizaram estudos filogenéticos com análises de dados morfológicos e moleculares com um amplo número de espécies representando a grande diversidade do gênero. Segundo estes autores, grande parte das seções apresentadas por Knuth (1924) não constituem classificações infragenéricas com suporte filogenético, sendo necessário outras análises micromorfológicas como a palinologia para uma melhor resolução. Com base nos dados palinológicos apresentados no presente estudo, foi possível observar a ornamentação da sexina estriada nos clados *Stenophora*, New World I, New World II (figura 1), Compound Leaves, Africa, *Rajania* e Malagasy (figura 2).

No presente estudo, a morfologia polínica da espécie *D. asperula*, se destacou de todas as outras espécies do clado *Dioscorea* por ser a única no clado apresentar sexina do tipo cristada, representando uma autapomorfia para esse táxon. A espécie é pouco conhecida e endêmica do Brasil segundo a Flora do Brasil (2020). De origem do

Cerrado e da região biogeográfica Diagonal Seco, está posicionada no clado New World I, que teve origem entre o Eoceno – Oligoceno (Couto *et al.*, 2018). Espera-se que mais espécies da mesma região biogeográfica, que sejam proximamente relacionadas na filogenia ou que possuam morfologia floral semelhante sejam analisadas quanto os seus caracteres polínicos, de modo a comprovar que efetivamente configura-se uma autapomorfia.

Nossos dados palinológicos registraram ornamentação da sexina verrucada em *D. pedicellata*. Por ser a única espécie no clado *Dioscorea* a apresentar esse estado de caracter, consideramos uma autapomorfia. Sendo novamente necessário ampliar a amostragem de dados polínicos para comprovar essa possibilidade. Essa espécie surgiu no início do Mioceno (Viruel *et al.*, 2016), ocorrendo atualmente no Chile, tendo origem na região dos Andes dos Sul. Está posicionada em New World I como espécie irmã do clado ‘*Epipetrum*’ (clado de espécies anãs chilenas) segundo Couto *et al.* (2018).

A ornamentação da sexina cerebroide foi observada em *D. piperifolia* e *D. exalata*. *Dioscorea piperifolia* tem origem provável no final do Mioceno (Viruel *et al.*, 2016), ocorrendo amplamente na região neotropical. Atualmente, está posicionada no clado New World II como irmã de *D. grandiflora* (de ornamentação da sexina espiculada), segundo Couto *et al.* (2018). *Dioscorea exalata* tem origem provável no Pleistoceno e, está posicionada no clado *Enantiophyllum* e representa as espécies do Velho Mundo (Viruel *et al.*, 2016).

Schol *et al.* (2005) realizaram a reconstrução de caracteres polínicos (tamanho, número de abertura, ornamentação da sexina, densidade da perfuração e ausência ou presença de orbículo) na árvore filogenética de análise de *rbcL* e *matK* realizada por Wilkin *et al.* (2005), sendo observado pelos autores que em *Dioscorea* a ornamentação da sexina perfurada é uma característica pleisiomórfica e a estriada evoluiu mais de uma vez. A ornamentação da sexina estriada vem sendo uma característica do clado Malagasy (formado por espécies endêmicas de Madagascar (Couto *et al.* 2018).

As espécies *D. pyrenaica* e *D. alatipes* são representantes das espécies do Velho Mundo, apesar de estarem posicionadas em cladogramas diferentes (Mediterranean e Malagasy respectivamente), possuem sexina gemada. De acordo com Viruel *et al.* (2016), as espécies não apresentam ligação em seu surgimento geográfico. *Dioscorea pyrenaica* se originou no final do Plioceno estando posicionada no subclado Mediterranean (*Borderea*). *Dioscorea alatipes* se originou no final do Mioceno e não



pertence à mesma região biogeográfica ou tem a mesma distribuição ancestral de *D. pyrenaica*. Demonstrando que a ornamentação da sexina gemada pode ter surgido em diferentes momentos em *Dioscorea*, tendo seus representantes atuais histórias evolutivas distintas.

Segundo Couto *et al.* (2018) as espécies *D. kituiensis* e *D. gillettii* formaram um clado monofilético irmão de *D. burcheli* e encontram-se posicionadas no clado África. Os grãos de pólen destas espécies apresentaram ornamentação estriada, corroborando a hipótese referida pelos autores. As espécies *Dioscorea mollis* e *D. antaly* se posicionaram como espécies irmãs (figura 2). *Dioscorea mollis* é endêmica da Mata Atlântica (Sudeste da América do Sul) e única espécie endêmica do Neotrópico que se posicionou fora dos clados New World I, New World II e New World III. *Dioscorea antaly* endêmica da floresta tropófila (floresta seca) de Madagascar, sendo a única espécie endêmica da ilha e se posicionou fora do clado Malagasy. No presente estudo palinológico, identificamos que ambas as espécies se posicionaram fora dos seus respectivos clados. O estado de caracter ornamentação da sexina de *D. mollis* apresentou-se como microrreticulada e *D. antaly* como perfurada representando uma plesiomorfia.

Em *Testudinaria*, observamos que as espécies do clado possuem ornamentação rugulada, sendo uma possível sinapomorfia para o clado. Sendo este grupo de espécies muito característico, com aspecto morfológico único na família e habitat bastante específico na região sul do continente africano.

#### 4. CONCLUSÃO

A diversidade dos grãos de pólen apresentou uma grande contribuição quando aplicada a árvore filogenética de Couto *et al.* (2018). Demonstrando uma grande utilidade palinotaxonômica dentro da família Dioscoreaceae, diferenciando espécies próximas e proporcionando uma ampla base de dados sobre a história evolutiva dentro de *Dioscorea*.

Conclui-se que os resultados para o grupo externo quando considerado o carácter tamanho pequeno, médio e grande, foi considerado simplesiomorfia. Em *Dioscorea* o estado de carácter tamanho, não caracteriza uma sinapomorfia, pois grãos de pólen pequenos e médios em *Dioscorea* variam bastante no gênero.

Os grãos de pólen se caracterizaram com espécies que apresentaram uma abertura (monossulcados), duas aberturas (dissulcados) e 1-2 aberturas no mesmo espécime (monossulcados e dissulcados). As aberturas são caracteres de grande importância no processo de evolução da família. O grupo externo (*Stenomeris*, *Trichopus* e *Tacca*) apresentaram grãos de pólen monossulcados, definindo como característica plesiomórfica. No clado *Dioscorea* registramos grãos de pólen com 1 e 2 aberturas no mesmo espécime, caracterizando uma tendência evolutiva para o aumento de número de aberturas. Grãos de pólen dissulcados também podem representar uma inovação evolutiva entre as espécies do Novo Mundo.

O grupo externo representado pelo clado Hermaphrodite Dioscoreaceae apresentou as seguintes ornamentações da sexina: rugulada em *Stenomeris*; espiculada em *Trichopus* e perfurada em *Tacca*, que foram consideradas como características plesiomórficas. Enquanto no clado *Dioscorea*, foram registradas as ornamentações da sexina distintas e com grande variação: estriada, reticulada, microrreticulada, cristada, verrucada, vermiculada, cerebroide, birreticulada, gemada e foveolada.

Figura 1-A: Reconstrução do estado de caracter tamanho do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* (2018). (Árvore 1/2)



Figura 1- B: Reconstrução do estado de caracter tamanho do grão pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* (2018). (Árvore 2/2)

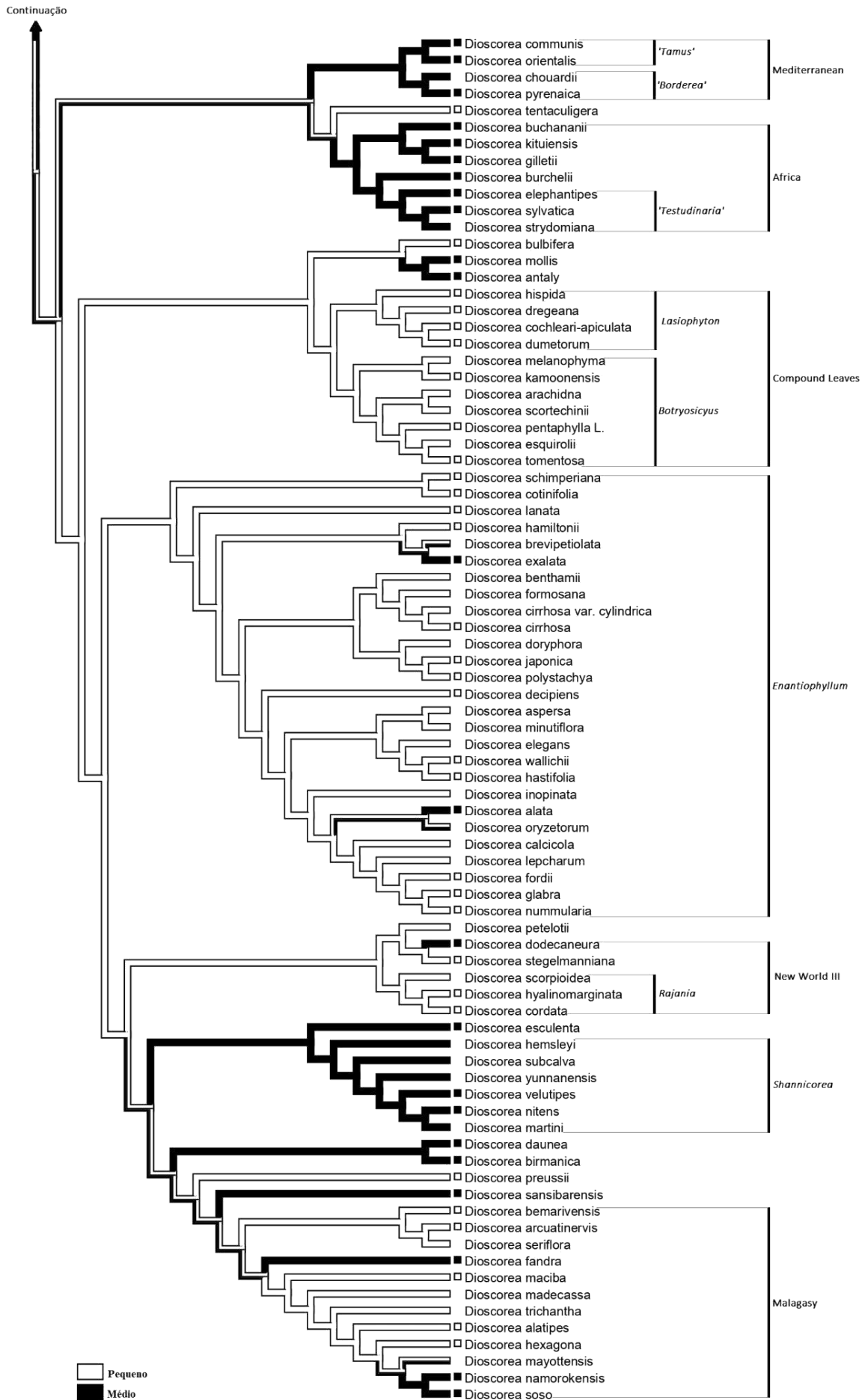


Figura 2-A: Reconstrução do estado de carácter *número de aberturas* do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* (2018). (Árvore 1 / 2)

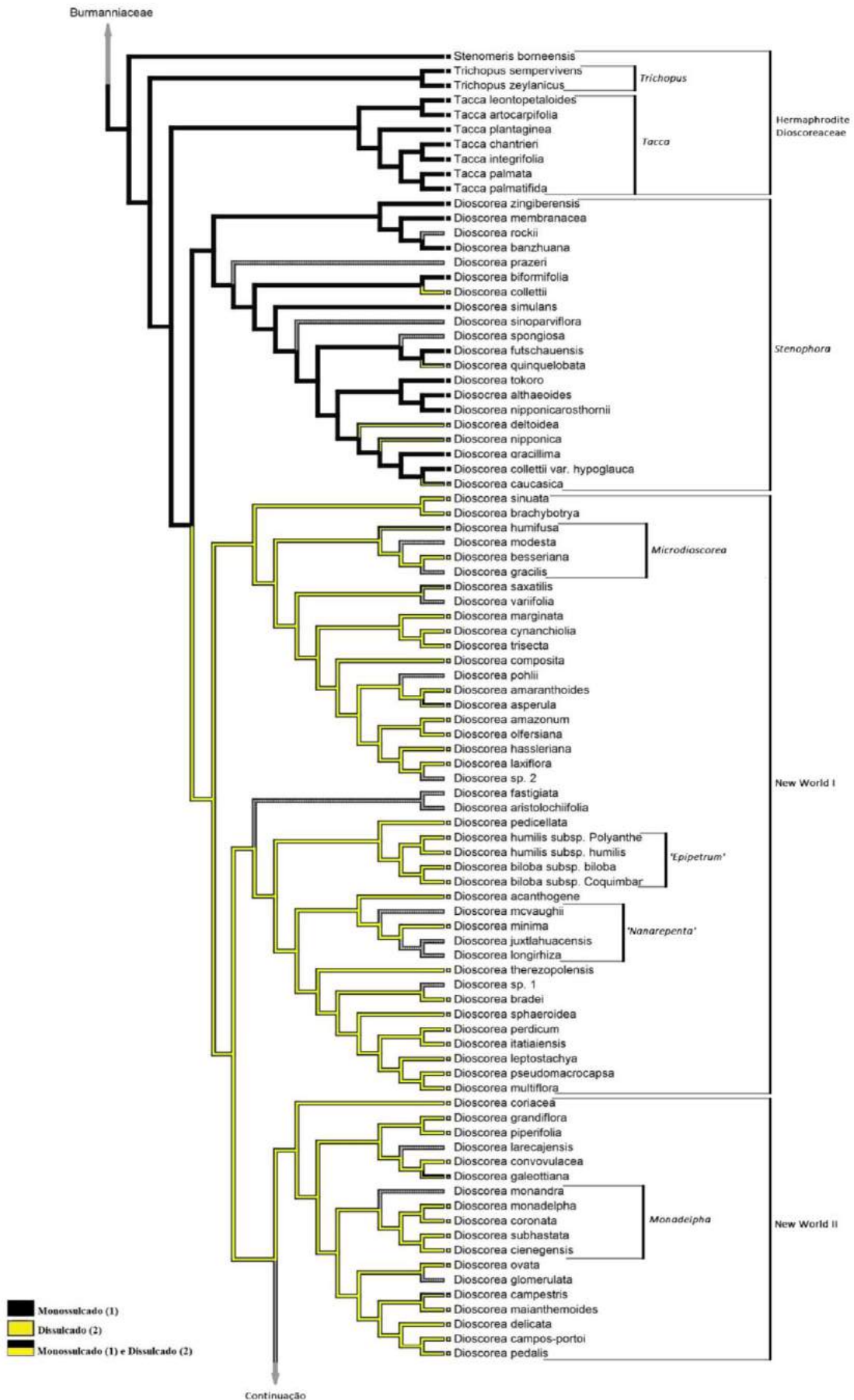


Figura 2-B: Reconstrução do estado de carácter *número de aberturas* do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* (2018). (Árvore 2 / 2)

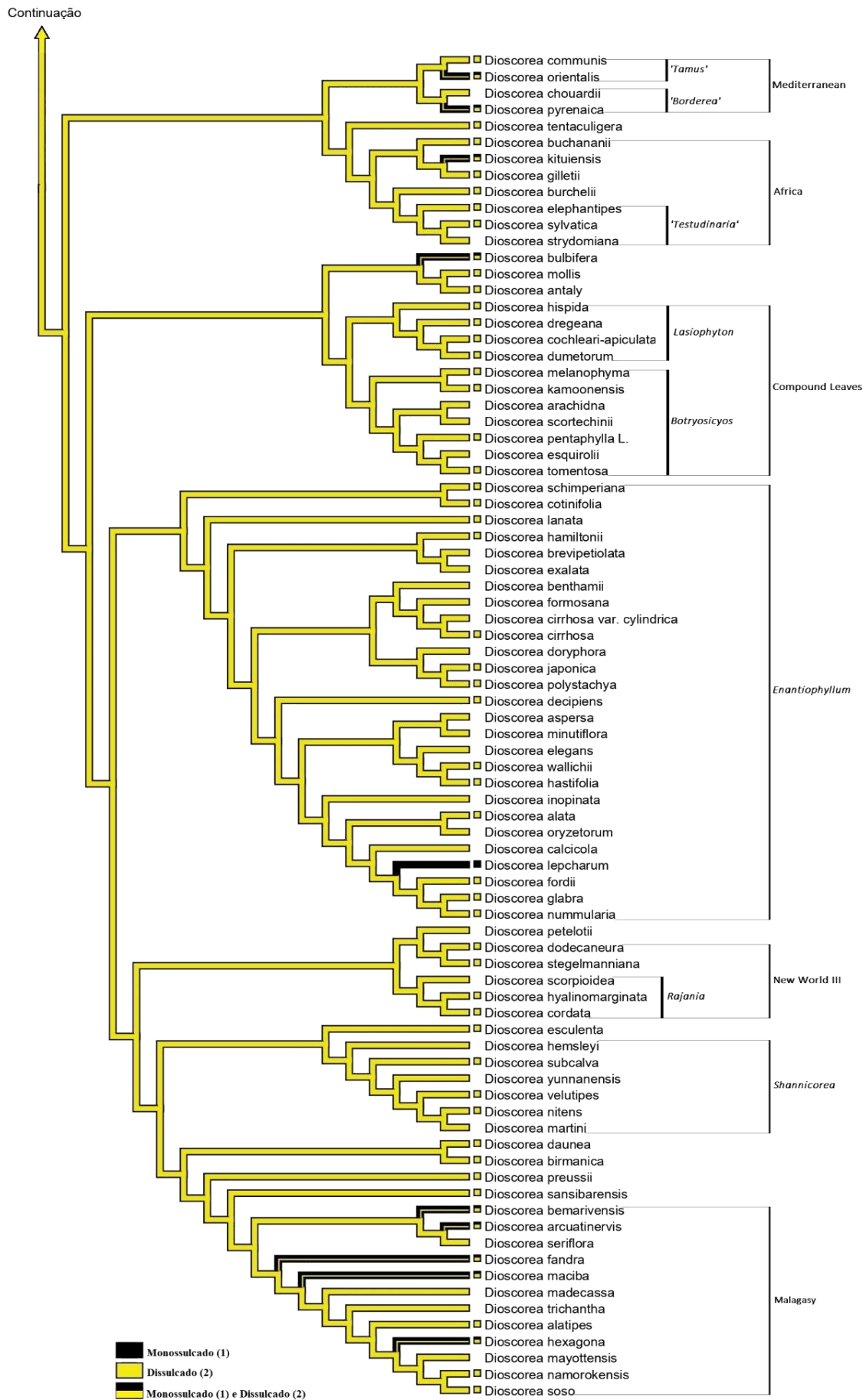


Figura 3-A: Reconstrução do estado de caráter *ornamentação da sexina* do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* (2018). (Árvore 1 / 2)

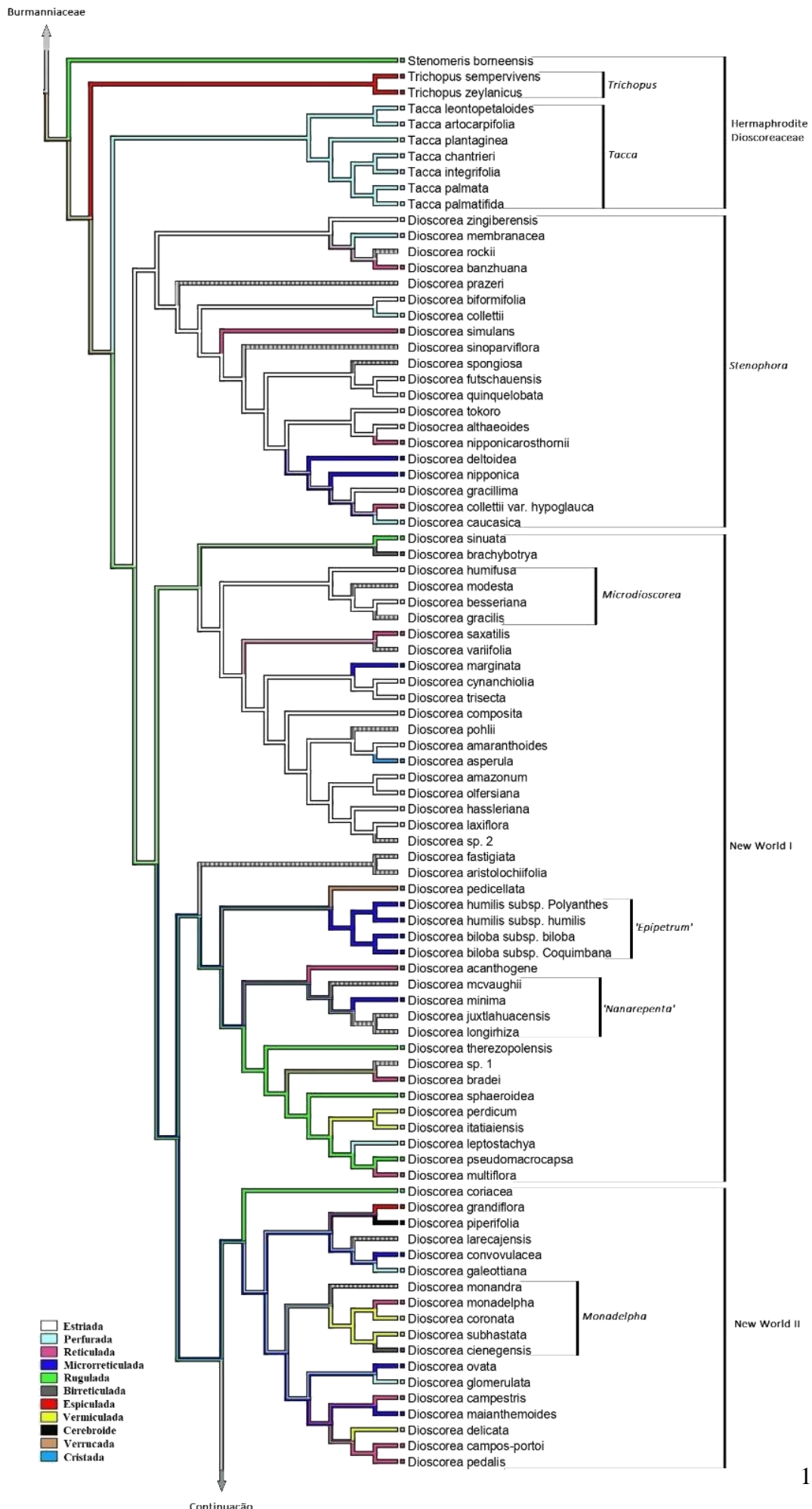


Figura 3-B: Reconstrução do estado de caráter *ornamentação da sexina* do grão de pólen na árvore de consenso da filogenia de Couto *et al.* (2018). (Árvore 2 /

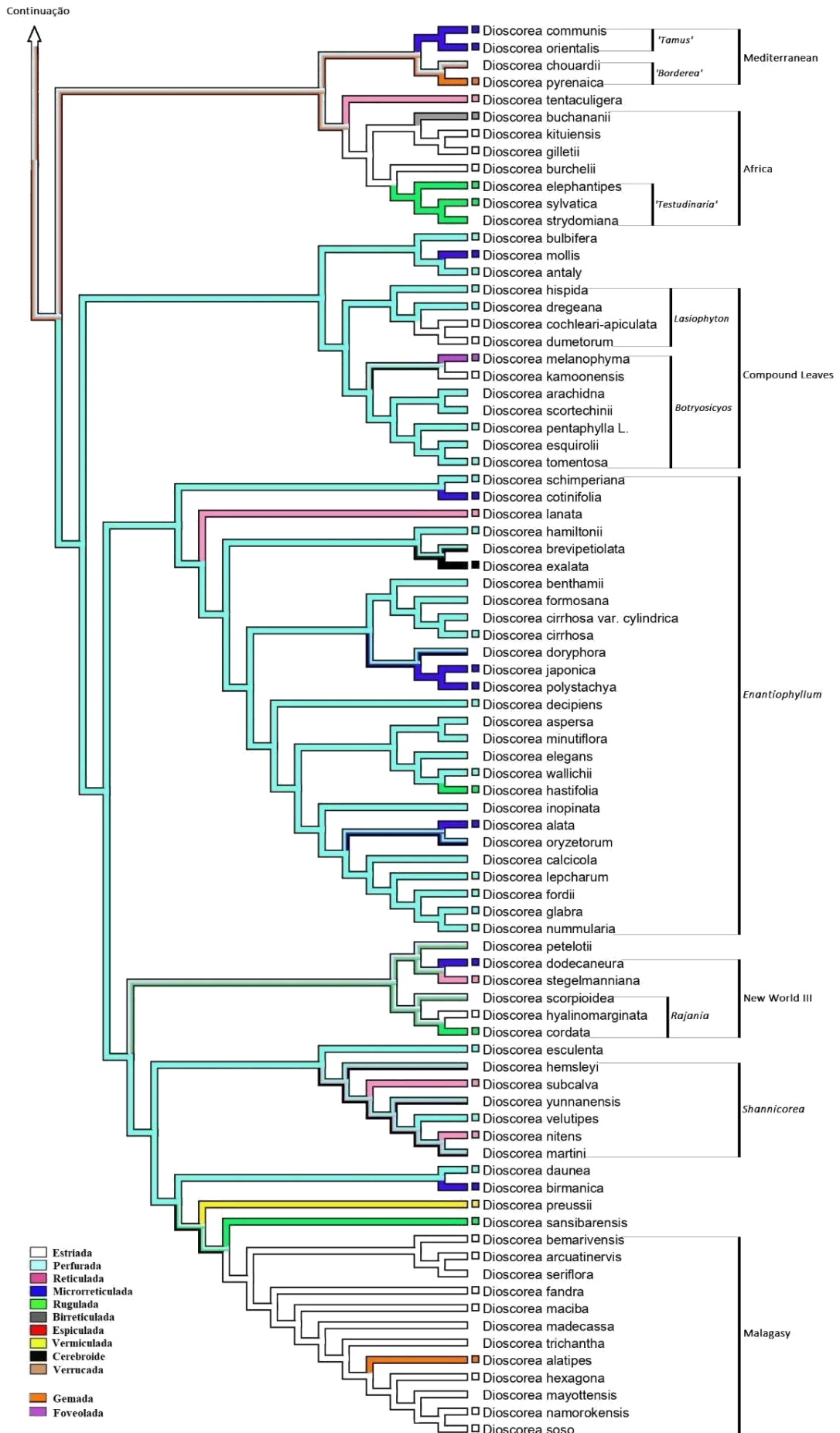




Tabela 3: Matriz dos caracteres polínicos e seus estados dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos

Espécies	Tamanho	Número de Aberturas	Ornamentação da Sexina
<i>Dioscorea acanthogene</i> Rusby	1	1	2
<i>Dioscorea alata</i> L.	1	1	1
<i>Dioscorea alatipes</i> Burkill & H.Perrier	0	1	8
<i>Dioscorea althaeoides</i>	1	0	0
<i>Dioscorea amaranthoides</i> Presl.	0	1	0
<i>Dioscorea amazonum</i> Griseb.	1	1	0
<i>Dioscorea antaly</i> Jum. & H.Perrier	1	1	1
<i>Dioscorea arcuatinervis</i> Hochr.	0	0&1	0
<i>Dioscorea asperula</i> Pedralli	0	0&1	'D'
<i>Dioscorea banzhuana</i> S.J.Pei & C.T.Ting	0	0	2
<i>Dioscorea bemarivensis</i> Jum. & H.Perrier	0	0&1	0
<i>Dioscorea besseriana</i> Kunth	1	1	0
<i>Dioscorea biformifolia</i> S.J.Pei & C.T.Ting	1	0	0
<i>Dioscorea biloba</i> (Phil.) Caddick & Wilkin subsp. <i>biloba</i>	1	1	3
<i>Dioscorea biloba</i> subsp. <i>coquimbana</i> Viruel, Segarra-Morages & Villar	1	1	3
<i>Dioscorea birmanica</i> Prain & Burkill	1	1	3
<i>Dioscorea brachybotrya</i> Poepp.	1	1	5
<i>Dioscorea bradei</i> R.Knuth	1	1	2
<i>Dioscorea buchananii</i> Benth.	1	1	5
<i>Dioscorea bulbifera</i> L.	0	0&1	1
<i>Dioscorea burchellii</i> Baker	1	1	0
<i>Dioscorea campestris</i> Griseb.	0	0&1	2
<i>Dioscorea campos-portoi</i> R.Knuth	0	1	2

Tabela 3: Matriz dos caracteres polínicos dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos

Espécies	Tamanho	Número de Aberturas	Ornamentação da Sexina
<i>Dioscorea caucasica</i> Lipsky	1	0&1	1
<i>Dioscorea cienegensis</i> R.Knuth	1	1	5
<i>Dioscorea cirrhosa</i> Lour	0	1	1
<i>Dioscorea cochleariaticulata</i> De Wild	0	1	1
<i>Dioscorea collettii</i> Hook. F.	0	1	1
<i>Dioscorea collettii</i> var. <i>hypoglauca</i> (Palib.) S.J.Pei & C.T.Ting	1	0	9
<i>Dioscorea communis</i> (L.) Caddick & Wilkin	1	1	3
<i>Dioscorea composita</i> Heml.	0	1	0
<i>Dioscorea convolvulacea</i> Schlttdl. & Cham.	0	1	3
<i>Dioscorea cordata</i> (L.) Raz	0	1	4
<i>Dioscorea coriacea</i> Humb. & Bonpl. ex Will	1	1	4
<i>Dioscorea coronata</i> Hauman	1	1	7
<i>Dioscorea cotinifolia</i> Kunth	0	1	3
<i>Dioscorea cynanchifolia</i> Griseb.	0	1	0
<i>Dioscorea daunea</i> Prain & Burkill	1	1	1
<i>Dioscorea decipiens</i> Hook.f.	0	1	1
<i>Dioscorea delicata</i> R. Knuth	0	1	7
<i>Dioscorea deltoidea</i> Wall. ex Griseb.	1	0&1	3
<i>Dioscorea dodecaneura</i> Vell.	1	1	3
<i>Dioscorea dregeana</i> (Kunth) T. Durand & Schinz	0	1	1
<i>Dioscorea dumetorum</i> (Kunth) Pax	0	1	1
<i>Dioscorea elephantipes</i> (L'Hér.) Engl.	1	1	4
<i>Dioscorea esculenta</i> (Lour.) Burkill	1	1	1

Tabela 3: Matriz dos caracteres polínicos dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos

Espécies	Tamanho	Número de Aberturas	Ornamentação da Sexina
<i>Dioscorea exalata</i> C.T.Ting & M.C.Chang	?	1	'A'
<i>Dioscorea fandra</i> H.Perrier	1	0&1	0
<i>Dioscorea fordii</i> Prain & Burkill	0	1	1
<i>Dioscorea futschauensis</i> Uline ex R.Knuth	1	0	0
<i>Dioscorea galeottiana</i> Knuth	1	0&1	1
<i>Dioscorea gillettii</i> Milne-Redh	1	1	0
<i>Dioscorea glabra</i> Roxb.	0	1	1
<i>Dioscorea glomerulata</i> Hauman	?	?	1
<i>Dioscorea gracillima</i> Miq.	0	0	0
<i>Dioscorea grandiflora</i> Klotzsch ex Kunth	1	1	6
<i>Dioscorea hamiltonii</i> Hook.F.	0	1	1
<i>Dioscorea hassleriana</i> Chodat	1	1	4
<i>Dioscorea hastifolia</i> Nees	0	1	4
<i>Dioscorea hexagona</i> Baker	0	0&1	0
<i>Dioscorea hispida</i> Dennst.	0	1	1
<i>Dioscorea humifusa</i> Poepp.	0	0&1	0
<i>Dioscorea humilis</i> subsp. <i>humilis</i> (F. Phil.) Viruel, Segarra & Villar	1	1	3
<i>Dioscorea humilis</i> subsp. <i>polyanthes</i> (F. Phil.) Viruel, Segarra & Villar	1	1	3
<i>Dioscorea hyalinomarginata</i> Raz	0	1	0
<i>Dioscorea itatiaiensis</i> R.Knuth	1	1	7
<i>Dioscorea japonica</i> Thunb.	0	1	3
<i>Dioscorea kamoonsensis</i> Knuth	0	1	1
<i>Dioscorea kituiensis</i> Wilkin & Muasya	1	0&1	0
<i>Dioscorea lanata</i> Bail	0	1	2

Tabela 3: Matriz dos caracteres polínicos dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos

Espécies	Tamanho	Número de Aberturas	Ornamentação da Sexina
<i>Dioscorea laxiflora</i> Mart. ex Griseb.	1	1	0
<i>Dioscorea lepcharum</i> Prain & Burkill	?	0	1
<i>Dioscorea leptostachya</i> Gardner	0	1	1
<i>Dioscorea longirhiza</i> Caddick & Wilkin	?	?	?
<i>Dioscorea maciba</i> Ju & H.Perrier	0	0&1	0
<i>Dioscorea maianthemoides</i> Uline ex R.Knuth	0	1	3
<i>Dioscorea melanophyma</i> Prain & Burkill	?	1	9
<i>Dioscorea membranacea</i> Pierre ex Prain & Burkill	0	0	1
<i>Dioscorea minima</i> C.B. Rob. & Seaton	1	1	3
<i>Dioscorea mollis</i> Kunth	1	1	3
<i>Dioscorea monadelphica</i> (Kunth) Griseb.	0	1	2
<i>Dioscorea multiflora</i> Mart. ex Griseb.	1	1	2
<i>Dioscorea namorokensis</i> Wilkin	1	1	0
<i>Dioscorea nipponica</i> Makino	0	0&1	3
<i>Dioscorea nipponica subsp. rosthornii</i> (Diels) C.T.Ting	1	0	2
<i>Dioscorea nitens</i> Prain & Burkill	1	1	2
<i>Dioscorea nummularia</i> Lam.	0	1	1
<i>Dioscorea olfersiana</i> Klotzsch ex Griseb.	0	1	0
<i>Dioscorea orientalis</i> (J. Thiébaud) Caddick & Wilkin	1	0&1	3
<i>Dioscorea ovata</i> Vell.	0	1	7
<i>Dioscorea pedalis</i> (R. Knuth) R.S.Couto et J.M.A.Braga	1	1	2
<i>Dioscorea pedicellata</i> Phil.	1	1	'C'
<i>Dioscorea pentaphylla</i> L.	0	1	1

Tabela 3: Matriz dos caracteres polínicos dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos

Espécies	Tamanho	Número de Aberturas	Ornamentação da Sexina
<i>Dioscorea perdicum</i> Taubert	1	1	7
<i>Dioscorea piperifolia</i> Humb. et Bonpl. ex Wil	1	1	‘A’
<i>Dioscorea polystachya</i> Turcz.	0	1	3
<i>Dioscorea preussii</i> Pax	0	1	7
<i>Dioscorea pseudomacrocapsa</i> Barroso et al.	0	1	4
<i>Dioscorea pyrenaica</i> Bubani & Bordère ex Gren.	1	0&1	8
<i>Dioscorea quinquelobata</i> Thunb.	0	0&1	0
<i>Dioscorea sansibarensis</i> Pax	1	1	4
<i>Dioscorea saxatilis</i> Poepp.	1	0&1	2
<i>Dioscorea schimperiana</i> Hochst. ex Kunth	0	1	1
<i>Dioscorea simulans</i> Prain & Burkill	1	0	2
<i>Dioscorea sinuata</i> Vell.	0	1	4
<i>Dioscorea soso</i> Jum & H.Perrier	1	1	0
<i>Dioscorea sphaeroidea</i> R.Couto & J.M.A.Braga	1	1	4
<i>Dioscorea stegelmanniana</i> R.Knuth	0	1	2
<i>Dioscorea subcalva</i> Prain & Burkill	?	1	2
<i>Dioscorea subhastata</i> Vell.	0	1	7
<i>Dioscorea sylvatica</i> Eckl.	1	1	4
<i>Dioscorea tentaculigera</i> Prain & Burkill	0	1	2
<i>Dioscorea therezopolensis</i> Unline ex R.Knuth	1	1	4
<i>Dioscorea tokoro</i> Makino ex Miyabe	0	0	0
<i>Dioscorea tomentosa</i> J. Köning ex Spreng	0	1	1
<i>Dioscorea trisecta</i> Griseb.	0	1	0

Tabela 3: Matriz dos caracteres polínicos dos táxons de *Dioscorea* e grupos externos

Espécies	Tamanho	Número de Aberturas	Ornamentação da Sexina
<i>Dioscorea velutipes</i> Prain & Burkill	1	1	1
<i>Dioscorea wallichii</i> Hook.F.	0	1	1
<i>Dioscorea zingiberensis</i> C.H.Wright	1	0	0
<i>Stenomeris borneensis</i> Oliv.	1	0	4
<i>Tacca artocarpifolia</i> Seem.	2	0	1
<i>Tacca chantrieri</i> André	2	0	1
<i>Tacca integrifolia</i> Ker Gawl.	2	0	1
<i>Tacca leontopetaloides</i> (L.) O.Kuntze	2	0	1
<i>Tacca palmata</i> Blume	2	0	1
<i>Tacca palmatifida</i> Baker	2	0	1
<i>Tacca plantaginea</i> (Hance) Drenth	2	0	1
<i>Trichopus sempervivens</i> (H.Perrier) Caddick & Wilkin	0	0	6
<i>Trichopus zeylanicus</i> Gaertn.	0	0	6

## 5. REFERÊNCIAS

AKORODA, M. O. 1985. Pollination Management for Controlled Hybridization of White Yam. *Scientia Horticulturae*, 25: 201--209 201.

ALZER, F.C. 2017. Palinotaxonomia de representantes de *Dioscorea* subgênero *Helmia* e *D.* subgênero *Dioscorea* (Dioscoreaceae) ocorrentes no neotrópico. Dissertação de Mestrado – Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ.

ALZER, F.C.; COUTO, R.S.; LOPES, R.C.; GONÇALVES-ESTEVEZ, V. & MENDONÇA, C.B.F. 2020. Palynotaxonomy of Neotropical species of *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae). *Palynology*, 45: 73-86.

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

BURKILL, I.H. 1960. The organography and the evolution of Dioscoreaceae, the family of the Yams. *Journal of the Linnean Society of London. Botany*, 56: 319–412.

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

CADDICK LR, WILKIN P, RUDALL PJ, HEDDERSON TAJ, CHASE MW. 2002. Yams reclassified: a recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscoreales. *Taxon*, 51(1): 103–114.

CHASE, M.W.; FAY, M.F.; DEVEY, D.S.; MAURIN, O.; RONSTED, N.; DAVIES, J.I.; PILLON, Y.; PETERSEN, G.; SEBERG O. & TAMURA. M.N. 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. *In Monocots: comparative biology and*

evolution (excluding Poales). *Edited by* J. T. Columbus, E. A. Friar, J. M. Porter, L. M. Prince and M. G. Simpson. Rancho Santa Ana Botanic Garden, Claremont, Calif. pp. 63–75.

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

COUTO, R.S. 2015. Filogenia de *Dioscorea* subgênero *Helmia* (Dioscoreaceae) com ênfase no neotrópico e revisão de *Dioscorea* seção *Monadelphpha*. Tese Doutorado – Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ.

COUTO, R.S.; MARTINS, A.C.; BOLSON, M.; LOPES, R.C.; SMIDT, E.C. & BRAGA, J.M.A. 2018. Time calibrated tree of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) indicated four origins of yams in the Neotropics since Eocene. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 20: 1-17.

COUTO, R.S.; FRAGA, F.R.M. 2020. *Dioscoreaceae in Flora do Brasil 2020*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB35282>>. Acesso em: 01 jan. 2022.

DOYLE, J.A. 2005. Early evolution of angiosperm pollen as inferred from molecular and morphological phylogenetic analyses. *Grana*, 44: 227-251.

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

FURNESS, C. A. & RUDALL, P. J. 2004. Pollen and aperture evolution - a crucial factor for eudicot success? *Trends in Plant Science*, 9: 154–158.



FURNESS, C.A. 2013. Diversification of pollen and tapetum in early-divergent monocots. *In: Wilkin, P, & Mayi S. (Eds.), Early Events in Monocot Evolution (Systematics Association Special), Cambridge University Press. Cambridge. Pp. 82–98. doi:10.1017/cbo9781139002950.005*

GOVAERTS, R.; WILKIN, P.; SAUNDERS, R.M.K. 2007. World checklist of Dioscoreales: yams and their allies. Royal Botanic Gardens, Kew.

GRISEBACH, A. 1842. Dioscoreaceae. in Martius *et al.*, A. G. (eds.), Flora brasiliensis. 3(1): 26-48.

HAUMAN, L. 1915. Les Lobelia géants des montagnes du Congo Belge. *Dioscorea Alimentaires et Toxiques* 49, et IX, 2, p.271.

HESSE, M.; HALBRITTER, H.; ZETTER, R.; WEBER, M.; BUCHNER, R.; FROSCH-RADIVO, A. & ULRICH, F. 2009. Pollen terminology. An illustrated handbook. New York, NY: Springer Wien New York.

HUTCHINSON, J. 1934. The families of flowering plants, II: Monocotyledons. 1st. ed. London, MacMillan.

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

LI, M.M.; YAN, Q.Q.; SUN, X.Q.; ZHAO, Y.M.; ZHOU, Y.F. & HANG, Y.Y. 2014. A preliminary study on pollination biology of three species in *Dioscorea* (Dioscoreaceae). Life Science Journal, 11(2):436-444.

LINNAEUS, C. 1753. Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas ad genera relatas. Holmiae, Impensis Laurentii Salvii. Tomo 2, p. 1032-1034.

LU, L.; WORTLEY, A. H.; Li, Z.; WANG, H. & BLACKMORE, S. 2015. Evolution of Angiosperm Pollen. 2. The Basal Angiosperms. Annals of the Missouri Botanical Garden, 100(3):227-269.

LUO, Y.; LU, L.; WORTLEY, A. H.; LI, Z.; WANG, H. & BLACKMORE, S. 2015. Evolution of Angiosperm Pollen. 3. Monocots. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 101(2):406-455.

HUGHES, N. F. & MCDOUGALL, A. B. 1987. Records of angiospermid pollen entry into the English Early Cretaceous succession. *Review of Palaeobotany and Palynology* 50: 255–272.

MADDISON, W. P. & MADDISON, D. R. 2019. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis, version 3.61.

MELHEM, T.S.; CORRÊA, A.M.S.; MAKINO-WATANABE, H.; CRUZ-BARROS, M.A.V.; SILVESTRE-CAPELATO, M.S.F. & ESTEVES, V.G. 2003. Variabilidade polínica em plantas de Campos de Jordão (São Paulo, Brasil). *São Paulo. Boletim do Instituto de Botânica*, 16: 16-104.

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

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

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

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

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

SCHOLS P, FURNESS CA, MERCKX V, WILKIN P, SMETS E. 2005b. Comparative pollen development in Dioscoreales. *International Journal of Plant Sciences*. 166(6):909–924.

SHEIKH, N.& KUMAR, Y. 2017. Morphology of flower, pollen and orbicules of Meghalayan *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae), North-East India: A pivotal taxon in the evolution of monocot. *Asian Journal Biological Sciences*, 12 (2): 223-232.

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

ULINE, E.H. 1897. Dioscoreaceae. In: Engler, A. & Pratl, K. (eds.). *Pflanzenfam.*, 2(5): 80-87.

ULINE, E.H. 1898. Eine monographie der Dioscoreaceen. *Engler's Bot. Jahrb.* 25: 126-165.

VIRUEL, J.; SEGARRA-MORAGUES, J.G., PÉREZ-COLLAZOS, E.; VILLAR, L.; CATALÁN, P. 2010. Systematic revision of the *Epipetrum* group of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) endemic to Chile. *Systematic Botany* 35(1):40–63.

VIRUEL, J.; SEGARRA-MORAGUES, J. G.; RAZ, L.; FOREST, F.; SANMARTIN, I.; WILKIN, P.; CATALÁN, P. 2016. Late Cretaceous–Early Eocene origin of yams (*Dioscorea*, Dioscoreaceae) in the Laurasian Palaeartic and their subsequent Oligocene–Miocene Diversification. *Journal of Biogeography* 43: 750-762.

VIRUEL, J.; FOREST, F.; PAUN, O.; CHASE, M.W.; DEVEY, D.; COUTO, R.S.; SEGARRA-MORAGUES, J.G.; CATALÁN, P.; WILKIN, P. 2018. A nuclear *Xdh* phylogenetic analysis of yams (*Dioscorea*: Dioscoreaceae) congruent with plastid trees reveals a new neotropical lineage. *Botanical Journal of the Linnean Society* 20: 1-15.

WALKER, J.W. 1974. Aperture evolution in the pollen of primitive angiosperms. *American Journal of Botany* 61: 1112-1137.

WALKER, J. W. & DOYLE, J. A. 1975. The basis of angiosperm phylogeny: palynology. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 62: 270-664.

WALKER, J. W. 1976. Evolutionary significance of the exine in the pollen of primitive angiosperms. Pp. 1112–1137 in I. K. Ferguson & J. Muller (editors), *The Evolutionary Significance of the Exine*. Academic Press, London.

WILKIN, P.; RAKOTONASOLO, F.; SCHOLS, P. & FURNESS, C. A. 2002. A new species of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) from Western Madagascar and its pollen morphology. *Kew Bulletin* 57: 901 – 909.

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

WORTLEY, A. H., WANG, H., LU, L., LI, Z., and BLACKMORE, S. 2015. Evolution of Angiosperm Pollen. 1. Introduction. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 100(3):177-226.

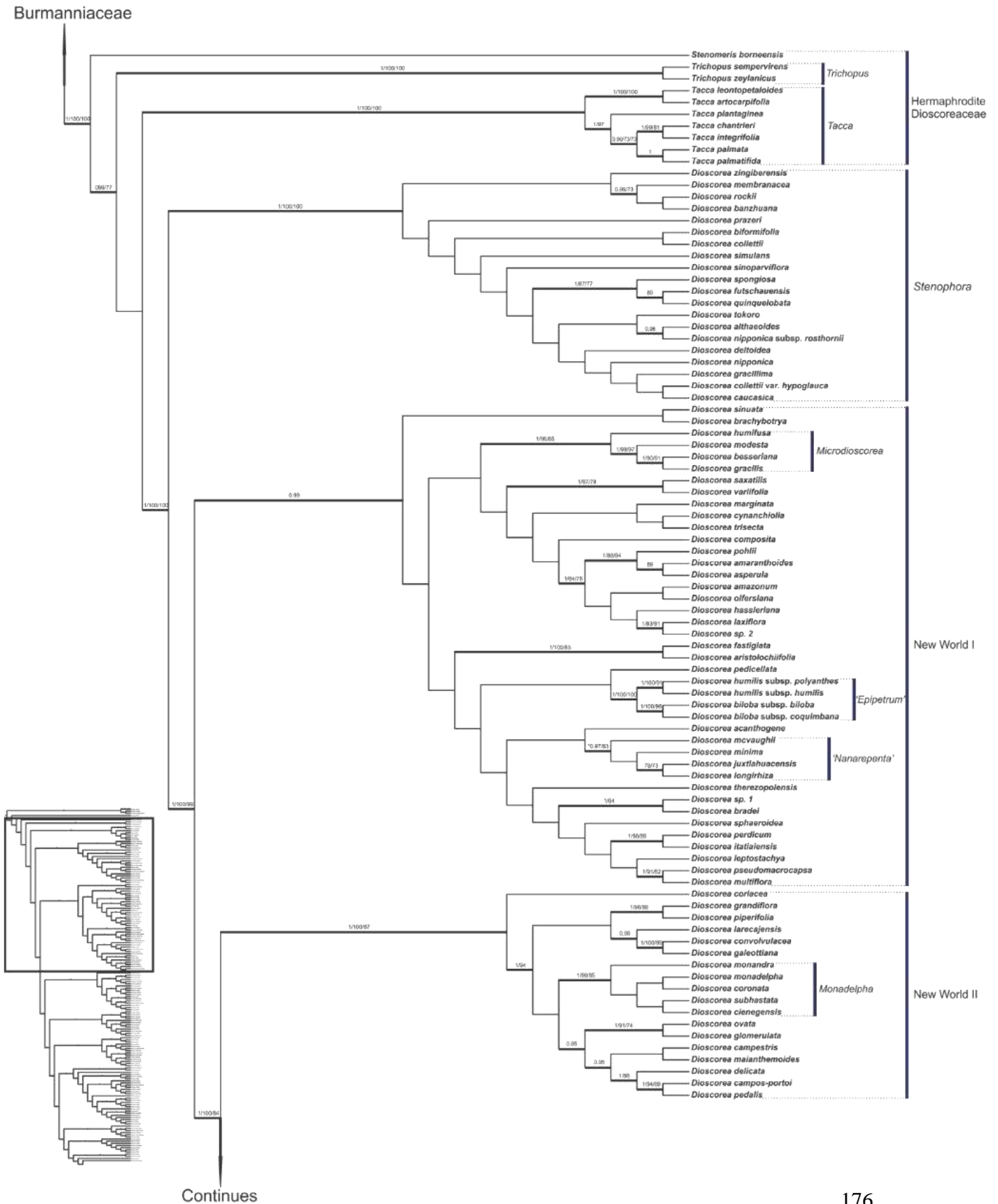
XIFREDA CC. 2000. Evaluation of pollen and vegetative characters in the systematics of South American species of *Dioscorea* (Dioscoreaceae). In: Wilson KL, Morrison DA, editors. *Monocots: Systematics and Evolution*. Melbourne (Australia): Collingwood; p. 488–496.

XIFREDA, C. C. e SEO, M. N. 2009. Aportes Botánicos de Salta - Ser. Flora Herbario Mcns Facultad de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Salta Buenos Aires 177 - 4400 Salta - República Argentina.

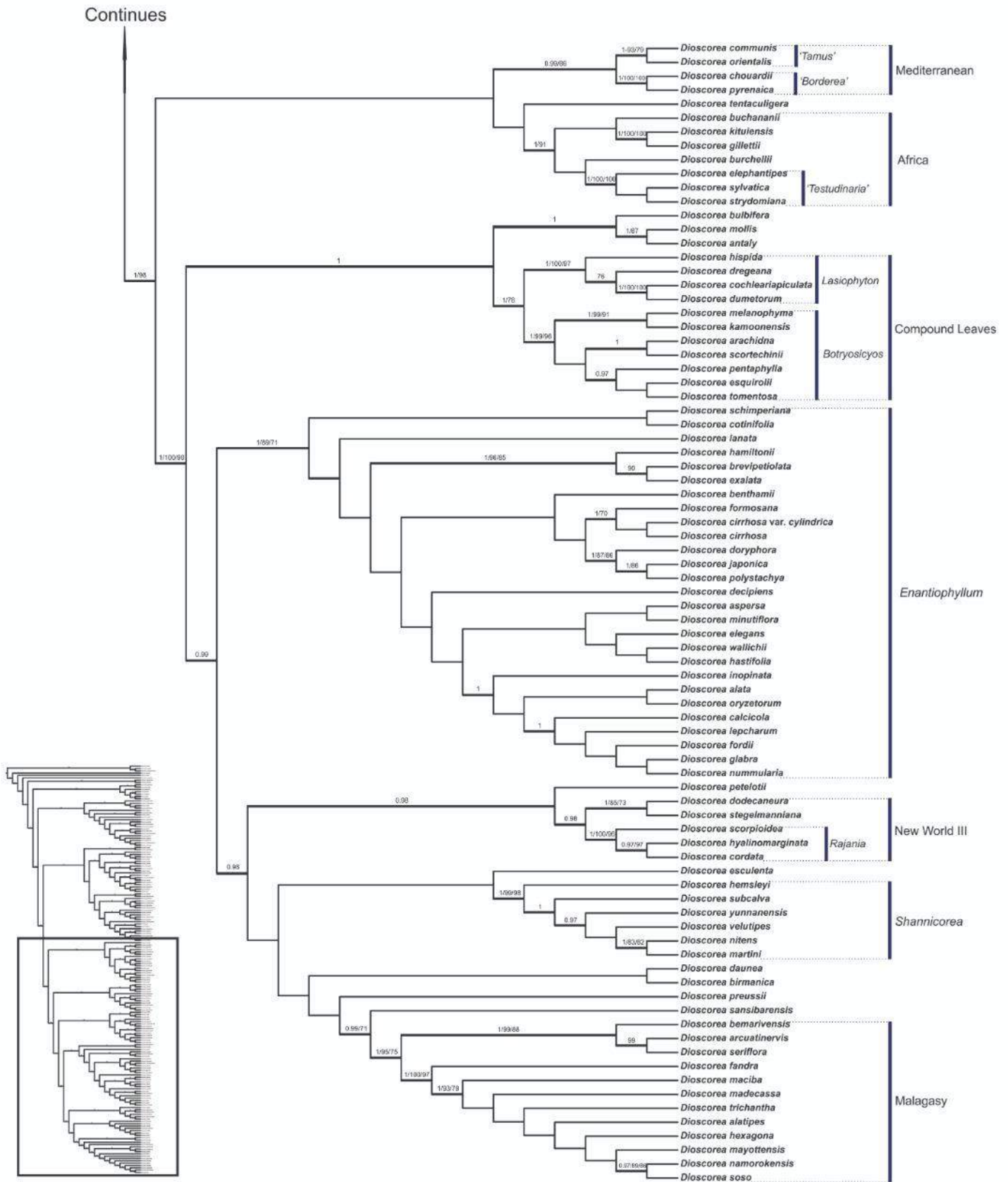
ZAVADA, M.S., 1983. Comparative morphology of monocot pollen and evolutionary trends of apertures and wall structures. *The botanical review*, 49(4): 331-379.

ZAVIALOVA, N. E. & GOMANKOV, A. V. 2009. Occurrence of angiosperm-like ultrastructural features in gymnosperm pollen from the Permian of Russia. *Review Palaeobotany. Palynology*, 156: 79–89.

ANEXO 1: Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.* (2018). (parte 1/2)



ANEXO 1: Árvore filogenética do gênero *Dioscorea* de máxima verossimilhança (ML) derivada da análise de 176 táxons adaptada de Couto *et al.*, 2018. (parte 2/2)



*Dioscorea* apresentou uma ampla variabilidade morfológica que foram aqui registrados, com uma extensa abrangência de dados e uma grande quantidade de espécies rica em diversidades.

A palinologia aplicada à sistemática de *Dioscorea* corroborou com a hipótese filogenética de Couto *et al.* (2018), resultando em um ótimo banco de dados para agregar informações para a taxonomia e sistemática do gênero.

A morfologia polínica permitiu desenvolver e analisar a similaridade das espécies neste estudo, representantes das linhagens de *Dioscorea* anãs, análise multivariada e o critério da classificação sistemática e filogenética atualmente aceita. Os caracteres polínicos analisados foram forma, tamanho, número de aberturas, tamanho do sulco, distância entre aberturas, margem, estrutura da parede e ornamentação da sexina, destacamos o número de abertura e a ornamentação da sexina com um grande potencial para o gênero.

Nossos dados palinológicos demonstraram grãos de pólen em *Dioscorea* em mônades, heteropolares, contorno elíptico variando em algumas espécies (triangular e circular) e nove tipos diferentes de ornamentação da sexina: perfurado, estriado, microrreticulado, rugulado, birreticulado, reticulado, vermiculado, verrucado e cristado. As espécies que apresentaram ornamentação da sexina estriada foram organizadas em seis subtipos baseados na caracterização e disposições dos cordões das estrias.

Com o registro dos caracteres número de abertura e ornamentação da sexina, e a ajuda da análise multivariada, foi possível dividir ou reunir as espécies em 3 cluster. No cluster 1 as espécies se posicionaram com ornamentações variadas (verrucada, reticulada, birreticulada, rugulada, microrreticulada e estriada). No cluster 2: registramos o posicionamento de *Dioscorea asperula*, única espécie com ornamentação da sexina cristada e grãos de pólen monossulcados e dissulcados no mesmo espécime. No cluster 3: posicionou as *sp. novas 1 e 2*. A maioria das espécies com ornamentação perfurada, exceto *D. pentaphylla* (cluster 2). Das 24 espécies posicionadas, apenas 4 apresentaram grãos de pólen médios, as outras 20 foram registradas com grãos de pólen de tamanho pequeno.

A morfologia polínica corroborou o monofiletismo de *Dioscorea*. Os dados palinológicos utilizados na hipótese filogenética de Couto *et al.* (2018), trouxe um

aprimoramento de dados específicos para *Dioscorea*, sugerindo a inclusão na matriz dos dados morfológicos e moleculares, combinando esses dados para elaborar uma hipótese mais completa para a reconstrução do ancestral polínico, através da história evolutiva dos grãos de pólen em *Dioscorea* (Dioscoreaceae).

O estudo palinológico em *Dioscorea*, sustentou os clados e diferenciou alguns táxons a uma nova classificação infragenérica, agregando uma extensa diversidade e variabilidade de informações ao valor taxonômico e filogenético, à sistemática da família.