

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

Bruna Palese Thies Lopes

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ECOLÓGICOS DA  
GINODIOICIA EM *Dasyphyllum brasiliense* (SPRENG.) CABRERA  
(BARNADESIOIDEAE, ASTERACEAE)**

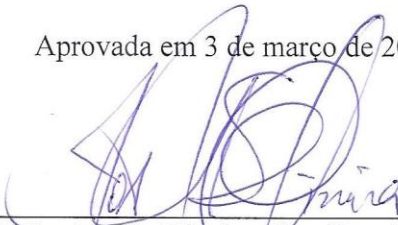
Santa Maria, RS  
2017

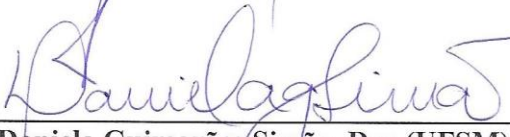
**Bruna Palese Thies Lopes**

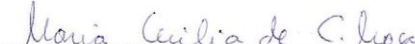
**ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ECOLÓGICOS DA GINODIOICIA EM**  
***Dasyphyllum brasiliense* (SPRENG.) CABRERA**  
**(BARNADESIOIDEAE, ASTERACEAE)**

Dissertação apresentada o curso de Pós Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**.

Aprovada em 3 de março de 2017

  
\_\_\_\_\_  
**João Marcelo Santos de Oliveira, Dr. (Presidente/Orientador)**

  
\_\_\_\_\_  
**Daniela Guimarães Simão, Dra (UFSM)**

  
\_\_\_\_\_  
**Maria Cecília de Chiara Moço, Dra (UFRGS)**

Santa Maria, RS  
2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Palese Thies Lopes, Bruna  
Aspectos morfológicos e ecológicos da ginodioiccia em  
*Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera  
(Barnadesioideae, Asteraceae) / Bruna Palese Thies  
Lopes.- 2017.  
58 p.; 30 cm

Orientador: João Marcelo Santos de Oliveira  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2017

1. Sistema sexual 2. abortamento 3. predação I. Santos  
de Oliveira, João Marcelo II. Título.

## DEDICATÓRIA

*Dedico a minha família que  
sempre me apoia e acredita  
na minha capacidade.*

## AGRADECIMENTOS

A concretização deste trabalho ocorreu com o auxílio de diversas pessoas que contribuíram de alguma maneira, sou grata a todas e em especial:

A minha mãe e alma gêmea Gislaine Palese, por todo amor, cumplicidade, por estar sempre ao meu lado e ser minha força e inspiração.

Ao meu pai Paulo Thies, por todo amor, apoio, motivação e aprendizado que me ajudaram a chegar até aqui.

Aos meus irmãos, vó, tios e toda a família, pela nossa união em todos os momentos, pelo afeto, zelo e apoio de sempre.

As minhas amigas de longa data, que sempre me motivam, acreditam em mim e estão comigo em qualquer momento.

Aos amigos que a biologia me deu, onde encontro paz, riso, amor e apoio nos momentos difíceis.

As duas pessoas que mais estiveram comigo nesse período, Cristina Cerezer, e Lucas Stefanelo, pelo apoio, alegrias compartilhadas e por todo auxílio técnico, imprescindível para a realização desse trabalho. A Cris, simplesmente por ser tão Cris na minha vida.

Aos colegas do Labote, desde os antigos aos mais novatos, por todo apoio, afeto e descontração, em especial a Marisa Binotto, por nos receber sempre com muito carinho e auxiliar nas atividades do laboratório e a Patrícia Kurtz, por todo aprendizado e apoio desde a iniciação científica.

Ao professor João Marcelo de Oliveira, pela orientação durante toda minha formação na UFSM, pela parceria e compreensão ao longo desse tempo.

A professora Thais Dorow, por nos permitir realizar nossos campos e coletas na chácara e pelo carinho desde a graduação.

A professora Maria Angélica Oliveira, pela ajuda que precisei inicialmente e por me receber carinhosamente quando a procurei. Também a professora Ana Beatriz, pelo auxílio na identificação dos insetos e disposição para me ajudar.

Ao professor Rubem Avila e Suiane pelo auxílio técnico, aprendizado e pelas imagens fornecidas.

Aos demais professores que contribuíram para minha formação. A UFSM pela oportunidade e a CAPES pelo apoio financeiro. **Muito Obrigada!**

*“Tudo tem o seu tempo  
determinado, e  
há tempo para todo  
propósito debaixo do céu”  
(Eclesiastes 3)*

## RESUMO

### ASPECTOS MORFOLÓGICOS E ECOLÓGICOS DA GINODIOICIA EM *Dasyphyllum brasiliense* (SPRENG.) CABRERA (BARNADESIOIDEAE, ASTERACEAE)

AUTORA: Bruna Palese Thies Lopes  
ORIENTADOR: João Marcelo Santos de Oliveira

*Dasyphyllum brasiliense* possui dois sistemas sexuais: monoico e ginodioico, sendo a população estudada caracterizada como ginodioica, constituída por indivíduos completos e pistilados. A evolução desse sistema depende da influencia do meio sobre a morfologia e biologia dos diferentes tipos florais. Estudos que unam estas áreas são extremamente importantes no entendimento da evolução da ginodioicia. Desta forma, este trabalho teve por objetivo comparar a morfologia floral, o desenvolvimento dos estames/estaminódios e aspectos ecológicos em uma população da espécie. Os diferentes indivíduos possuem claras diferenças de tamanho e morfologia das flores. As peças florais são maiores nos indivíduos completos, exceto ao estigma, que possui lobos maiores, além de conter mais tricomas e um grau de abertura mais amplo. As anteras de flores perfeitas possuem desenvolvimento comum para a família e o abortamento no outro morfo ocorre durante o desenvolvimento das camadas parietais, o que estabelece estes indivíduos como pistilados. Os indivíduos completos tem maior diversidade de visitantes florais, porém a espécie que mais participa da polinização em ambos é *Apis melifera*. Através destes dados e da fenologia, que mostra maior percentagem de fenofases em indivíduos completos na população, pode ser pensado que estes têm maior vantagem sobre os demais, porém os indivíduos pistilados ocorrem em maior número na população, fato que deve ter relação com a alta predação das sementes, provavelmente devido a atrativos como maior tamanho floral e presença de grãos de pólen como recurso alimentar. Esta predação faz parte do processo evolutivo, permitindo o controle populacional, de forma a manter os indivíduos pistilados. Sendo assim a teoria da alocação de recursos pode se estabelecer no processo evolutivo da espécie.

**Palavras-chave:** estigma, estilete, evolução, grão de pólen, predação.

**ABSTRACT****MORPHOLOGICAL AND ECOLOGICAL ASPECTS OF GYNODIOECY IN *Dasyphyllum brasiliense* (SPRENG.) CABRERA (BARNADESIOIDEAE, ASTERACEAE)**

AUTHOR: Bruna Palese Thies Lopes  
ADVISOR: João Marcelo Santos de Oliveira

*Dasyphyllum brasiliense* has two sexual systems: monoecious and gynodioecious, being the studied population characterized as gynodioecy, constituted by complete and pistillated individuals. The evolution of this system depends on the influence of the medium on the morphology and biology of the different floral types. Studies that unite these areas are extremely important in understanding the evolution of gynodioecy. In this way, the objective of this work was to compare the floral morphology, the development of stamens / staminodes and ecological aspects in a population of the species. The different individuals have clear differences in flower size and morphology. Floral pieces are larger in whole individuals except stigma, which has larger lobes, in addition to containing more trichomes and a wider degree of aperture. The anthers of complete flowers have common development for the family and the abortion in the other morph occurs during the development of the parietal layers, what establishes these individuals like pistillates. The complete individuals have a greater diversity of floral visitors, but the species that participates most in pollination in both is *Apis mellifera*. Through these data and phenology, which shows a higher percentage of phenophases in complete individuals in the population, it can be thought that these have a greater advantage over the others, but the pistillates individuals occur in greater numbers in the population, a fact that must have relation with the high predation of the seeds, probably due to attractiveness such as greater floral size and presence of pollen grains as food resources. This predation is part of the evolutionary process, allowing the population control, in order to keep the individuals pistillates. Thus, the theory of resource allocation can be established in the evolutionary process of the species.

**Key words:** stigma, stylus, evolution, pollen grain, predation.



## Sumário

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Introdução geral</b> .....  | <b>9</b>  |
| Objetivo geral .....   | 11        |
| Objetivos específicos .....  | 11        |
| Referências bibliográficas .....   | 12        |
| <b>Capítulo I: Morfologia comparada do androceu de flores pistiladas e perfeitas em <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Barnadesioideae, Asteraceae)</b> ..... | <b>14</b> |
| Resumo .....   | 15        |
| Abstract .....   | 16        |
| Introdução .....   | 17        |
| Material e métodos .....   | 18        |
| Resultados e discussão .....   | 20        |
| Conclusões.....  | 32        |
| Referências bibliográficas .....   | 33        |
| <b>Capítulo II: Aspectos da biologia floral e fenologia reprodutiva de <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Barnadesioideae, Asteraceae)</b> .....              | <b>38</b> |
| Resumo .....   | 39        |
| Abstract .....   | 40        |
| Introdução .....   | 41        |
| Material e métodos .....   | 43        |
| Resultados e discussão .....   | 45        |
| Conclusões.....  | 53        |
| Referências bibliográficas .....   | 54        |

## INTRODUÇÃO GERAL

Asteraceae é a maior família dentre as angiospermas, com cerca de 10% de todas as plantas com flor, contendo cerca de 24.000 espécies, que se encontram agrupadas em 1600-1700 gêneros pertencentes a 43 tribos e 12 subfamílias (Stuessy et al. 2009). Sua distribuição é cosmopolita, não ocorrendo apenas na Antártica, sendo amplamente distribuída nas regiões temperadas e semi-áridas dos trópicos e subtropicais (Stuessy et al. 2009). A família caracteriza-se, principalmente, por possuir flores mais ou menos densamente agregadas em capítulos indeterminados, rodeados por um involúcro de brácteas (filárias), sépalas muito modificadas (pápus), cinco anteras conatas (Judd et al. 2009), fruto do tipo cipsela (Spjut 1994) e sementes geralmente albuminosas, com tegumento fino ou papiráceo, multiplicativo ou não (Corner 1976). Asteraceae é ainda considerada como uma das famílias, juntamente com Poaceae e Rosaceae, em que a reprodução assexuada por apomixia ocorre com maior frequência, embora não seja descrito para Barnadesioideae (Benth. & Hook.) K. Bremer & R. K. Jansen (Noyes 2007).

A subfamília Barnadesioideae é considerada o grupo basal e irmão dos demais táxons de Asteraceae (Stuessy et al. 2009). Possui distribuição totalmente restrita a América do Sul e caracteriza-se por possuir espinhos axilares (Ezcurra 1985), tricomas tricelulares unisseriados (“tricomas barnadesióides”) nas estruturas vegetativas e/ou reprodutivas (Bremer & Jansen, 1992) e várias características do pólen (Urtubey & Telleria 1998). Essa subfamília compreende 91 espécies, entre árvores, arbustos, subarbustos e ervas anuais ou perenes, distribuídas em nove gêneros (Stuessy et al. 2009). No Brasil ocorrem 23 espécies de *Dasyphyllum*, sendo considerada a região de maior concentração de espécies do gênero em relação às demais localidades (Cabrera 1959). O Rio Grande do Sul apresenta quatro espécies, *D. spinescens*, *D. synacanthum*,

*D. tomentosum* e *D. brasiliense*, ambas com ampla distribuição pelo estado (Cabrera 1959; Mondin & Baptista 1996).

*Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera é conhecida popularmente como cipó-agulha ou sucará (Cabrera & Klein 1973). No Rio Grande do Sul é nativa e encontrada no Alto Uruguai e Depressão Central. A espécie é utilizada na medicina popular na forma de chá, preparado a partir de folhas e espinhos, para o tratamento de doenças bucais e de orofaringe sendo sua atividade anti-inflamatória considerada significativa por Castelucci et al. (2007). Caracteriza-se por ser um arbusto sarmentoso com aspecto de liana, cujos ramos jovens também são tomentosos, sendo os velhos acinzentados e glabros. Apresenta espinhos axilares geminados, as folhas são subcoriáceas, curtamente pecioladas, elípticas ou obovadas, glabras em ambas as faces. Os capítulos são muito numerosos, dispostos em panículas muito ramificadas, definidas e terminais, os pedicelos são tomentosos, com brácteas glabrescentes. O pápus é plumoso, a corola é pentasecta com uma ou mais incisões mais profundas do que as demais. As flores são brancas, amarelas ou pardo-violáceas ao secar, monoclinas ou pistiladas por atrofia do androceu e as cipselas são veludas (Cabrera 1959; Cabrera & Klein 1973).

Como ocorre a formação de flores pistiladas pela atrofia do androceu, *D. brasiliense* é uma espécie ginodioica (Cabrera 1959), mas em outras localidades ocorrem populações monoicas, especificamente no Peru e na Colômbia, mas a ginodioica prevalece em sua maioria, ocorrendo em populações da Bolívia, Paraguai, Argentina e Brasil (Cabrera 1959; Mondin & Baptista, 1996).

Como a espécie ocorre em locais bem distintos, o ambiente provavelmente influencia bastante na evolução da espécie, o que pode explicar a presença de dois sistemas sexuais diferentes (Cabrera 1959; Mondin & Baptista 1996). Portanto, estudos

que abordem a interação de *D. brasiliense* com o meio e as características morfoanatômicas que a planta apresenta são muito importantes para fundamentar o entendimento dos fatores que atuam no processo evolutivo. Entretanto, existem poucos estudos sobre os diferentes sistemas sexuais em Asteraceae, de modo que pouco é conhecido o desenvolvimento comparado do androceu e gineceu entre os tipos florais. Em espécies de Barnadesioideae, que dependem de polinizações cruzadas, devido a autoincompatibilidade (Ferrer & Good-Avila 2007), há uma dependência crucial da sua interação com o meio em que vivem como a forma que ocorre a dinâmica de floração, a relação da planta com polinizadores eficientes e recursos florais que atraiam os mesmos.

### **Objetivo geral**

O objetivo desse trabalho é investigar as características morfoecológicas dos dois tipos de indivíduos de *D. brasiliense*, a fim de melhor compreender a sua relação com o meio e o processo evolutivo da ginodioicia

### **Objetivos específicos**

Os objetivos específicos são descrever a morfologia floral de forma comparada entre indivíduos com flores pistiladas e perfeitas; descrever o desenvolvimento da antera e grãos de pólen, comparando com o processo abortivo do androceu em indivíduos pistilados; analisar os visitantes florais e os potenciais polinizadores em cada tipo floral; analisar a floração a partir da fenologia reprodutiva e a eficiência da polinização de modo comparativo entre os indivíduos completos e pistilados da espécie.

## Referências bibliográficas

Bremer K, Jansen RK. 1992. A new subfamily of the Asteraceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 79: 414-415.

Cabrera Al. 1959. Revision Del Género *Dasyphyllum*. *Revista del Museo de La Plata, Sección Botánica*, 38: 21-108.

Cabrera AL, Klein RM. 1973. Compostas, Tribo Mutiseae. In *Flora Ilustrada Catarinense* (R. Reitz, ed.). *Herbario Barbosa Rodrigues, Itajaí*, 1(38): 1-124.

Castelucci S, de Paula Rogerio A, Ambrosio SR, Arakawa NS, de Lira SP, Faccioli LH, da Costa FB. 2007. Anti-inflammatory activity of *Dasyphyllum brasiliense* (Asteraceae) on acute peritonitis induced by  $\beta$ -glucan from *Histoplasma capsulate*. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 192–198.

Corner EJH. 1976. *The Seeds of Dicotyledons*. Vol. I. Univ Press, Cambridge, England.

Ezcurra C. 1985. Revisión del género *Chuquiraga* (Compositae - Mutiseae). *Darwiniana*, 26: 219-284.

Ferrer MM, Good-Avila SV. 2007. Macrophylogenetic analysis of the gain and loss of self-incompatibility in the Asteraceae. *New Phytol*, 173: 401 – 414.

Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Steves PF, Donoghue MJ. 2009. *Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético*. 3ª ed. Artmed, Porto Alegre.

Mondin CA, Batista LRM. 1996. Relações biogeográficas da tribo Mutisieae Cass. (Asteraceae), sensu Cabrera, no Rio Grande do Sul. *Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia, Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Série Botânica*, 2(1): 49-152.

Noyes RD. 2007. Apomixis in the Asteraceae: diamonds in the rough. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 1: 207–222.

Spjut RWA. 1994. systematic treatment of fruit types. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 70: 1-82,

Stuessy TF, Urtubey E, Gruenstaeudl, M. 2009. Barnadesioideae. In: *Systematic, evolution and biogeography of the Compositae* (VA. Funk, A. Susanna, TF. Stuessy, R. J. Bayer, eds.). International Association for Plant Taxonomy, Vienna, Austria.

Urtubey E, Tellería MA. 1998. Pollen morphology of the subfamily Barnadesioideae (Asteraceae) and its phylogenetic and taxonomic significance. *Review of Paleobotany and Palynology*, 104: 19-37.

## **CAPÍTULO I**

### **Morfologia comparada do androceu de flores pistiladas e perfeitas em *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Barnadesioideae, Asteraceae)**

**Artigo foi redigido de acordo com as normas para autores do periódico  
'Acta Botanica Brasilica'**

Bruna Palese Thies Lopes\*, João Marcelo Santos de Oliveira

Programa de Pós-graduação em Agrobiologia. Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria. Av. Roraima 1000, Prédio 16, sala 3251. CEP 97105-900

\*brpalese@gmail.com

## Artigo original

### Morfologia comparada do androceu de flores pistiladas e perfeitas em *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera

(Barnadesioideae, Asteraceae)

Artigo foi redigido de acordo com as normas para autores do periódico  
'Acta Botanica Brasilica'

Bruna Palese Thies Lopes\*, João Marcelo Santos de Oliveira

Programa de Pós-graduação em Agrobiologia. Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria. Av. Roraima 1000, Prédio 16, sala 3251. CEP 97105-900

\*brpalese@gmail.com

*Dasyphyllum brasiliense* pertence à família Asteraceae e subfamília Barnadesioideae e é nativa do Rio Grande do Sul. Esta espécie possui dois sistemas sexuais: monoico e ginodioico, sendo a população estudada caracterizada como ginodioica, constituída por indivíduos completos e pistilados. Inflorescências em diferentes estádios de desenvolvimento foram coletadas na localidade de Boca do Monte, no município de Santa Maria. O processamento e a análise do material botânico foram realizados no LABOTE do Departamento de Biologia, CCNE/UFSM. As principais diferenças morfológicas encontradas referem-se ao maior comprimento do estilete em indivíduos completos e ao estigma mais desenvolvido em indivíduos pistilados. O abortamento dos estames nos indivíduos pistilados ocorre logo após o início do desenvolvimento da antera. Comparativamente, a estrutura floral parece refletir estratégias para a apresentação secundária dos grãos de pólen e para favorecer a polinização cruzada. As descrições morfológicas mostradas neste trabalho permitem avançar o entendimento das interações ecológicas em *D. brasiliense*, sustentando a base do conhecimento para compreender a evolução da ginodioicia no táxon.

**Palavras-chave:** abortamento, desenvolvimento, estigma, estilete, grão de pólen.



**Comparative morphology of androecium of pistillate and complete flowers in *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Barnadesioideae, Asteraceae)**

*Dasyphyllum brasiliense* belongs to the family Asteraceae and subfamily Barnadesioideae and is native to Rio Grande do Sul. This species has two sexual systems: monoecious and gynodioecious, being the studied population characterized as gynodioecy, consisting of complete and pistillate individuals. Inflorescences in different stages of development were collected in the locality of Boca do Monte, in the municipality of Santa Maria. The botanical material was processed and analyzed at LABOTE, Department of Biology, CCNE / UFSM. The main morphological differences are related to the greater length of the stylet in complete individuals and to the more developed stigma in pistillate individuals. Abortion of stamens in pistillate individuals occurs soon after the onset of anther development. Comparatively, the floral structure seems to reflect strategies for the secondary presentation of the pollen grains and to favor cross-pollination. The morphological descriptions shown in this work allow to advance the understanding of the ecological interactions in *D. brasiliense*, supporting the knowledge base to understand the evolution of gynodioecy in the taxon.

**Key words:** abortion, development, stigma, stylus, pollen grain.

## Introdução

*Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera, ocorre somente na América do Sul (Cabrera 1959; Cabrera & Klein, 1973). É um arbusto sarmentoso, caracterizado pela presença de espinhos axilares, brácteas glabrescentes, pápus plumoso e corola pentasecta (Cabrera 1959; Cabrera & Klein 1973). As flores são brancas, amarelas ou pardo-violáceas ao secar, monoclinas ou pistiladas por atrofia do androceu e as cipselas são veludas (Cabrera 1959; Cabrera & Klein 1973).

Esta espécie possui mais de um sistema sexual, sendo monoico ou ginodioico (Cabrera 1959). No Peru e na Colômbia é descrito o sistema monoico, com flores monoclinas, enquanto populações que ocorrem na Bolívia, Paraguai, Argentina e Brasil são ginodioicas, incluindo a região central do Rio Grande do Sul (Cabrera 1959; Mondin & Baptista 1996).

Em função da ampla distribuição geográfica de *Dasyphyllum brasiliense*, e diversidade de habitats em que ocorre (Cabrera 1959; Mondin & Baptista 1996), pode ser esperada uma diversidade de variações ambientais influenciando a estrutura floral como a interrupção do desenvolvimento estaminal, que ocorre, por exemplo, em *Cirsium chikushiense* (Kawakubo 1994) outra espécie de Asteraceae.

Cabe salientar que são raros os estudos referentes aos sistemas sexuais em Asteraceae, de modo que pouco é conhecido sobre o desenvolvimento comparado do androceu e gineceu entre os tipos florais, sendo que estudos da embriologia e morfologia floral de espécies ginodioicas têm grande importância no entendimento da evolução da ginodioica.

Sendo assim, estudos que comparem a embriologia e morfologia de espécies ginodioicas são a base para compreensão de como está ocorrendo a interação dessas

plantas com o meio e, assim, melhor compreender a evolução deste sistema sexual, principalmente em espécies onde ocorre mais de um sistema, como em *Dasyphyllum brasiliense*, que possui sistema monoico e ginodioico (Cabrera 1959).

Os objetivos deste estudo são descrever a morfologia floral de forma comparada entre indivíduos com flores pistiladas e perfeitas, além de descrever a androsporangiose e androgametogênese, comparando com o processo abortivo do androceu em indivíduos pistilados.

### **Material e métodos**

Para a realização deste estudo foram utilizadas inflorescências de indivíduos pistilados e completos de *Dasyphyllum brasiliense* em vários estádios de desenvolvimento.

As coletas do material botânico foram realizadas em propriedade particular no distrito de Boca do Monte, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, com coordenadas geográficas 29° 38' 33,2" S e 53° 54' 22,4" W. Foram marcados e georreferenciados 26 indivíduos, sendo nove destes completos e 17 pistilados.

O processamento e a análise do material botânico foram realizados no Laboratório de Botânica Estrutural (LABOTE) do Departamento de Biologia, CCNE/UFSM. O material testemunho foi depositado no Herbário SMDB do CCNE/UFSM. No laboratório mantém-se uma coleção líquida dos materiais coletados para as análises histológicas, os quais possuem registros de coleta.

As inflorescências coletadas foram fotomicrografadas em microscópio estereoscópico Leica M80 com sistema de captura digital de imagem DFC 295. Logo após, foram dissecadas e fixadas em 1% glutaraldeído e 4% formaldeído em tampão

fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 (McDowell & Trump 1976). Posteriormente, foram submetidas ao vácuo, seguido de lavagem no mesmo tampão do fixador e lavagem em soluções de aquosas de 2ml/L de Tween20. Em seguida, o material botânico foi desidratado em série etílica (10, 30, 50, 70, 90 e 99%), com 15 minutos em cada etapa. O material foi emblocado em (2-hidroxietil)-metacrilato (HEMA), utilizando-se suporte de Teflon (Gerrits & Smid 1983) e Histomold Leica. Parte das anteras foi desidratada em HEMA para preservação de lipídeos de reserva, conforme Oliveira (2015). As secções foram realizadas em micrótomos de rotação Thermo Scientific Finess ME+ e Leica RM2245, ambos com navalhas de aço com perfil 'D'. Parte das lâminas histológicas produzidas foram coradas com Azul de Toluidina O, em concentração de 0,05% e pH 4.4 (Sidman 1961). As análises das lâminas histológicas foram feitas ao microscópio Leica DM2000, com sistema de captura digital de imagem DFC 295, onde o material foi fotomicrografado. As lâminas foram registradas com um número permanente e encontram-se armazenadas no banco de lâminas do LABOTE.

Outra parte das lâminas histológicas foi submetida aos seguintes testes histoquímicos: Sudan Black B para a localização de lipídios neutros (O'Brien & McCully 1981); 0.1% Coomassie Blue, para compostos proteicos (Heslop-Harrison et al. 1973); Ácido Periódico-reativo de Schiff (PAS) para a detecção de polissacarídeos insolúveis (Southworth 1973); Vermelho de Rutênio para mucopolissacarídeos ácidos e ácidos pécticos (Jensen 1962); para a identificação do amido foi utilizado IKI (solução de Lugol) (Johansen 1940). As análises em microscopia de fluorescência foram realizadas em microscópio Zeiss Axio Imager A2, utilizando Azul de Anilina, para identificação de calose (Martin 1959).

Para a análise da morfologia externa da flor, foram utilizados três indivíduos pistilados e três completos, sendo 20 flores de inflorescências aleatórias de cada

indivíduo. As flores e inflorescências foram analisadas e cada estrutura floral foi medida com o auxílio de um paquímetro digital e microscópio estereoscópico Leica M80 com sistema de medição milimétrica gerada por meio de escala no software LAS 4.0.0. (Leica™). Para interpretação destes resultados, os dados foram analisados quanto à normalidade e homocedasticidade e posteriormente foi realizado o teste t de *student*, a nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ), utilizando o programa *BioEstat 5.0*.

## **Resultados e discussão**

### ***Características gerais***

As inflorescências mantêm-se semelhantes (Fig. 1A e B) ao comparar-se indivíduos com flores perfeitas e com flores pistiladas, conforme descrito na literatura para a espécie (Cabrera 1959), incluindo o número de flores por inflorescência. As flores mantêm seus aspectos gerais em ambos (Cabrera 1959), com formato alongado, perianto com pétalas conatas, formando um tubo floral interior ao papus (Fig. 1C e E) e presença de nectário floral, no ápice do ovário, idêntico nos dois tipos florais. Em relação ao tamanho, o comprimento das peças florais medidas mostrou-se significativamente diferente (tab. 1), sendo maior nas flores dos indivíduos completos, a exceção do estigma, que é um pouco maior nas flores pistiladas. O ovário não mostrou diferença significativa em largura (tab. 1). Essas características foram consideradas comuns em espécies ginodioicas, devido à presença do androceu com estames maiores e férteis (Fig. 1F), o que não ocorre nas flores pistiladas (Delph 1996). Em relação à composição química dos estigmas, principalmente estrutural, para presença de lipídeos e proteínas totais e polissacarídeos ácidos e ácidos pécicos, não há diferenças (tab. 2).

No gineceu das flores perfeitas, o estilete tem maior comprimento (Fig. 1E), além do androceu que é funcional, contendo estames também maiores (Fig. 1F), comparando-se com aqueles que sofrem atrofia, tornando-se estéreis (Fig. 1D), nas flores pistiladas nos indivíduos pistilados. Os lobos do estigma nas flores pistiladas tem comprimento um pouco maior (tab. 1), apresentando mais tricomas e um grau de abertura maior, expondo a face ventral (Fig. 1G e H). Além disso, nestes indivíduos frequentemente são observados três lobos nos estigmas. Já os indivíduos completos possuem estigmas sempre bilobados, com uma abertura mais fechada e poucos tricomas (Fig. 1I e J). Diferenças morfológicas no estigma já foram descritas por Kawakubo (1994) em *Cirsium chikushiense*, de forma semelhante ao que ocorre em *D. brasiliense*, exceto pelos números de lobos.

De acordo com a teoria da alocação de recursos (Bawa 1980; Charlesworth & Charlesworth 1978, 1981), como o androceu não é formado nas flores pistiladas, pode-se presumir que estas acabam estocando a energia que seria utilizada nesta função, podendo então ser utilizada para aprimorar o desenvolvimento do gineceu e a produção de sementes.

Figura 1 Inflorescências e flores de *Dasyphyllum brasiliense*. A e B: Macrofotografia. C - G e I: Estereomicroscopia. H e J: Microscopia de luz. A: Inflorescências de um indivíduo pistilado. B: Inflorescências de um indivíduo completo. C: Flor pistilada. D: Flor pistilada dissecada, evidenciando os estames estéreis. E: Flor perfeita. F: Flor perfeita dissecada, evidenciando os estames férteis. G: Estigma de flor pistilada. H: Estigma de flor pistilada em secção longitudinal. I: Estigma de flor perfeita. J: Estigma de flor perfeita em secção longitudinal. Eg = Estigma; Es = Estilete; Co = Corola; Pa = Papus; Ov = Ovário; Ee = Estames estéreis; Ae = Anteras estéreis; Fi = Filetes; Af = Anteras férteis; Ef = Estames férteis; Lo = Lobos; Tr =

tricomas.

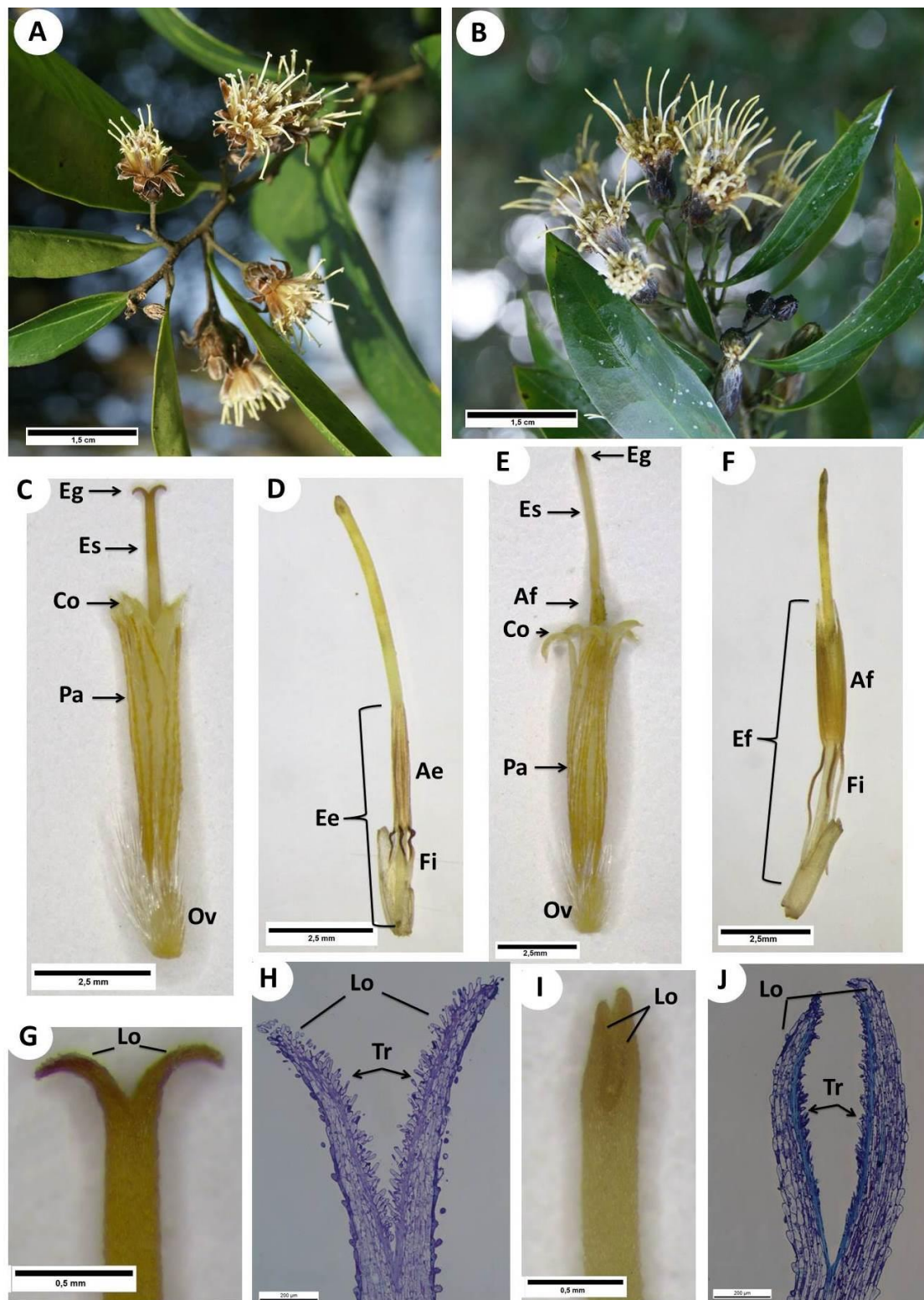


Tabela 1: Resultado do teste t a 5% de significância para a morfometria. Tamanho da amostra = 60. mp = média pistilados; mc = média completos; t = valor do teste t; p = nível de significância; R = resultado.

|           | flor          | papus         | comp. ovário  | largura ovário    | estigma       | corola        | estilete      | estame        | antera        |
|-----------|---------------|---------------|---------------|-------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>mp</b> | 14,4046       | 8,6531        | 2,2025        | 1,245             | 0,6805        | 8,9551        | 12,2786       | 4,4283        | 2,4611        |
| <b>mc</b> | 20,7893       | 9,4013        | 2,4625        | 1,2566            | 0,5731        | 11,236        | 17,3928       | 11,6063       | 6,28          |
| <b>t</b>  | -74,4593      | -7,8624       | -7,9461       | -0,5861           | 5,7416        | -30,4002      | -76,7433      | -115,0508     | -71,8107      |
| <b>p</b>  | < 0.0001      | < 0.0001      | < 0.0001      | 0,559             | < 0.0001      | < 0.0001      | < 0.0001      | < 0.0001      | < 0.0001      |
| <b>R</b>  | significativo | significativo | significativo | não significativo | significativo | significativo | significativo | significativo | significativo |

Tabela 2: Testes histoquímicos realizados nos estigmas.

| Corante ou reagente | Especificidade                           | Resultado |
|---------------------|--|-----------|
| Sudan Black B       | Lipídeos                                 | +         |
| Azul de Coomassie   | Proteínas totais                         | -         |
| Vermelho de Rutênio | Ácidos Polissacarídeos e Ácidos Pécnicos | +         |

### ***Esporogênese***

As anteras funcionais e plenamente desenvolvidas de *Dasyphyllum brasiliense* são tetrasporangiadas. Em seção transversal possuem formato trapezoidal, e os esporângios apresentam quatro camadas unisseriadas: epiderme, endotécio, camada média e tapete (Fig. 2C e D), de acordo com o padrão comum para Asteraceae (Johri et al.1992).

Nos primórdios estaminais, as anteras em formação possuem contorno trapezoidal em seção transversal. A partir do crescimento radial de células subdérmicas e, em seguida, divisões periclinais, inicia-se a diferenciação dos esporângios e tecido esporogênico. A formação da célula parietal primária e da célula arquesporial ocorre após o primeiro ciclo de divisões mitóticas (Fig. 2A). Nessa fase, as anteras jovens apresentam esporângios, conectivo e tecido vascular estabelecidos como sítios histológicos. Posteriormente as células da camada parietal primária crescem radialmente, enquanto as células arquesporais crescem isodiametricamente. Tais grupos celulares mantêm grande densidade citoplasmática (Fig. 2B).



A seguir ocorre um ciclo de divisões periclinais nas células da camada parietal primária, que origina as camadas parietais secundária externa e interna. Posteriormente ocorrem novas divisões somente na camada parietal secundária externa, originando o endotécio e a camada média (Fig. 2B), já a camada parietal secundária interna diferencia-se diretamente em tapete. Neste estágio o tecido conectivo e as células pertencentes ao septo de separação dos esporângios apresentam células totalmente vacuoladas. Considerando esse padrão de multiplicação celular, o desenvolvimento do androsporângio é classificado como dicotiledôneo, típico na família Asteraceae (Davis 1966; Johri et al. 1992). Assim, em etapas iniciais da diferenciação das anteras, os estratos esporangiais e o tecido arquesporrial já estão estabelecidos. Posteriormente, observa-se apenas crescimento celular, sendo o crescimento do tecido arquesporrial mais acentuado.

Como aspectos histológicos marcantes, destaca-se o crescimento das células arquesporriais e tapetais, sendo que nestas a densidade citoplasmática é mais acentuada. Na camada média, endotécio e epiderme ocorre vacuolação e o crescimento é menos acentuado. No conectivo, as células tornam-se volumosas através da vacuolação, resultando em um parênquima típico.

### ***Meiose***

Momentos antes da prófase da meiose, as células tapetais e arquesporriais apresentam grande volume celular. Com o seu crescimento, as células da camada média acabam sendo comprimidas (Fig. 2C e D). Observa-se compressão de células também no conectivo, próximo ao tapete interno (Fig. 2D). Essas compressões das células parecem ser um importante aspecto do desenvolvimento floral, pois permitem que os tecidos tapetal e arquesporrial cresçam sem causar grandes alterações no volume da

antera. Durante a prófase, o endotécio também se desenvolve, embora comparativamente pouco. As células tapetais passam por divisões acitocinéticas, resultando em células binucleadas (Fig. 2C e D). O tapete é tipo secretor, característica comum em Asteraceae (Johri et al. 1992). Durante a meiose, os núcleos das células tapetais tornam-se muito densos após coloração, não permitindo distinção de sua estrutura típica à microscopia óptica, como contraste entre heterocromatina e cariolinfa e nucléolo. Os mesmos aspectos da morfologia tapetal foram descritos para *Fraveria repanda* (Misra 1964).

Finalizando-se a meiose, são produzidas tétrades tetraédricas, as quais estão envoltas em calose (Fig. 2E), e as células tapetais apresentam a face interna muito irregular. Em Asteraceae é frequente a ocorrência de tétrades tetraédricas e isobilaterais, mas é comum encontrarmos mais de um tipo de tétrades, como por exemplo, em *Emilia flammaea*, que apresenta tétrades tetraédricas, romboidais, isobilaterais e decussadas (Kapil & Sethi 1962). Já em *Cotula australis* ocorrem somente tétrades tetraédricas (Davis 1961), assim como em *D. brasiliense*. A dissolução da calose origina o fluido locular, onde os andrósporos ficam suspensos e, então, sofrem uma grande diferenciação na exina e aumento de volume (Fig. 2F). Ao final da esporogênese, as anteras possuem características típicas, onde o endotécio inicia crescimento radial e vacuolação e a camada média está quase totalmente comprimida (Fig. 2F).

### ***Gametogênese***

Após a vacuolação ocorre a primeira divisão da gametogênese, sendo formada a célula vegetativa e a generativa e, posteriormente, a célula generativa é englobada pela célula vegetativa, sendo os vacúolos ainda presentes (Fig. 2G). Nesse estágio, a camada média não é mais observável, as células do endotécio apresentam crescimento radial e

são observados alguns espessamentos fibrosos, característicos em Asteraceae (Johri et al. 1992). Após maturação, a célula generativa torna-se fusiforme e o grão de pólen continua aumentando seu volume. Conforme a vacuolação diminui, a célula generativa passa por divisão mitótica, resultando em dois gametas fusiformes (Fig. 2H - J). Em seguida, o grão de pólen é liberado, então, na forma tricolpular, como encontrado em várias espécies de Asteraceae (Davis 1966), onde a célula vegetativa herda grande parte do volume do andrósporo (Knox 1984). A deiscência das anteras ocorre antes da antese floral e os grãos de pólen acabam aderindo-se aos tricomas tectores do estilete, permanecendo até a sua apresentação secundária.

### ***Grãos de pólen***

O grão de pólen de *Dasyphyllum brasiliense* é tricolporado, possui depressões intercolpares, com exina e intina bem desenvolvidas, sendo a intina principalmente na região das aberturas (Lopes & Oliveira 2015) (Fig. 2G). A exina possui cavas (Fig. 2G), as quais tornam-se menos evidentes durante o desenvolvimento e concomitante aumento de volume do pólen descritos por Lopes & Oliveira (2015).

Os principais constituintes de reserva dos grãos de pólen são os polissacarídeos e os lipídios (Tab. 3; Fig. 2I - K), os quais podem atuar como reserva energética, na osmorregulação e manutenção de viabilidade frente aos fatores ambientais (Hoekstra et al. 2001; Edelman & Jefford 1968, Hendry 1993). Também foram encontrados lipídios na superfície polínica e no lóculo, em forma de *pollenkitt* (Fig. 2K), substância característica de espécies entomófilas (Hesse 1979), como *D. brasiliense*. Dentre suas principais funções destaca-se a adesão dos grãos de pólen à antera e entre si até a dispersão, aos polinizadores e ao estigma (Pacini & Franchi 1993, Pacini 2000; Pacini & Hesse 2005). Considerando que existe apresentação secundária do pólen em *D.*

*brasiliense*, a presença do *pollenkitt* é fundamental, pois permite que os mesmos fiquem aderidos aos tricomas do estilete durante o processo (Pacini 1996; Leins & Erbar 2006; Torres & Galetto 2007).

Como o grão de pólen é liberado sem amido (tab. 3), é classificado como *starchless*, sendo o padrão mais comum em Asteraceae (Baker & Baker 1979). Devido ao alto valor energético encontrado nos grãos de pólen de *D. brasiliense*, principalmente pela presença de lipídios, ele pode ser um recurso alimentar valioso aos agentes polinizadores (Baker & Baker 1979). Esse é um fator muito importante para a espécie, visto que possui floração durante o inverno, quando há poucas espécies em cofloração em sua localidade de ocorrência do presente estudo, e por possuir autoincompatibilidade, o que exige participação dos polinizadores para que a polinização cruzada seja efetivada (Baker & Baker, 1979; Hanley et al. 2008; Ferrer & Good-Avila 2006).

Já que nos indivíduos pistilados não há produção de grãos de pólen, cuja composição química de lipídeos e açúcares (Tab. 3; Fig. 2I - K) podem tornar os grãos de pólen como recursos alimentares atrativos em *Dasyphyllum brasiliense*. As características diferenciadas encontradas no estigma e estilete podem servir como atrativo a polinizadores e para aumentar a eficiência no recebimento e dispersão do pólen (Barrett et al. 2000; Barrett 2002).

Figura 2: Desenvolvimento das anteras e grãos de pólen em secções transversais. A - D e F - K: Microscopia de luz. E: Microscopia de fluorescência. A e B: Formação dos estratos parietais do esporângio. C: Antera jovem em início da esporogênese. D: Esporângios em detalhe, com célula mãe durante meiose I; E: Tétrades tetraédricas, envoltas por calose, ao final da esporogênese. F: Andrósporos em início da gametogênese. G: Grãos de pólen jovens, após mitose. H. Grão de pólen maduro após mitose da célula generativa, evidenciando os dois gametas. I - K: Composição citoplasmática básica dos grãos de pólen, evidenciada por diferentes testes histoquímicos. J: Vermelho de Rutênio (polissacarídeos ácidos e ácidos pécticos). K: PAS

(polissacarídeos insolúveis). L: Sudan Black B (lipídios). Círculo = Célula em divisão; \* = Feixe vascular; Ep = Epiderme; Cn = Conectivo; Cp = Camada parietal primária; Ce = Camada parietal secundária externa; Ci = Camada parietal secundária interna; Ca = Células arquesporais; E = Esporângio; En = Endotécio; Cm = Camada média; Tp = Tapete; Tt = Tétrade; Cl = Calose; Ex = Exina; Nu = Núcleo; V = Vacúolo; In = Intina; Ab = Abertura; C = Cava; Cv = Célula vegetativa; Cg = Célula generativa; Di = Depressão intercolpar; Gm = Gametas; Ct = Citoplasma; Pk = *pollenkit*.

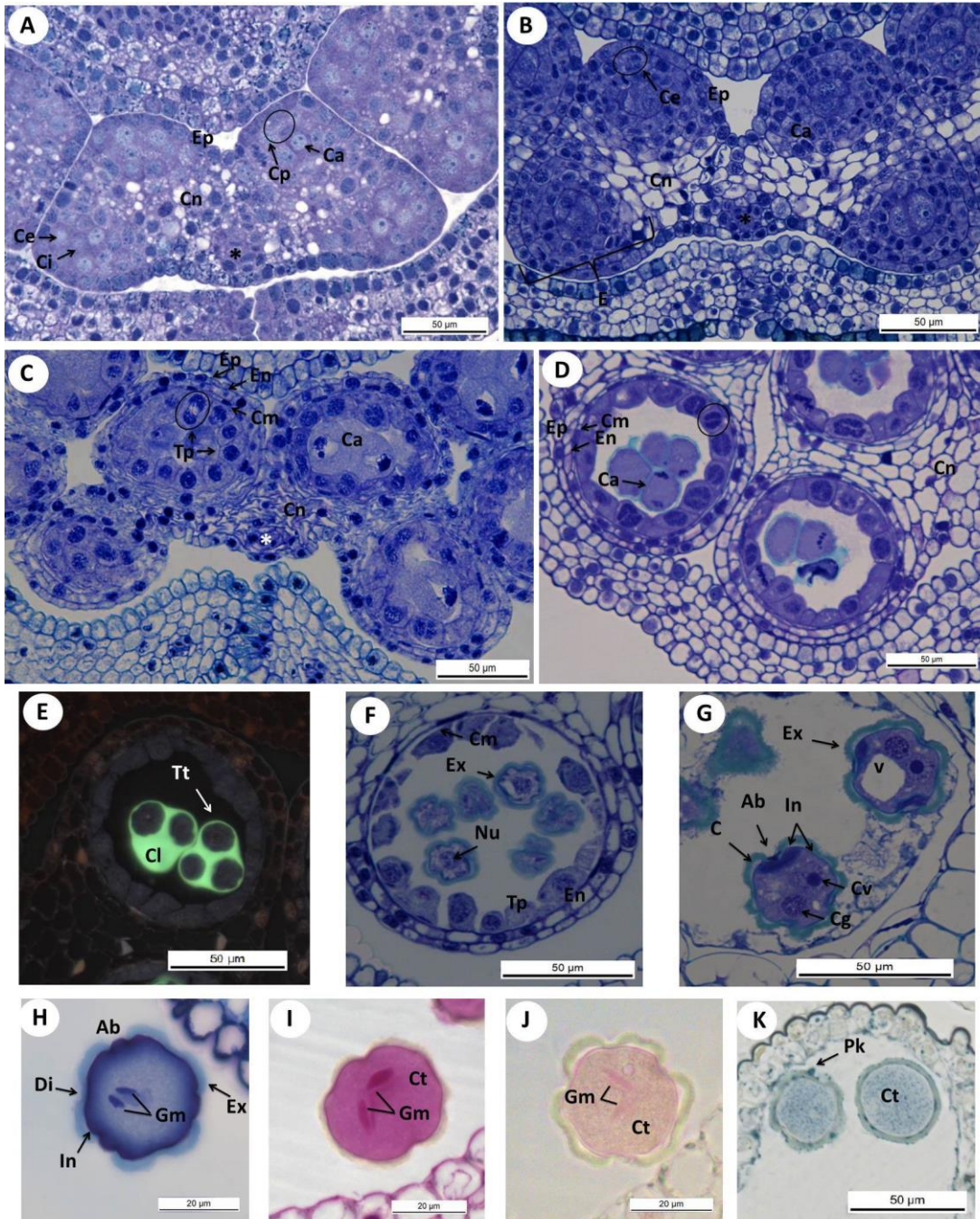


Tabela 3: Testes histoquímicos realizados em grãos de pólen maduros.

| <b>Corante ou reagente</b> | <b>Especificidade</b>                    | <b>Resultado</b> |
|----------------------------|--|------------------|
| Vermelho de Rutênio        | Ácidos Polissacarídeos e Ácidos Pécnicos | +                |
| Sudan Black B              | Lipídeos                                 | +                |
| Lugol                      | Grãos de amido                           | -                |
| Azul de Coomassie          | Proteínas de reserva                     | -                |
| PAS                        | Polissacarídeos insolúveis               | +                |
| Azul de Anilina            | Calose                                   | +                |

### ***Processo de abortamento nas flores pistiladas***

As flores pistiladas não produzem grãos de pólen, pois ocorre interrupção do desenvolvimento antes da meiose. Durante a formação das camadas parietais secundárias foi observada degeneração do tecido arquesporial, cujas células se encontram plasmolisadas e/ou comprimidas (Fig. 3A). As células da camada parietal, que culminariam em endotécio, em um esporângio funcional, mantêm características estruturais que indicam funcionalidade, embora não sejam similares às características observadas em anteras funcionais (Figs. 2B - D e 3A). Vacuolação celular acentuada é observada no estrato parietal que culminaria no tapete associado à degeneração das células arquesporais. A progressão do processo de abortamento resulta no colapso total do tecido arquesporial e dos estratos parietais (Fig. 3B). A atrofia ocorre apenas parcialmente no conectivo, principalmente na região próxima aos esporângios (Fig. 3B e C), diferentemente do que ocorre em células conectivais em anteras funcionais. Dessa forma, nas flores maduras, ou em antese, resta apenas a epiderme e o conectivo íntegros e as anteras permanecem como órgãos colapsados em torno do filete (Fig. 3C). Considerando-se que as anteras abortivas se mantêm unidas (Fig. 3B) é possível indicar que, associado à análise comparada da diferenciação dos esporângios, o processo não afeta inicialmente a epiderme e ocorre durante a formação dos estratos parietais (Figs.

2B e C, 3B e C), uma vez que a diferenciação da porção externa da parede epidérmica e cutícula geram a soldadura dos órgãos.

O abortamento do desenvolvimento estaminal ocorre no mesmo período como descrito em espécies de *Bidens* (Sun & Ganders 1987), porém pode iniciar em diferentes fases, o que ocorre em outras espécies de Asteraceae (Nakashima & Hosokawa 1974, Horner 1977). Semelhante às demais Asteraceae cuja esterilidade foi estudada, observa-se que a vacuolação e crescimento dos estratos esporangiais acabam comprimindo o tecido arquesporrial, embora tal compressão seja um momento avançado no processo de esterilização já iniciado. A principal diferença observada em *D. brasiliense*, em relação às demais espécies de Asteraceae estudadas, consiste na esterilização iniciar precocemente no desenvolvimento.

A presente análise do processo de abortamento na diferenciação esporangial traz a base morfológica da descrição inicial de Cabrera (1959), para a formação de flores pistiladas na espécie. A ocorrência dessa interrupção logo após o início do desenvolvimento da antera foi descrita por Mitchell & Diggle (2005), por meio do estudo sobre a evolução de flores diclinas, onde é relatado que a dioícia pode evoluir a partir na ginodioícia. Sendo assim, a ginodioícia pode ser uma etapa intermediária em um processo evolutivo da dioícia, ou também pode estar estável como sistema reprodutivo no táxon (Touzet 2012).

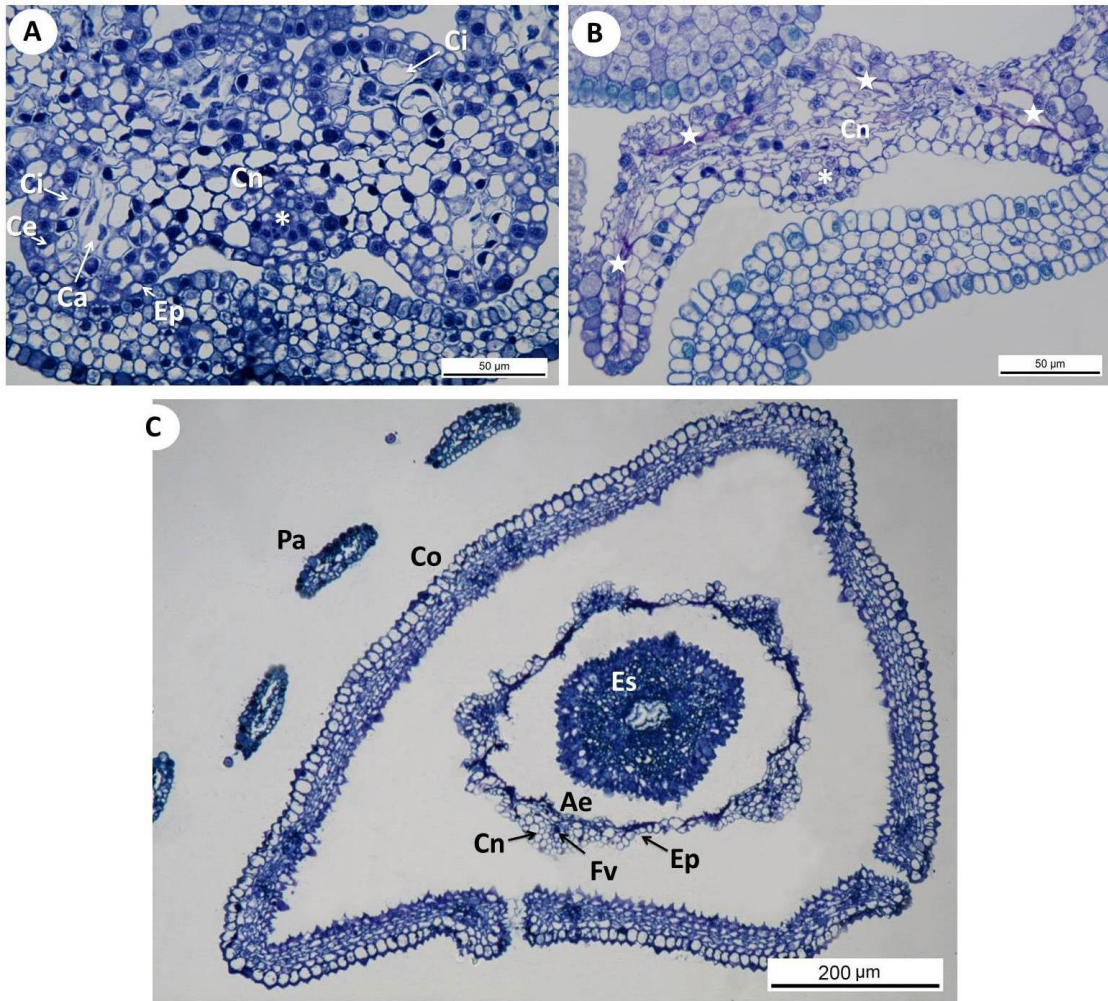
Figura 3: Abortamento e formação das flores pistiladas, em secções transversais sob microscopia de luz. A: Início da degeneração da antera, durante a formação das camadas parietais. B: Antera com esporângios quase totalmente degenerados. C: Flor na maturidade, com anteras degeneradas. \* = Feixe vascular; Cn = Conectivo; Ep = Epiderme; Ca = Células arquesporriais; Ci = Camada parietal secundária interna; Ce = Camada parietal secundária externa; ★ = Esporângios; Es = Estilete; Ae = Antera estéril; Fv = Feixe vascular; Co = Corola;



Pa

=

Papus.





## Conclusões

De maneira geral o desenvolvimento do androsporângio e do andrófito está de acordo com o observado nos demais táxons de Asteraceae. A presente análise do processo de interrupção da diferenciação esporangial traz a base morfológica da descrição inicial de Cabrera (1959) para a formação de flores pistiladas na espécie. Cabe salientar que tais aspectos do desenvolvimento floral, observados aqui como ocorrendo amplamente no táxon, forcem a ocorrência de polinização cruzada.

A estrutura floral nos indivíduos de *Dasyphyllum brasiliense* pode estar refletindo aspectos da sua plasticidade reprodutiva, permitindo ampla ocorrência em ambientes diferentes. As descrições morfológicas mostradas neste trabalho permitem avançar o entendimento das interações ecológicas em *Dasyphyllum brasiliense*, sustentando a base do conhecimento para compreender a evolução da ginodioicia no táxon.

## Referências bibliográficas

Baker HG, Baker I. 1979. Starch in Angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. *American Journal of Botany*. 66: 591-600.

Barrett SCH. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature*, 3: 274-284.

Barrett SCH, Jesson LK, Baker AM. 2000. The evolution and function of stylar polymorphism in flowering plants. *Annals of Botany*, 85: 253-265.

Bawa K. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11: 15-39.

Cabrera AL. 1959. Revision Del Gênero *Dasyphyllum*. *Revista del Museo de La Plata, Sección Botánica*, 38: 21-108.

Cabrera AL, Klein RM. 1973. Compostas, Tribo Mutiseae. In *Flora Ilustrada Catarinense* (R. Reitz, ed.). *Herbario Barbosa Rodrigues, Itajaí*, 1(38): 1-124.

Charlesworth D, Charlesworth B. 1978. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *Am. Natur.* 112: 975-997.

Charlesworth D, Charlesworth B. 1981. Allocation of resources to male and female function in hermaphrodites. *Biol. J. Linnean Soc.* 15: 57-74.

Davis GL. 1961. Embryological studies in the Compositae. I: sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Cotula Australis* (Less.) Hook. F. *Australian Journal of Botany*, 10:1-12.

Davis GL. 1966. *Systematic Embryology of Angiosperms*. John Wiley & Sons Inc.

Delph LF. 1996. Flower size dimorphism in plants with unisexual flowers. In: Lloyd, D.G & Barrett, C.H.S. (eds.). *Floral biology: studies on floral evolution in animal-pollinated plants*. New York, Chapman & Hall. p. 217-237

Edelman J, Jefford T. 1968. The mechanism of fructosan metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus* L. *New Phytologist*, 67, 517–531.

Ferrer MM, Good-Avila SV. 2007. Macrophylogenetic analysis of the gain and loss of self-incompatibility in the Asteraceae. *New Phytol*, 173: 401 – 414.

Gerrits PO, Smid L. 1983. A new less toxic polymerization system for the embedding of soft tissue in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy*, 132: 81-85.

Hanley ME, Franco M, Pichon S, Darvill B, Goulson D. 2008. Breeding system, pollinator choice and variation in pollen quality in British herbaceous plants. *Functional Ecology*, 22: 592–598.

Hendry, GA. 1993. Evolutionary origins and natural functions of fructans - a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal. *New Phytologist*, 123(1), 3-14.

Hesse M. 1979. Ultrastructure and distribution of pollenkit in insect-and wind-pollinated *Acer*. [German]. *Plant Syst. Evol.* 131: 277–289.

Heslop-Harrison J, Heslop-Harrison Y, Knox RB, Howlett B. 1973. Pollen-wall Proteins: 'gametophytic' and 'sporophytic' Fractions in the Pollen Walls of the Malvaceae. *Annals of Botany*, 37: 403-12.

Hoekstra FA, Golovina EA, Buitink J. 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science*, 6(9): 431-438.

Horner HTA. 1977. Comparative light- and electron-microscopic study of microsporogenesis in male-fertile and cytoplasmic male-sterile sunflower (*Helianthus annuus*). *American Journal of Botany*. 64:745-759.

Jensen WA. 1962. Botanical Histochemistry: principles and practice. São Francisco, W.H. Freeman.

Johansen DA. 1940. Plant microtechnique. New York, McGraw-Hill.

Johri MB, Ambegaokar KB, Srivastava PS. 1992. Comparative embryology of Angiosperms, Berlin, Springer-Verlag.

Kapil RN, Sethi S. 1962. Gametogenesis and seed development in *Ainsliaea aptera* DC. Phytomorphology, 12: 222-234.

Kawakubo N. 1994. Gynodioecy in *Cirsium chikushiense* Koidz. (Compositae). Annals of Botany, 74: 357-364.

Knox RB. 1984. The pollen grain. In: Embryology of angiosperms. Springer Berlin Heidelberg, p. 197-271.

Leins P, Erbar C. 2006. Secondary pollen presentation syndromes of the Asterales - a phylogenetic perspective. Botanische Jahrbücher, 127(1): 83-103,

Lopes BPT, Oliveira JMDS. 2015. Estrutura da exina em *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Barnadesioideae-Asteraceae): aspectos do desenvolvimento para identificação da cava. Iheringia. Série Botânica., 70(1): 189-191.

Martin FW. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. Stain Technology, 34 (3): 125-128.

McDowell EM, Trump, BR. 1976. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. Arch. Pathology Lab. Med, 00: 405-414.

Mitchell CH, Digglee PK. 2005. The evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergence results from diverse developmental transitions. American Journal of Botany, 92: 1068-1076

Misra S. 1965. Floral morphology of the Compositae. III. Embryology of *Siegesbeckia orientalis* L., Australian Journal of Botany, 13: 1-10.

Mondin CA, Batista LRM. 1996. Relações biogeográficas da tribo Mutisieae Cass. (Asteraceae), sensu Cabrera, no Rio Grande do Sul. Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia, Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Série Botânica, 2(1): 49-152.

Nakashima H, Hosokawa S. 1974. Studies on histological features of male sterility in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Proceedings of the Crop Science Society of Japan. 43: 475- 481.

O'Brien TP, McCully ME. 1981. The study of plant structure principles and select methods. Melbourne: Termarcarphi Pty.

Oliveira JMDS. 2015. Simultaneous dehydration and infiltration with (2-hydroxyethyl)-methacrylate (HEMA) for lipid preservation in plant tissues. Acta Botanica Brasilica, 29(2), 207-212.

Pacini E. 1996. Types and meaning of pollen carbohydrate reserves. Sexual Plant Reproduction. 9: 362-366.

Pacini E. 2000. From anther and pollen ripening to pollen presentation. In: Pollen and pollination. Springer Vienna, p. 19-43.

Pacini E, Franchi GG. 1993. Role of the tapetum in pollen and spore dispersal. In: Hesse M, Pacini E, Willemsse M. (eds.) Tapetum: cytology, function, biochemistry and evolution. Plant Systematics and Evolution. 7: 1-11.

Pacini E, Hesse M. 2005. *Pollenkitt* – its composition, forms and functions. Flora. 200: 399-415.

Sidman RL, Mottla PA, Feder N. 1961. Improved polyester wax embedding for histology. Stain Technol, 36: 279-284.

Southworth D. 1973. Cytochemical reactivity of pollen walls. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 21: 73-80.

Sun M, Ganders FR. 1987. Microsporogenesis in male-sterile and hermaphroditic plants of nine gynodioecious taxa of Hawaiian *Bidens* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, 74: 209-217.

Torres C, Galetto L. 2007. Style morphological diversity of some Asteraceae species from Argentina: systematic and functional implications. *Journal of plant research*, 120(3): 359-364.

Touzet P. 2012. Mitochondrial genome evolution and gynodioecy. *Advances in Botanical Research*, 63: 71.

## **CAPÍTULO II**

### **Biologia floral e fenologia reprodutiva de *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Barnadesioideae, Asteraceae)**

**Artigo redigido de acordo com as normas para autores do periódico  
'Acta Botanica Brasilica'**

Bruna Palese Thies Lopes\*, João Marcelo Santos de Oliveira

Programa de Pós-graduação em Agrobiologia. Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria. Av. Roraima 1000, Prédio 16, sala 3251. CEP 97105-900  
\*brpalese@gmail.com

## Artigo original

### Aspectos da biologia floral e fenologia reprodutiva de *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Barnadesioideae, Asteraceae)

Artigo redigido de acordo com as normas para autores do periódico  
'Acta Botanica Brasilica'

Bruna Palese Thies Lopes, João Marcelo Santos de Oliveira

Programa de Pós-graduação em Agrobiologia. Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria. Av. Roraima 1000, Prédio 16, sala 3251. CEP 97105-900  
\*brpalese@gmail.com

*Dasyphyllum brasiliense* possui dois sistemas sexuais: monoico e ginodioico, sendo a população estudada caracterizada como ginodioica, constituída por indivíduos completos e pistilados, que foram analisados em propriedade particular em Santa Maria. A fenologia foi avaliada a partir do índice de intensidade de Fournier. Os visitantes florais foram observados no período da manhã e da tarde e identificados com auxílio de especialistas. Para verificação da eficiência na polinização, foi medida a razão entre as taxas de frutificação entre polinizações naturais e manuais. Acredita-se que a o sucesso reprodutivo não seja tão afetado pela baixa taxa de frutificação encontrada nos indivíduos completos, pois estes possuem características marcantes como a presença dos grãos de pólen, maior porcentagem de fenofases e maior frequência de visitas de polinizadores, enquanto os indivíduos pistilados possuem altas taxas de frutificação e ocorrem em maior número dentro da população. A predação mascara a análise da eficiência da polinização, mas pode ser um fator importante na manutenção de indivíduos pistilados na população. A partir destes resultados sugere-se que a ginodioicia em *D. brasiliense*, na população estudada, pode estar refletindo aspectos da teoria da alocação de recursos.

**Palavras chave:** evolução, ginodioicia, grão de pólen, polinização cruzada, predação



**Floral biology aspects and reproductive phenology of *Dasyphyllum  
brasiliense*  
(Spreng.) Cabrera (Barnadesioideae, Asteraceae)**

*Dasyphyllum brasiliense* has two sexual systems: monoecious and gynodioecious, the studied population being characterized as gynodioecy, consisting of complete and pistillate individuals, that were analyzed in private property in Santa Maria. Phenology was evaluated from the Fournier intensity index. Floral visitors were observed in the morning and afternoon and identified with the help of experts. To verify the pollination efficiency, the ratio between the fruiting rates between natural and manual pollinations was measured. It is believed that reproductive success is not so affected by the low fruiting rate found in whole individuals, since they have marked characteristics such as the presence of pollen grains, a higher percentage of phenophases and a higher frequency of pollinator visits, while pistillate individuals have high fruiting rates and occur in greater numbers within the population. Predation masks the analysis of pollination efficiency, but may be an important factor in the maintenance of pistillate individuals in the population. From these results it is suggested that the gynodioecy in *D. brasiliense*, in the studied population, may be reflecting aspects of the theory of resource allocation.

**Key words:** evolution, gynodioecy, pollen grain, cross-pollination, predation

## Introdução

*Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera é um arbusto sarmentoso, caracterizado pela presença de espinhos axilares, brácteas glabrescentes, pápus plumoso e corola pentasecta (Cabrera 1959; Cabrera & Klein, 1973). As flores são brancas, amarelas ou pardo-violáceas ao secar, monoclinas ou pistiladas por atrofia do androceu e as cipselas são veludas (Cabrera 1959; Cabrera & Klein 1973).

Esta espécie possui mais de um sistema reprodutivo, sendo monoico ou ginodioico (Cabrera 1959). No Peru e na Colômbia é descrito o sistema monoico, com flores monoclinas, enquanto populações que ocorrem na Bolívia, Paraguai, Argentina e Brasil são ginodioicas, incluindo a região central do Rio Grande do Sul (Cabrera 1959; Mondin & Baptista, 1996). Em função da ampla distribuição geográfica de *Dasyphyllum brasiliense*, e diversidade de habitats em que ocorre, pode ser esperada uma diversidade de variações ambientais influenciando sua estrutura floral (Cabrera 1959; Mondin & Baptista, 1996).

Os fatores ecológicos estão entre as principais influências sobre a evolução dos sistemas reprodutivos e sexuais nas plantas, interferindo na sobrevivência ou perda de populações e no surgimento de diferentes sistemas (Charlesworth 2006). Estes sistemas possuem efeito sobre estrutura genética das populações, influenciando nas adaptações dentro e entre elas e no processo evolutivo da espécie (Hereford 2010).

A forte relação estabelecida entre plantas e animais no processo de polinização é decisiva para o sucesso reprodutivo, fluxo gênico e dinâmica de populações vegetais, com consequências diretas no funcionamento ecossistêmico. Essa relação torna-se mais importante em espécies de Barnadesioideae, onde há uma autoincompatibilidade marcante (Ferrer; Good-Avila 2007) e não ocorre apomixia (Noyes 2007), sendo a

polinização cruzada um fator ainda mais essencial. Deste modo, conhecer os potenciais polinizadores e sua efetividade torna-se importante no entendimento da biologia reprodutiva e diversificação dos sistemas reprodutivos em angiospermas. Um dos atributos que influencia a manutenção dos polinizadores e o fluxo de pólen entre os indivíduos é a dinâmica de floração, que pode ser particularmente importante para plantas que liberam muitas flores por vez como em *Dasyphyllum brasiliense* (Cabrera 1959; Cabrera & Klein, 1973; Araújo et al. 2011).

Para a evolução da estrutura floral e os sistemas de reprodução resultantes, devem ser considerados fatores genéticos e ecológicos (Mitchell & Diggle 2005), podendo, portanto, a ginodioicia surgir a partir da monoicia, a semelhança do descrito para espécies de *Bidens*, em ilhas Havaianas (Sun & Gunders 1987). A ginodioicia, a semelhança da dioicia, induz a alogamia, otimiza a alocação de recursos e processos seletivos (Bawa 1980; Freeman et al. 1980; Dufay & Billard 2012). Mitchell & Diggle (2005), concluem por meio do estudo sobre a evolução de flores monosporangiadas, que a dioicia pode evoluir a partir da ginodioicia cujo tipo de desenvolvimento da flor pistilada ocorre com interrupção do desenvolvimento do androceu logo após a sua iniciação.

Cabe salientar que são raros os estudos referentes aos sistemas sexuais em Asteraceae, sendo que a biologia floral apresenta-se como campo de estudo altamente atraente para testar hipóteses pertinentes tanto à ecologia como à evolução de populações. Portanto esses tipos de estudo são imprescindíveis para compreender a evolução deste sistema sexual, principalmente em espécies onde ocorre mais de um sistema, como em *Dasyphyllum brasiliense*, que possui sistema monoico e ginodioico (Cabrera 1959). O objetivo deste trabalho é analisar os potenciais polinizadores dentre

os visitantes florais de *D. brasiliense*, a fenologia reprodutiva e a eficiência da polinização de modo comparativo entre os indivíduos completos e pistilados da espécie.

## **Material e métodos**

As observações a campo necessárias ao estudo da fenologia e biologia floral de *Dasyphyllum brasiliense* foram realizadas em propriedade particular no distrito de Boca do Monte, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, com coordenadas geográficas 29° 38' 33,2" S e 53° 54' 22,4" W. Foram marcados e georreferenciados 26 indivíduos, sendo nove destes apresentando flores perfeitas e 17 apresentando flores pistiladas. No trabalho os indivíduos serão tratados conforme o tipo de flores que apresentam, sendo, portanto indicados indivíduos completos e indivíduos pistilados.

### ***Fenologia***

A fenologia foi avaliada em 26 indivíduos, a partir do índice de intensidade de Fournier, o qual consiste na quantificação da fenofase, utilizando uma escala de zero a quatro. O índice zero representa a ausência da fenofase; índice um, a presença da fenofase, com magnitude de 1% a 25%; índice dois, variando entre 26% e 50%; índice três, entre 51% e 75% e índice quatro, entre 76% e 100% (Fournier 1974).

O Índice de Intensidade de Fournier fornece estimativa da abundância de botões florais, flores e frutos produzidos (Bencke & Morellato 2002). O percentual de intensidade de Fournier foi calculado quinzenalmente por meio do somatório dos valores individuais das categorias de intensidade de todos os indivíduos em cada fenofase dividido pelo valor máximo possível (número total de indivíduos multiplicado por quatro), de acordo com a fórmula:  $[(\sum \text{Fournier}) \cdot (4N) - 1] / 100$  (Fournier 1974).

### ***Biologia floral***

Os visitantes florais e polinizadores foram observados no período da manhã e da tarde, intercalando as observações entre os indivíduos da população do estudo. As visitas foram consideradas efetivas quando o polinizador estabeleceu contato com os órgãos reprodutivos da flor. A frequência de visitas foi medida pelo número de vezes que o visitante foi observado por hora e seus valores foram transformados ( $\log+1$ ) pela discrepância dos valores obtidos entre os visitantes florais. Os insetos encontrados foram fotografados e/ou coletados, quando possível, e identificados com auxílio de especialistas.

Para verificação da eficiência na polinização de *D. brasiliense*, foi medida a razão entre as taxas de frutificação entre polinizações naturais e manuais. A polinização manual foi realizada ensacando-se as inflorescências perto da antese e posteriormente transferindo grãos de pólen dos indivíduos completos. Logo após algumas horas observou-se a formação ou não de sementes. Para observação da polinização natural, foram marcadas as inflorescências para acompanhamento e posterior observação da formação de sementes.

Os valores obtidos da razão entre as taxas variam de zero a um. Valores mais baixos indicam deficiente serviço de polinização (polinização natural) em relação ao potencial reprodutivo da espécie (polinização manual) e conseqüentemente, limitação polínica. A limitação polínica é um parâmetro que mede a eficácia da polinização, ocorrendo quando a quantidade e/ou a qualidade do pólen recebido durante a polinização não é suficiente para fecundar os rudimentos seminiais disponíveis e viáveis (Darling & Barrett, 2011). As taxas de frutificação foram avaliadas pelo número de frutos formados pela média de flores por capítulo de cada inflorescência marcada.

Foram analisados quatro indivíduos pistilados e quatro indivíduos completos, avaliando-se 10 infrutescências de cada indivíduo, totalizando 80 infrutescências. Para análise dos resultados encontrados entre os cruzamentos, foi realizado um Anova one-way com posterior teste Tukey, ambos a nível de significância em 5%, utilizando o programa *BioEstat* 5.0.

## **Resultados e discussão**

### ***Fenologia***

A floração em *Dasyphyllum brasiliense* é anual, ocorrendo entre os meses de junho a agosto, sendo que a formação dos botões florais inicia-se entre abril e maio e estende-se até julho. A frutificação começa efetivamente entre julho e agosto, cessando provavelmente até setembro. Os índices das fenofases em botão floral, flor e fruto são maiores nos indivíduos completos, durante a maioria das quinzenas (Figs. 1 e 2). Observa-se que a formação dos botões florais, a antese e a frutificação ocorrem mais cedo nestes indivíduos, comparando-os com os pistilados. Em relação à formação dos botões florais, nos indivíduos completos na primeira quinzena foi obtido um percentual 67%, que foi reduzindo até 19% na quinta quinzena, enquanto a antese aparece na segunda quinzena, com seu ápice na quinta e, posteriormente, passa a decair até 6% na última quinzena avaliada. A formação de frutos apareceu na quinta quinzena (8%), porém efetivamente a partir da sexta (53%), aumentando até 58% na última quinzena avaliada. Nos indivíduos pistilados, a formação dos botões florais foi avaliada em 44% na primeira quinzena analisada, mantendo a fenofase semelhante até a quarta semana (37%), passando a decair até a última semana, mas com um percentual baixo (3%). A floração começou efetivamente na quarta semana (12%), com ápice na quinta (34%),

sendo que na última quinzena observou-se 7%. Um dos indivíduos pistilados apresentou floração e frutificação mais precoces, o que justifica o aparecimento de um pequeno percentual destas fenofases desde a primeira quinzena até a quinta quinzena. A formação efetiva de frutos ocorreu a partir da sexta quinzena (34%) e na última análise ficou com 40%.

Apesar das diferenças encontradas para ambos os tipos de indivíduos, o maior percentual de anteses florais ocorreu na mesma quinzena, o que é essencial para que ocorra a polinização cruzada, ou seja, durante a apresentação secundária do pólen nas inflorescências de indivíduos completos, as flores pistiladas já estão em antese, sendo assim, a possibilidade de polinização ocorrer efetivamente enquanto o maior percentual de flores na população, na localidade do estudo, estão aptas a fecundação.

Estes resultados podem sugerir que os indivíduos completos sejam mais preponderantes dentro da população quanto à apresentação de fenofases mais precoces e abundantes nestes tipos florais como acontece em Piratelli et al. (1998) e Carmo & Franceschinelli (2002), mas como estes ocorrem em menor número, não se pode afirmar se algum tipo de indivíduo possui tal preponderância ou não.

Cabe salientar que os padrões fenológicos podem variar dentro de uma espécie, em relação a ecossistemas distintos, sendo que a taxa de floração e frutificação pode variar entre populações e indivíduos (Stephenson 1981; Newstrom et al. 1994). As variações podem ocorrer por diversos fatores como a exposição à luz, danos nas folhas, estresse hídrico e aborto de flores (Bawa & Webb 1984; Marquis 1988; Wright 1991). Durante o período da produção de sementes, podem ocorrer adaptações relacionadas à atividade dos agentes polinizadores e dispersores, desenvolvimento do fruto e da semente, comportamento de predadores de sementes e às necessidades específicas para a germinação (Janzen 1976).

Fig. 1: Porcentagem de fenofases apresentadas por indivíduos completos durante as quinzenas avaliadas de junho a agosto.

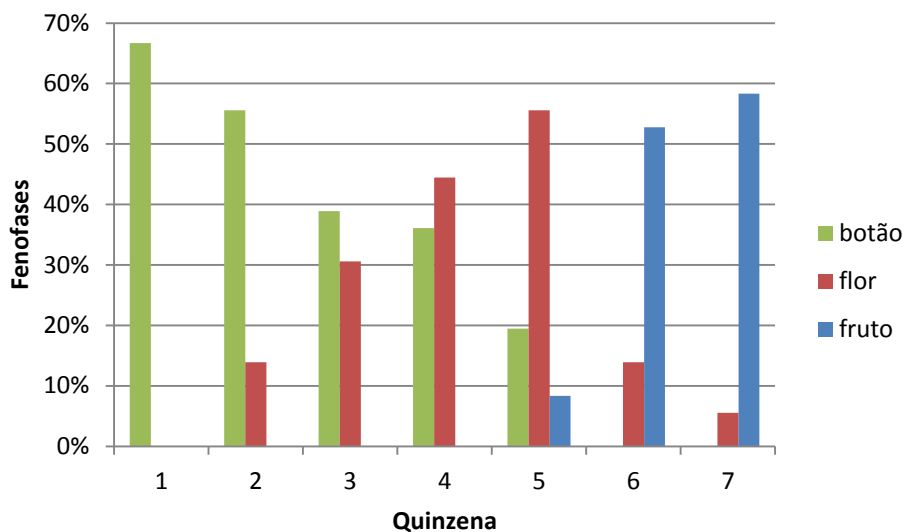
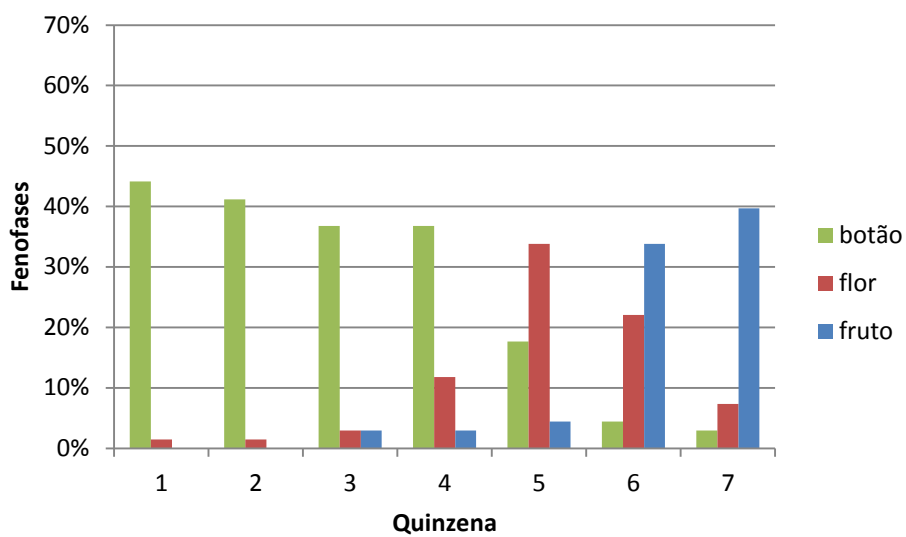


Fig. 2: Porcentagem de fenofases apresentadas por indivíduos completos durante as quinzenas avaliadas de junho a agosto.



*Biologia floral*

*Visitantes florais*



Foi observado nos dois tipos florais vários insetos das ordens Hymenoptera (*Apis mellifera*, *Trigona* sp. e Vespidae), Diptera (Sarcophagidae, *Palpada* sp., Culicidae) e Lepidoptera (Figs. 3 e 4).

Nos indivíduos completos houve uma maior diversidade de insetos visitantes, composta por várias lepidópteras (Fig. 5A - E), dípteros e himenópteros. A borboleta que mais visitou as flores foi *Vanessa brasiliensis* (Fig. 5A e B), enquanto *Apis mellifera* foi o inseto com o maior número visitas.

A espécie que mais realiza visitas em ambos tipos florais é *Apis mellifera*, sendo o número de visitas bem maior do que restante das espécies, representando cerca de 60% do total de visitas. A partir desse fator e do modo de forrageio dessa espécie, onde ela é coberta por grãos de pólen enquanto se alimenta, considera-se a mesma como a principal polinizadora na população estudada de *Dasyphyllum brasiliense*. Entretanto, moscas da família Syrphidae como a *Palpada* sp., encontrada neste estudo (Figs. 3 e 4), são importantes e eficientes polinizadoras, pois são especializadas em se alimentar de pólen e dependem de flores para sua alimentação na fase adulta (Willmer 2011).

Houve uma presença superior de visitantes florais nos indivíduos completos (Fig. 3), o que pode estar relacionado ao maior tamanho destas flores e por ofertarem além do néctar, também grãos de pólen atuando como recurso alimentar, tornando-as assim, mais atrativas aos insetos. Entretanto, o fato de todas as flores da espécie possuírem coloração clara, morfologia semelhante e a presença de um estigma mais vistoso nos indivíduos pistilados, talvez garanta que ocorram visitas nos dois indivíduos.

*Dasyphyllum brasiliense* é estritamente entomófila, mas pode ser considerada generalista quanto a diversidade de insetos visitantes, o que amplia as chances de vários destes serem os seus potenciais polinizadores (Faegri & van Der Pijl 1979), de acordo

com o encontrado para outras espécies de Asteraceae, que apresenta sistema de polinização generalista com inúmeras ordens de insetos polinizadores (Torres & Galetto 2002).

Em cerca de 20 mil espécies de angiospermas, as plantas disponibilizam somente grãos de pólen como recurso para os visitantes florais, podendo também ofertar uma pequena quantidade de néctar (Willmer 2011). Em ambos os casos os grãos de pólen são um recurso primário para atração dos polinizadores (Endress 1994). Neste caso, como ocorre nos indivíduos completos em *D. brasiliense*, a flor é classificada como flor de pólen, já as flores pistiladas como flores de néctar (Vogel 1978).

Figura 3: Visitantes florais observados em indivíduos completos.

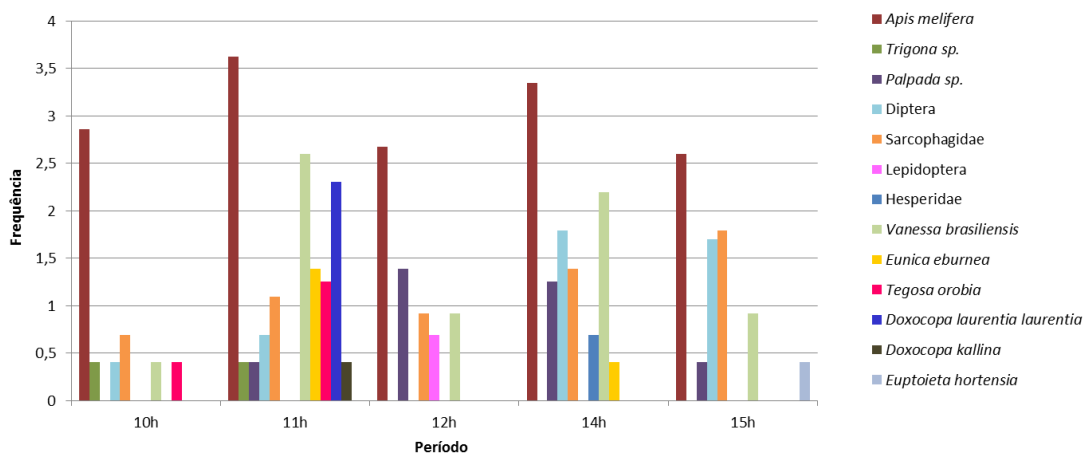


Figura 4: Visitantes florais observados em indivíduos pistilados.

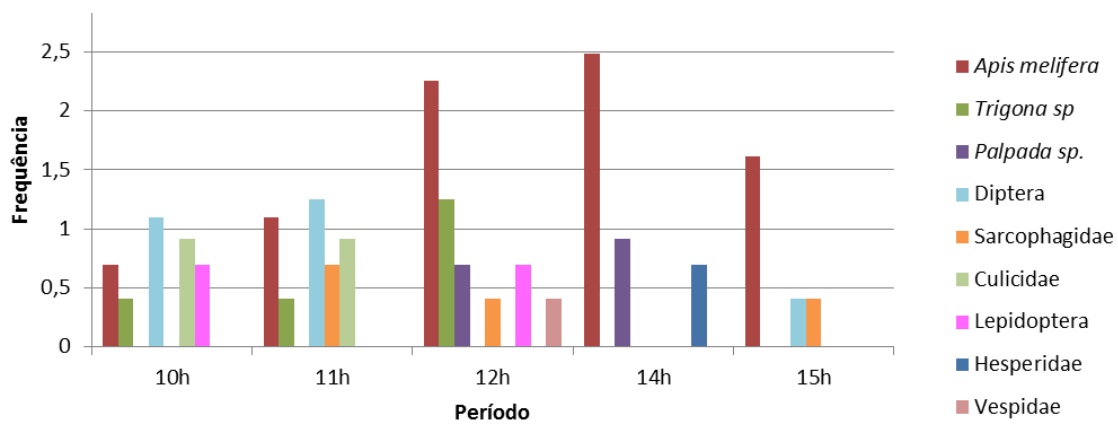


Figura 5: Alguns dos visitantes florais observados em um indivíduo completo, pertencentes à família Nymphalidae, ordem Lepidoptera. Imagens de Suiane Oleques. A e B: *Vanessa brasiliensis*; C: *Eunica eburnea*; D: *Doxocopa laurentia laurentia*; E: *Doxocopa kallina*.



### ***Eficiência da polinização***

As taxas de frutificação não possuem diferença significativa entre os indivíduos completos e pistilados sob polinização manual (0,918 e 0,906, respectivamente) e também entre os indivíduos completos analisados sob polinização natural (0,706) e manual. Entretanto, essa taxa é bem menor nos indivíduos completos analisados sob polinização natural (0,176), apresentando diferença significativa ( $p_{\text{Anova}} < 0,001$ ;  $p_{\text{Tukey}} < 0,01$ ), em relação ao encontrado nas demais situações, constatando-se então limitação polínica nesta análise (razão = 0,191). Entretanto, acredita-se que este resultado ocorreu devido a uma grande quantidade de lagartas observadas durante a análise, alimentando-se e/ou abrigando-se dentro dos frutos nos indivíduos completos (Fig. 6) que, portanto, anula a eficiência da polinização. Também foram encontradas algumas lagartas em frutos de indivíduos pistilados, porém em pouca quantidade. A ocorrência de lagartas foi estatisticamente analisada, realizando-se teste t de *student* no programa *BioEstat* 5.0, a nível de 5% de significância para verificar a diferença na quantidade de lagartas encontradas. A quantidade de lagartas encontradas nos indivíduos completos foi significativamente maior do que nos indivíduos pistilados ( $t = -4,24$ ;  $p < 0,0001$ ).

A ocorrência de predação de sementes em indivíduos completos de espécies ginodioicas já foi relatada na literatura como em Wagner & Miller (1984) e Uno (1982). Tais predadores teriam um papel na moderação do sucesso relativo entre indivíduos pistilados e completos, colaborando para a manutenção dos indivíduos pistilados, com flores menos atrativas aos visitantes florais (Puterbaugh 1998), como encontrado neste trabalho, à exceção das características do estigma. Também já foi relatado que determinados insetos polinizam enquanto ovipositam e escolhem as flores maiores para a oviposição (Brody 1992) como as flores perfeitas de *D. brasiliense*. Sendo assim,

sugere-se que a ocorrência de predação de sementes nos indivíduos completos de *D. brasiliense* também faz parte do processo evolutivo da ginodioicia. Além disso, mesmo aparentemente anulando a eficiência da polinização, considerando polinização e oviposição simultâneas e a provável sensibilidade das fêmeas com relação aos melhores locais de liberação de prole, é possível que a soma de valores de oviposições-predações e frutificações resulte em taxa similar de eficiência da polinização sem os eventos de predação ou parasitismo.

Figura 6: Predação das sementes de indivíduos completos por lagartas.



## Conclusões

*Dasyphyllum brasiliense* depende da realização de polinizações cruzadas, o que impõe a participação efetiva de polinizadores, que foi observada neste trabalho. As visitas de insetos polinizadores é garantida pelos recursos florais de alto valor energético ofertados como o néctar e os grãos de pólen nos indivíduos completos.

A partir do estudo fenológico, observam-se diferenças entre os indivíduos, mas o período de antese floral, onde ocorre a polinização e fecundação, é semelhante, permitindo que ocorra a polinização cruzada. Acredita-se que a o sucesso reprodutivo não seja tão afetado pela baixa taxa de frutificação encontrada nos indivíduos completos, pois estes possuem características marcantes como a presença dos grãos de pólen, maior porcentagem de fenofases e maior frequência de visitas de polinizadores. Pode ser que a predação de sementes encontradas nestes indivíduos seja o que auxilia na manutenção dos indivíduos pistilados dentro da população, os quais ocorrem em maior número. Desta forma, a predação figura como parte importante do processo evolutivo do sistema sexual na espécie.

A partir dos resultados deste trabalho, é possível sugerir que a ginodioicia em *Dasyphyllum brasiliense* pode estar refletindo os aspectos da teoria da alocação de recursos (Bawa 1980; Charlesworth & Charlesworth 1978, 1981), de forma que indivíduos completos devem atuar em maior parte na produção de grãos de pólen, na apresentação secundária, a qual facilita a polinização e na maior emissão de inflorescências, que se observa pelos resultados fenológicos. Já os indivíduos pistilados devem concentrar-se na produção de sementes e, talvez, na disseminação das mesmas.

## Referências bibliográficas

- Araújo FP, Farias YEF, Oliveira PE. 2011. Biologia floral e visitantes de *Gaylussacia brasiliensis* (Spr.) Meissner (Ericaceae) – uma espécie com anteras poricidas polinizada por beija-flores. *Acta Bot. Bras.*, 25(2): 387-394.
- Bawa K. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11: 15-39.
- Bawa KS, Webb CJ. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany*, 71(5): 736-751.
- Brody AK. 1992. Oviposition choices by a pre-dispersal seed predator (*Hylemya* sp.). I. Correspondence with hummingbird pollinators, and the role of plant size, density and floral morphology. *Oecologia*, 91:56–62.
- Cabrera AL. 1959. Revision Del Género *Dasyphyllum*. *Revista del Museo de La Plata, Sección Botánica*, 38: 21-108.
- Cabrera AL, Klein RM. 1973. Compostas, Tribo Mutiseae. In *Flora Ilustrada Catarinense* (R. Reitz, ed.). *Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí*, 1(38): 1-124,
- Carmo RM, Franceschinelli EV. 2002. Polinização e biologia floral de *Clusia arruda* e *Planchon & Triana* (Clusiaceae) na Serra da Calçada, município de Brumadinho, MG. *Revista Brasileira de Botânica*, 25 (3): 351-360.
- Charlesworth D, Charlesworth B. 1978. A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *Am. Natur.* 112: 975 997.
- Charlesworth D, Charlesworth B. 1981. Allocation of resources to male and female function in hermaphrodites. *Biol. J. Linnean Soc.* 15: 57 74.

Charlesworth D. 2006. Evolution of plant breeding system. *Current Biology*, 16: 726–735.

Darling ES, Barrett SCH. 2011. Sit-and-wait pollination in the spring flowering woodland plant, *Trillium grandiflorum*. *Journal of Pollination Ecology*, 5: 81-85.

Dufay M, Billard E. 2012. How much better are females? The occurrence of female advantage, its proximal causes and its variation within and among gynodioecious species. *Annals of Botany*, 109(3): 505-519.

Endress PK. 1994. Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances. *Plant Systematic and Evolution*, 192, 79-97.

Faegri K, van Der Pijl, L. 1980. *The principles of pollination ecology*. Oxford, Pergamon Press.

Ferrer MM, Good-Avila SV. 2007. Macrophylogenetic analysis of the gain and loss of self-incompatibility in the Asteraceae. *New Phytol*, 173: 401 – 414.

Fournier LA. 1974. Um método quantitativo para la medición de características fenológicas em árboles. *Turrialba*, 24: 422-423.

Freeman DC, Harper KT, Charnov EL. 1980. Sex change in plants: old and new observations and new hypotheses. *Oecologia*, 47: 222-232.

Hereford J. 2010. Does selfing or outcrossing promote local adaptation? *American Journal of Botany*, 97: 298–302.

Janzen DH. 1976. Seeding patterns of tropical trees. In: Tommilinson, PB; Zimmermann, MH. (Eds.). *Tropical trees as living systems*. Cambridge: Cambridge University, p. 88-128.

Marquis RJ. 1988. Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper arieianum*: causes and consequences. *Ecology*, 69, 1552-1565.



Mitchell CH, Digglee PK. 2005. The evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergence results from diverse developmental transitions. *American Journal of Botany*, 92: 1068-1076.

Mondin CA, Batista LRM. 1996. Relações biogeográficas da tribo Mutisieae Cass. (Asteraceae), sensu Cabrera, no Rio Grande do Sul. Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia, Universidade Católica do Rio Grande do Sul. *Série Botânica*, 2(1): 49-152.

Newstrom LE, Frankie GW, Baker HG, Colwell RK. 1994. Diversity of long-term flowering patterns. In *La Selva: Ecology and natural history of a neotropical rain forest* (L.A. McDade, K.S. Bawa, H.A. Hespenheide & G.S. Harstshorn, eds.). University of Chicago Press, Chicago, p.142-160.

Noyes RD. 2007. Apomixis in the Asteraceae: diamonds in the rough. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 1: 207–222.

Piratelli AJ, Piña-Rodrigues FCM, Gandara FB, Santos EMG, Costa LGS. 1998. Biologia da polinização de *Jacaratia spinosa* (AUBL) ADC. (CARICACEAE) em mata residual do sudeste brasileiro. *Revista Brasileira de Biologia*, 58 (94): 671-679.

Puterbaugh MN. 1998. The roles of ants as flower visitors—experimental analysis in three alpine plant species. *Oikos*, 83:36–46.

Stephenson AG. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 12: 253-279.

Sun M, Ganders FR. 1987. Microsporogenesis in male-sterile and hermaphroditic plants of nine gynodioecious taxa of Hawaiian *Bidens* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, 74: 209-217.

Torres, C; Galetto, L. 2002. Are nectar sugar composition and corolla tube length related to the diversity of insects that visit Asteraceae flowers? *Plant Biology*, 4(3): 360-366.

Uno GE. 1982. Comparative reproductive biology of hermaphroditic and male-sterile *Iris douglasiana* Herb (Iridaceae). *American Journal of Botany*, 69: 818–823.

Vogel S. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. *In*: Richards, A. (ed.) *The pollination of flowers by insects*. Linn. Soc. Symposium Series 6. London, Academic Press.

Wagner DH, Miller JW. 1984. Gynodioecy in *Tellima grandiflora* (Pursh) Dougl. (Saxifragaceae). *American Journal of Botany*, 70: 93.

Willmer P. 2011. *Pollination and Floral Ecology*. New Jersey, Princeton University Press.

Wright SJ. 1991. Seasonal drought and the phenology of understory of shrubs in a tropical moist forest. *Ecology*, 72(5): 1643-1657.