

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

GABRIELA GARIANI QUINTO

**BIOLOGIA FLORAL, BIOLOGIA REPRODUTIVA E FITÓLITOS DE *Justicia*
ramulosa (Morong) C.Ezcurra (Acanthaceae)**

CAMPO MOURÃO

2023

GABRIELA GARIANI QUINTO

BIOLOGIA FLORAL, BIOLOGIA REPRODUTIVA E FITÓLITOS DE *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra (Acanthaceae)

Floral biology, reproductive biology and phytoliths of *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra (Acanthaceae)

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Raquel de Oliveira Bueno;

Coorientador: Mauro Parolin.

CAMPO MOURÃO

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

GABRIELA GARIANI QUINTO

BIOLOGIA FLORAL, BIOLOGIA REPRODUTIVA E FITÓLITOS DE *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra (Acanthaceae)

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 07/06/2023

Elizabete Satsuki Sekine

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão

Marcelo Galeazzi Caxambu

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão

Raquel de Oliveira Bueno

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão

Mauro Parolin

Doutorado

Universidade Estadual do Paraná – Campus Campo Mourão

CAMPO MOURÃO

2023

Dedico este trabalho aos meus pais, que me apoiaram
durante toda a caminhada, amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu forças para enfrentar todos os desafios e terminar esta importante etapa da minha vida, me guiou e me iluminou diante todas as dificuldades e decisões a serem tomadas nessa etapa.

Agradeço imensamente aos meus pais, que seguraram minha mão em todos os momentos, enxugaram minhas lágrimas e não me deixaram desistir. Agradeço por terem me apoiado incondicionalmente, ficado do meu lado e me abraçarem nos momentos difíceis, nada disso seria possível sem vocês, sem as palavras de força e todo o amor que me deram desde sempre, obrigada por tudo! Agradeço aos meus irmãos, Thiago, Mateus e Julia que por muitas vezes deixaram os momentos mais leves e me acolheram. Agradeço a Mel, Pandora, Amora e Bud, por todo o companheirismo e por deixarem a vida mais feliz.

Agradeço a minha Vó Cida, que enxugou minhas lágrimas e me deu força com os melhores abraços que eu poderia receber, agradeço a minha Vó Zizi, meu vô Duda e meu Vô Maurilio, que não tenho dúvidas que olharam e zelaram por mim lá de cima.

Agradeço ao meu namorado, Victor Matheus, que sempre acreditou em mim e me deu forças juntamente aos meus pais para enfrentar esse momento tão decisivo, obrigada por estar do meu lado e confiar em mim quando eu não confiei, obrigada por todas as risadas e momentos de distração que me ajudaram continuar firme, você é luz na minha vida.

Agradeço a minha professora orientadora Prof. Dr. Raquel de Oliveira Bueno, que desde o dia que eu a abordei no corredor no intervalo de aula, nunca deixou de me passar seus melhores ensinamentos, obrigada por me mostrar o mundo da pesquisa e por me acolher em seus projetos, meu crescimento pessoal e profissional na graduação tomou impulso com você prof., nunca vou deixar de agradecer!

Agradeço ao professor Dr. Marcelo Galeazzi Caxambu, que mudou minha graduação me acolhendo no Herbário HCF, toda minha gratidão não será suficiente pelo tanto que aprendi nesse local, obrigada por cada família de planta que aprendi com você, por cada bronca, por cada palavra de acolhimento e por me acalmar nos momentos de ansiedade, obrigada pelo apoio incondicional! Obrigada por cada um de dentro do Herbário, vocês foram essenciais.

Agradeço ao meu professor coorientador Prof. Dr. Mauro Parolin, que desde o momento que o projeto de pesquisa foi iniciado, não mediu esforços para me ajudar a finalizar o trabalho. Obrigada ao LEPAFE e especialmente a Tainara que ajudou em todas as análises e me acolheu tão bem no laboratório de vocês.

Agradeço as minhas amigadas Júlia Castro, Nathalia Sia, Bianca Gabriela, Letícia Varraschin, entre outros, que tornaram os dias mais leves e mais felizes, por cada risada e por cada momento de angústia passados juntos, vocês foram essenciais nessa etapa! Agradeço a Steffanny Silvestre, Ana Maria, Julia Mara, Nathalia Tomé e Indira Klepa que foram meu refúgio durante todos esses anos. Agradeço imensamente ao Edemilson Luiz Siqueira, por cada viagem, cada coleta e principalmente por cada conselho, por me acolher tão bem e me acalmar como ninguém. Obrigada por cada gargalhada e por cada puxão de orelha quando precisei, amo vocês.

Obrigada por todos os professores que me auxiliaram nesta etapa! Agradeço a UTFPR pela chance.

RESUMO

A família Acanthaceae engloba cerca de 250 gêneros e 2.500 espécies. Com distribuição pantropical, chegando até algumas regiões temperadas, o gênero *Justicia* L. é o maior e mais complexo da família, e possui grande número de espécies nas regiões tropicais e subtropicais das Américas. *Justicia ramulosa* é considerada vulnerável, provavelmente pela baixa eficiência do polinizador, no caso os beija-flores, onde pouca quantidade de pólen foi observada em tais aves. Diversos estudos vêm sendo realizados para melhor conhecimento da espécie, dentre eles a utilização do bioindicador fitólito, que cresceu consideravelmente nos últimos anos no Brasil. O presente trabalho tem como objetivo verificar a biologia da polinização em uma população de *Justicia ramulosa* (Morong) C. Ezcurra, bem como a presença e formato do fitólito desta espécie. O estudo foi realizado em uma população de *J. ramulosa* presente em um bosque localizado dentro do campus da Universidade Tecnológica Federal do Paraná em Campo Mourão. Para a verificação da biologia floral de *Justicia ramulosa*, foram realizados os testes de receptividade do estigma e viabilidade do pólen, juntamente com a realização de algumas medidas de tamanho das flores. Foram realizados testes de polinização cruzada e de autopolinização para verificação dos mecanismos de reprodução de *J. ramulosa* na população estudada. Para a extração dos fitólitos, foi realizada a separação de porções de 3g do tecido vegetal seco das folhas e caule da planta, juntamente ao tratamento químico para queima da porção orgânica da planta. A população estudada era composta de 91 plantas, das quais 43 possuíam flor, com uma média de 2,28 ($\pm 1,82$) flores por planta. A antese das flores ocorreu entre 7:00 e 8:00 da manhã e o fechamento das flores ocorreu próximo as 19 horas. O estigma se mostrou receptivo em todos os momentos de realização do teste, entre as 8:00 horas e as 17:00 horas, já a viabilidade polínica variou de 2,44% a 79,71%, com uma média de 46,69% ($\pm 32,55$). São considerados de alta viabilidade do pólen valores acima de 70%, já os valores até 30% são considerados de baixa viabilidade. Os grãos de pólen foram descritos como mônades, grandes, âmbito elíptico, prolatos, dicolporados, colpos curtos e isopolares. Para os dois tratamentos realizados foram observados a formação de frutos e sementes, onde todas as seis flores isoladas para realização de cada teste geraram frutos, levando a uma taxa de frutificação de 100%. Os dois tipos de tratamento levaram a formação de frutos, sendo o que a autopolinização manual apresentou o maior número de sementes. A família Acanthaceae é citada na literatura como de produção abundante de fitólitos. O morfotipo mais abundante encontrado foi o *ACUTE*, o comprimento médio encontrado para este morfotipo foi de 45,2 μ m ($\pm 9,7$). A relevância dos trabalhos sobre morfologia de fitólitos é cada vez mais evidenciada, visto que o estabelecimento de assembleias fitolíticas, extraídas de plantas atuais, pode influir em estudos sobre reconstruções paleoambientais.

Palavras-chave: Espécie ameaçada; biologia reprodutiva; visitantes florais, depósitos de sílica vegetal.

ABSTRACT

The Acanthaceae family includes about 250 genera and 2,500 species. With a pantropical distribution, reaching some temperate regions, the genus *Justicia* L. is the largest and most complex of the family, and has a large number of species in the tropical and subtropical regions of the Americas. *Justicia ramulosa* is considered vulnerable, probably due to the low efficiency of the pollinator, in the case of hummingbirds, where a small amount of pollen was observed in such birds. Several studies have been carried out to better understand the species, among them the use of the phytolith bioindicator, which has grown considerably in recent years in Brazil. The present work aims to verify the pollination biology in a population of *Justicia ramulosa* (Morong) C. Ezcurra, as well as the presence and shape of the phytolith of this species. The study was carried out in a population of *J. ramulosa* present in a forest located within the campus of the Universidade Tecnológica Federal do Paraná in Campo Mourão. To verify the floral biology of *Justicia ramulosa*, tests of stigma receptivity and pollen viability were carried out, together with some measurements of the size of the flowers. Cross-pollination and self-pollination tests were carried out to verify the reproduction mechanisms of *J. ramulosa* in the studied population. For the extraction of phytoliths, the separation of 3g portions of dry plant tissue from the leaves and stem of the plant was carried out, together with the chemical treatment to burn the organic portion of the plant. The studied population consisted of 91 plants, of which 43 had flowers, with an average of 2.28 (± 1.82) flowers per plant. The anthesis of the flowers occurred between 7:00 and 8:00 in the morning and the closing of the flowers occurred around 19:00. The stigma was receptive at all times during the test, between 8:00 a.m. and 5:00 p.m., while pollen viability ranged from 2.44% to 79.71%, with an average of 46.69 % (± 32.55). Values above 70% are considered high viability of pollen, whereas values up to 30% are considered low viability. The pollen grains were described as monads, large, elliptical shape, prolate, dicolporate, short colpi and isopolar. For the two treatments carried out, the formation of fruits and seeds was observed, where all six flowers isolated for the performance of each test generated fruits, leading to a fruiting rate of 100%. The two types of treatment led to the formation of fruits, with manual self-pollination having the highest number of seeds. The Acanthaceae family is cited in the literature as producing abundant phytoliths. The most abundant morphotype found was the ACUTE, the average length found for this morphotype was 45.2 μm (± 9.7). The relevance of works on phytolith morphology is increasingly evident, since the establishment of phytolithic assemblages, extracted from current plants, can influence studies on paleoenvironmental reconstructions.

Keywords: Threatened species; reproductive biology; floral visitors, plant silica deposits.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fotografia 1 - Hábito de <i>Justicia ramulosa</i> (Morong) C.Ezcurra em ambiente de bosque em formação da UTFPR, campus Campo Mourão, Paraná	18
Fotografia 2 - Flor de <i>Justicia ramulosa</i> (Morong) C.Ezcurra em campo.	19
Figura 1 - Mapa de localização da área de estudo.....	22
Figura 2 - Estigmas de flores de <i>Justicia ramulosa</i> (Morong) C.Ezcurra (Acanthaceae) reagindo ao peróxido de hidrogênio 2%.	25
Figura 3 - Diferença entre grãos de pólen: A) viáveis (coloridos); e B) não-viáveis (sem coloração), de <i>Justicia ramulosa</i> (Morong) C.Ezcurra (Acanthaceae).	26
Fotografia 3 - Diferentes comprimentos de estigmas pistilos (seta) e corolas de <i>Justicia ramulosa</i> (Morong) C.Ezcurra (Acanthaceae).....	27
Figura 4 - Fitólitos no morfotipo <i>ACUTE</i> encontrados em <i>J. ramulosa</i> (Morong) C.Ezcurra. Tamanho da barra: 56µm.....	30
Figura 5 - Diferentes morfotipos de fitólitos encontrados em <i>J. ramulosa</i> (Morong) C.Ezcurra. Na figura estão identificados: A – <i>ELONGATE</i> , B – <i>SPHEROID CAVATE</i> , C – <i>TABULAR GRANULATE</i> , D – <i>BLOCKY</i> , E – <i>BLOCKY</i> , F – <i>JIG-SAW-PUZZLE/BLOCKY</i> , G – <i>SPHEROID PSILATE</i> , H – <i>TABULAR POLYGONAL</i> , I – <i>TABULAR POLYGONAL/BLOCKY PSILATE</i> , J – <i>BLOCKY PSILATE</i> , K – <i>BLOCKY</i> , L – <i>ELONGATE ENTIRE</i> , M – <i>TABULAR POLYGONAL</i> , N – <i>POLYGONAL</i> , O – <i>JIGSAW-PUZZLE</i> , P – <i>ACUTE</i> . Tamanho da barra: 56µm.....	31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
1.1	Objetivos.....	10
1.1.1	Objetivo geral	10
1.1.2	Objetivos específicos	10
1.2	Justificativa	10
2	REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA.....	12
2.1	Polinização e visitantes florais em Acanthaceae	12
2.2	<i>Justicia ramulosa</i> (Morong) C. Ezcurra (Acanthaceae)	13
2.3	Ameaças à flora brasileira: porque <i>Justicia ramulosa</i> (Morong) C. Ezcurra (Acanthaceae) está na lista das espécies vulneráveis?	15
2.4	Fitólitos	16
3	MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1	Área de estudo.....	18
3.2	Coleta de dados	19
3.2.1	Biologia floral.....	19
3.2.2	Biologia reprodutiva	19
3.2.3	Fitólito	20
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1	Biologia floral.....	21
4.2	Biologia reprodutiva.....	23
4.3	Fitólitos	25
5	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

A polinização é um fator essencial para a reprodução sexuada das plantas e responsável pela manutenção da variabilidade genética entre os vegetais. Em populações vegetais, a polinização pode ocorrer na própria planta, onde o grão de pólen é transportado para o estigma da mesma flor ocorrendo a autopolinização. Também pode ocorrer entre plantas diferentes, com a transferência do pólen de uma flor para o estigma de outra flor da mesma espécie, com influência de agentes polinizadores (SOUZA *et al.*, 2007). Estudos acerca da biologia da polinização de espécies vegetais nativas constituem uma ferramenta relevante para verificar a presença da fauna associada e as interações promovidas, sendo usada também como indicador para avaliação da conservação em áreas de vegetação natural alterada ou remanescente (ARRUDA *et al.*, 2015).

A família Acanthaceae engloba cerca de 250 gêneros e 2.500 espécies com distribuição pantropical, chegando até algumas regiões temperadas. No Brasil apresenta maior número de espécies na Mata Atlântica e nas formações florestais mesófilas das Regiões Sudeste e Centro-Oeste, mas presente também em outras formações vegetais (KAMEYAMA, 2006). Compreende em sua maioria plantas herbáceas a arbustivas, estando entre as mais ricas nos sub-bosques de florestas tropicais. Estudos demonstram que a ornitofilia está entre as síndromes florais mais comuns na família (ARRUDA *et al.*, 2015).

O gênero *Justicia* L. é o maior e mais complexo de Acanthaceae, e o que possui grande número de espécies nas regiões tropicais e subtropicais das américas. Diversas espécies possuem importância ecológica por serem elementos abundantes na vegetação rasteira de selvas e florestas úmidas, ou por serem frequentes ou dominantes em ambientes semiáridos. O gênero é muito diversificado em suas exigências ecológicas (EZCURRA, 2002) e compreende mais de 600 espécies amplamente distribuídas em ambos os hemisférios, especialmente nos trópicos. Espalhando-se também para as regiões temperadas do mundo, apresentam um importante centro de diversidade na América do Sul, onde são encontradas cerca de 300 espécies. Aparentemente, a grande área e a diversidade de ambientes da região subtropical da América do Sul permitiram a evolução e diversificação de várias linhagens diferentes de *Justicia*, a exemplo de *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra que é caracterizada por suas flores vermelho-púrpura em espigas densas com brácteas imaturas, possui ampla distribuição na América do Sul, assim como outras do gênero, desde o Peru ao Sul da Argentina (EZCURRA, 2002).

Diversos estudos podem ser realizados para melhor conhecimento da espécie, dentre

eles a utilização do bioindicador fitólito, que cresceu consideravelmente nos últimos anos no Brasil, despertando o interesse de muitos pesquisadores. A ampliação do conhecimento possibilitou a implementação de diversas abordagens como arqueológico ou paleoambiental, por se tratarem de um material resistente, se mostram estáveis aos efeitos adversos do intemperismo físico, químico e/ou biológico de determinados ambientes (AGUIAR *et al.*, 2019).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo verificar a biologia da polinização em uma população de *Justicia ramulosa* (Morong) C. Ezcurra, bem como a presença e formato do fitólito desta espécie.

1.1.2 Objetivos específicos

- Verificar a biologia floral de *J. ramulosa*;
- Verificar se há polinização cruzada e autopolinização em plantas de *J. ramulosa*;
- Verificar quem são os visitantes florais de *J. ramulosa*;
- Diagnosticar a presença e formatos dos fitólitos da espécie.

1.2 Justificativa

A família Acanthaceae engloba em sua maioria plantas herbáceas a arbustivas, sendo uma das mais ricas nos sub-bosques de florestas tropicais, também no Brasil. Estudos recentes mostram altos graus de interações com diferentes fatores que compõem a biota. Esses e demais aspectos taxonômicos e florísticos da família vêm sendo estudados em projeto de pesquisa que trata das Acanthaceae em remanescentes de vegetação natural no Estado do Rio de Janeiro (ARRUDA *et al.*, 2015).

O conhecimento do sistema de reprodução de uma espécie é importante para a sua conservação, permitindo a definição de estratégias de seleção com base em cruzamentos intra e interpopulacionais (DANNER *et al.*, 2011) além de possibilitar o acompanhamento e comparação de diferentes períodos de reprodução. Frente à escassez de trabalhos relacionados com a biologia reprodutiva de espécies do gênero *Justicia*, estudos que visem determinar o sistema de reprodução são fundamentais para o conhecimento do grupo (PADILHA; SOUZA; LUDKE, 2019). A avaliação da viabilidade do grão de pólen é um fator elementar para que ele

venha a ter oportunidade de germinar no estigma da flor, sendo um estágio decisivo para fertilização (DAFNI, 1992). Segundo Silva *et al.* (2010) a receptividade do estigma é resultado da maturação do gameta feminino e pode influenciar na taxa de fecundação e no sucesso da polinização. Tais fatos evidenciam a importância de se realizar testes a fim do conhecimento de particularidades da espécie. Segundo Doná, Rodrigues e Araújo (2007) embora tenham sido constatadas visitas de beija-flores em *J. ramulosa*, nas aves capturadas para análise não foi observado pólen dessa espécie. Esse fato poderia ser resultado das capturas não efetivas de beija-flores no período de floração desta espécie, ou sugerir baixa eficiência de polinização para essas plantas na área em questão, apesar de diversos estudos realizados apontarem que a ornitofilia está dentre as síndromes florais mais frequentes na família (ARRUDA *et al.*, 2015). Tal evidência, aponta a necessidade de pesquisas mais abrangentes em relação aos visitantes florais de Acanthaceae.

Outro estudo emergente acerca de formações vegetais são os fitólitos, diversas áreas da ciência como a paleobotânica, geografia, arqueologia, paleontologia, ecologia, pedologia e afins têm utilizado tal técnica para interpretações variadas (RASHID *et al.*, 2019). Os fitólitos de determinada planta podem ficar acumulados no solo quando esta ou parte dela morre, o que lhes tem concedido a utilização como registros fósseis terrestres duráveis e assim se tornando uma importante ferramenta de interpretação nos estudos paleoambientais e arqueológicos. Os fitólitos apresentam alta resistência à decomposição, assim são muito utilizados em trabalhos de reconstrução paleoambiental e em arqueologia. Deste modo, assumem uma importância singular, sendo utilizados em locais onde, por exemplo, a preservação polínica não é favorável (MONTEIRO *et al.* 2013).

Visto a emergente degradação de recursos naturais e seus diversos impactos na sociedade, os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) são um apelo global à ação para proteger o meio ambiente e o clima e garantir que as pessoas, em todos os lugares, possam desfrutar de paz e de prosperidade. Dentre estes, encontra-se o Objetivo 15 - Vida terrestre - o qual consiste em proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da terra e deter a perda de biodiversidade. O Objetivo 13 - Ação contra a mudança global do clima - diz respeito a adotar medidas urgentes para combater as alterações climáticas e os seus impactos (AGENDA 2030, 2015). Estudos acerca de espécies ameaçadas como *Justicia ramulosa*, são de suma importância para o cumprimento e efetivação de tais objetivos, visto a carência de conhecimento sobre tal espécie.

2 REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA

2.1 Polinização e visitantes florais em Acanthaceae

Os visitantes florais são aqueles que buscam recursos nas flores, porém, para ser considerado um polinizador efetivo, há a necessidade da realização da transferência do pólen presente nas anteras para o estigma da flor de uma mesma espécie de planta, tal processo é denominado polinização e pode ocorrer com o pólen e estigma de uma mesma flor (autopolinização), entre a antera e estigma de flores diferentes de um mesmo indivíduo (geitonogamia), entre antera e estigma de flores de indivíduos diferentes (xenogamia) (ALVES-DOS-SANTOS *et al.*, 2016). As síndromes de polinização normalmente levam a grupos específicos de visitantes florais e deste modo podem apontar a possível comunidade de polinizadores, porém a definição do polinizador deve ser tratada com atenção, as síndromes florais não são guias completamente precisos e isentos de erros (FERREIRA e CONSOLARO, 2013).

A percepção de questões ligadas à reprodução das Angiospermas, como o modo de polinização e o sistema reprodutivo das espécies, são relevantes para a compreensão das funções e serviços ecossistêmicos (MATIAS e CONSOLARO, 2015). Segundo Silva e Nogueira (2012) são poucas as investigações acerca da biologia reprodutiva de espécies de Acanthaceae no Brasil. Os trabalhos desenvolvidos com Acanthaceae estão centralizados na região sudeste, juntamente ao bioma Mata Atlântica, e em outras regiões são relativamente escassos, mesmo contendo alta riqueza de espécies no Centro-Oeste (MATIAS e CONSOLARO, 2015).

Matias e Consolaro (2015) realizaram uma revisão bibliográfica a partir de estudos desenvolvidos com a família Acanthaceae. Com base nos trabalhos analisados quatro diferentes síndromes de polinização foram encontradas, sendo elas: troquilofilia (polinização por beija-flores), melitofilia (polinização por abelhas), psicofilia (polinização por borboletas) e quiropterofilia (polinização por morcegos). A mais frequente síndrome de polinização encontrada na família Acanthaceae foi a troquilofilia com 23 espécies (79,31%), seguida pela melitofilia, presente em quatro espécies (13,79%), seguida da psicofilia (3,45%) e quiropterofilia (3,45%) com uma espécie cada.

Beija-flores pertencentes a família Trochilidae compõem o grupo majoritário de visitantes florais em espécies da família Acanthaceae no Brasil. Ao todo, 20 espécies de beija-flores apresentaram interações com 86,2% das 29 espécies de Acanthaceae estudadas. Destaca-se que o gênero predominante de beija-flor visitante foi *Phaethornis* com quatro espécies, sendo

que *Phaeatornis pretrei* (Lesson & DeLattre, 1839) apresentou maior número de interações com flores de Acanthaceae (MATIAS e CONSOLARO, 2015).

A revisão aponta ainda que as abelhas foram o segundo grupo de visitantes mais frequentes considerando as espécies de Acanthaceae estudadas. Das 29 espécies estudadas, 34,5% foram apontadas sendo visitadas por abelhas. Já as borboletas foram registradas visitando quatro espécies, sendo 13,8% da totalidade de espécies estudadas. Quanto a outros possíveis visitantes, como morcegos, mariposas, vespas, moscas e besouros verificou-se que são limitados quanto à visita a flores de Acanthaceae no Brasil.

A revisão de Matias e Consolaro (2015) mostra que, com base nas espécies de Acanthaceae estudadas e suas interações com os visitantes florais que realizam polinização, a família apresenta como característica comum a generalização ecológica e a especialização funcional. Ou seja, houve diversas espécies de polinizadores interagindo com uma única espécie de Acanthaceae (generalização ecológica) (OLLERTON *et al.*, 2007), isso ocorreu em 75,9% das espécies analisadas. Mas houve também, espécies de Acanthaceae que foram visitadas por polinizadores de um mesmo nível taxonômico (especialização funcional) (OLLERTON *et al.*, 2007). A predominância da especialização funcional, em conjunto a generalização ecológica na família, pode estar atrelada ao fato de que diversas espécies da família Acanthaceae são polinizadas por várias espécies de beija-flores. Com o levantamento de tais dados, percebe-se a necessidade da realização de mais estudos para melhor entendimento da evolução dos sistemas de polinização na família Acanthaceae (MATIAS e CONSOLARO, 2015).

2.2 *Justicia ramulosa* (Morong) C. Ezcurra (Acanthaceae)

Representantes do gênero *Justicia* L. são capazes de serem reconhecidos pela existência de cristólitos nas folhas e ramos das plantas, geralmente possuem corola bilabiada, androceu com dois estames, anteras bitecas, sendo as tecas com forma e posição distintas, e pelas cápsulas com quatro sementes e base estéril sólida (BRAZ e AZEVEDO, 2016). A espécie *J. ramulosa* (**Fotografia 1 e 2**) é encontrada como subarbusto ereto, com até 1,6 m de altura e destaca-se pelas brácteas pubescentes e corola com coloração roxa (HAMMES, 2017).

Com uma grande distribuição na América do Sul, *J. ramulosa*, pode ser encontrada no Peru, sudeste do Brasil, Bolívia, Paraguai e norte da Argentina, a menos de 500m de elevação (EZCURRA, 2002). No Brasil é encontrada apenas no Paraná e no Mato Grosso, nos domínios de Cerrado e Floresta Estacional Decidual (CHAGAS e COSTA-LIMA, 2020).

A espécie é considerada vulnerável, fato que se dá provavelmente pela baixa eficiência do polinizador, no caso os beija-flores, onde pouca quantidade de pólen foi observada em tais

aves (CENTRO NACIONAL DE CONSERVAÇÃO DE FLORA, 2012). Das 12 espécies de *Justicia* encontradas no Parque Nacional do Iguaçu, sete são novos registros para Floresta Estacional Semidecidual, dentre elas, *Justicia ramulosa*. No Parque Nacional do Iguaçu esta espécie ocorre apenas nas áreas de Foz do Iguaçu e Capanema e pode ser encontrada com flores nos meses de maio e junho (HAMMES, 2017).

Fotografia 1 - Hábito de *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra em ambiente de bosque em formação da UTFPR, campus Campo Mourão, Paraná.



Fonte: Autoria própria (2022)

Fotografia 2 - Flor de *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra em ambiente de bosque em formação da UTFPR, campus Campo Mourão, Paraná, o círculo indica a antera da flor.



Fonte: Autoria própria (2022)

2.3 Ameaças à flora brasileira: porque *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra (Acanthaceae) está na lista das espécies vulneráveis?

Em virtude da globalização crescente nos últimos anos, o intenso progresso dos meios de comunicação e das tecnologias ligaram todo o mundo, o crescimento rápido e desenfreado das atividades produtivas e econômicas levaram ao desenvolvimento do frenético mercado que não desacelera nem se preocupa com consequências futuras. Esse emergente crescimento das atividades produtivas traz graves impactos para o meio ambiente, sendo o desmatamento uma dessas consequências, colocando em risco importantes riquezas do planeta, seja da fauna ou flora (GELAIN *et al.*, 2012). Segundo Bellard *et al.* (2012), as crescentes mudanças climáticas, oriundas do processo de globalização, podem afetar diversas espécies e eventualmente podem não se adaptar mais às condições ambientais de um local específico ficar fora de seu nicho climático ótimo.

Kerr *et al.* (2005) cita o desmatamento como uma das principais causas do declínio de polinizadores no globo. Como exemplo, podemos tomar o declínio das abelhas, onde os efeitos da diminuição ou extinção de espécies das abelhas nativas são evidentes. À medida que ocorre o aumento do número de nichos ecológicos, a importância das abelhas também aumenta e a proporção de espécies de plantas bissexuais e auto estéreis aumentam do mesmo modo. Os diferentes biomas e formações vegetais se organizam atualmente em espécies agrupadas, dependentes de uma competição interespecífica feita por milhares de anos. É consequência direta da sua capacidade de atrair polinizadores a existência de 30% a 80% das plantas, além da dependência do solo, do clima, da sua constituição gênica e sua perenidade nos trópicos e subtropicais (KERR *et al.* 2005). A presença de polinizadores sinaliza ainda qualidade ambiental, e para conservar tal fato deve-se atentar para a preservação das abelhas, que com as crescentes mudanças climáticas vêm sofrendo ameaças que podem levar ao seu desaparecimento (BARBOSA *et al.*, 2017).

As espécies e os serviços ecossistêmicos estão em visível redução em todo o globo, unir a sua conservação ao desenvolvimento sustentável é um grande desafio. As estratégias de pesquisa em conservação, por mais que sejam bem pensadas e aplicáveis, necessitam de aprovação da opinião pública e de governantes, que muitas vezes se opõem quanto à importância em conservar a biodiversidade, assim, observa-se a emergente necessidade de dar atenção à conservação da biodiversidade brasileira (COSTA e MELLO, 2021).

2.4 Fitólitos

Os fitólitos são corpos microscópicos de sílica precipitados ao longo da vida, nos tecidos das plantas (MEDEANIC *et al.*, 2008). Estes compostos de sílica são variáveis em sua morfologia e dimensão, dentro de uma mesma espécie de planta, em raízes, caules e folhas (TWISS, 2001). A sílica dissolvida em águas subterrâneas é a principal fonte para a deposição de fitólitos dentro da planta (MEDEANIC *et al.*, 2008). Estes são mais abundantes do que os grãos de pólen e esporos de plantas terrestres, por apresentar uma composição inorgânica, apresentam maior resistência à destruição nos sedimentos, tornando-se assim uma ferramenta importante nas reconstruções da paleovegetação (CANDELARI e PAROLIN, 2012).

Segundo Ricardo *et al.* (2018) análises de fitólitos permitem, a caracterização específica e funcional de plantas, reconstruções paleobotânicas e paleoambientais, comparando com assembleias fitolíticas de vegetações modernas e à identificação taxonômica das plantas e possível identificação da vegetação, semelhante ao pólen, reconstruções arqueológicas,

contribuindo para a formação de sítios arqueológicos, estudo de formas de vida passadas, alimentação, agrossistemas, etc., melhor entendimento das relações de evolução e degradação dos solos, auxilia na relação das matrizes e sua ligação com a estabilidade dos agregados do solo, contribui também para melhor domínio do ciclo biogeoquímico da sílica.

Para a formação e produção de fitólitos, o processo tem início ainda no solo por meio da dissolução do silício por meio da intemperização dos minerais primários e secundários, podendo ser originado também pela decomposição de matéria vegetal, dissociação do ácido silícico polimérico, liberação de silício de óxidos de Ferro e Alumínio e dissolução de minerais cristalinos e não cristalinos, deste modo se torna disponível no solo para a absorção pelas plantas (LEPSCH, 2011).

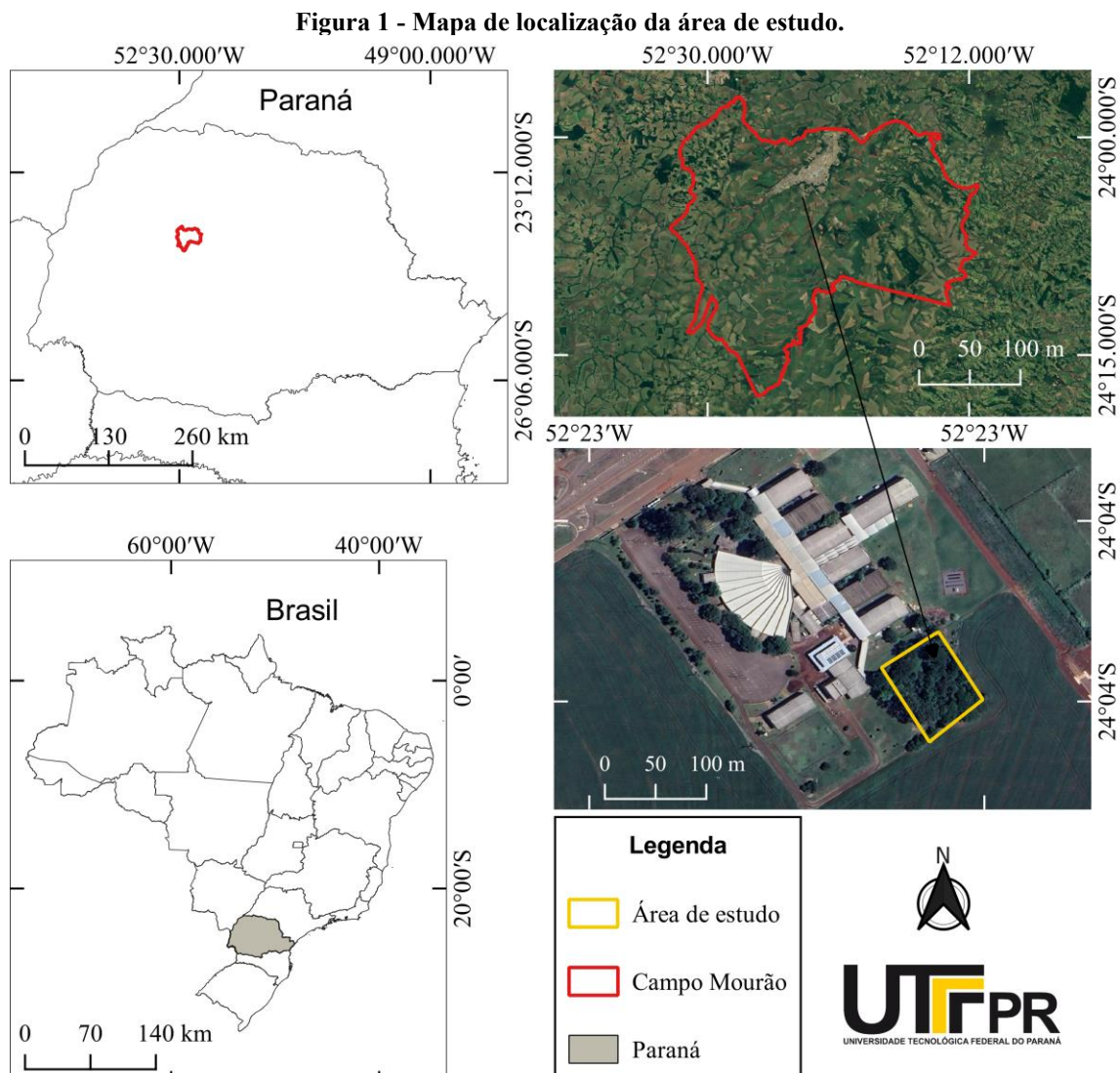
Madella, Alexandre e Ball (2005) propuseram a normatização pelo ICPN 1.0 (*International Code for Phytolith Nomenclature*), o qual auxilia na facilitação de estudos fitolíticos e na padronização da nomenclatura dos fitólitos. O código atua como um catálogo com o intuito de criar uma ponte para a comunicação entre pesquisadores, uniformizando a descrição e nomenclatura dos fitólitos. Segundo as normas, um tipo de fitólito pode ser verificado em um determinado táxon, porém ele só será considerado como diagnóstico se for pertencente apenas a este táxon, possuindo a possibilidade também de ser constatado quando a flora de uma região geográfica específica foi estudada. A normatização foi atualizada e o ICPN 2.0 (2019) é utilizado.

São poucos estudos divulgados acerca de fitólitos em Acanthaceae, Mozer *et al.* (2021) estudou 39 famílias, onde somente dois morfotipos apresentaram diferença significativa com potencial para diferenciação entre estas. Entretanto, outros autores que estudaram esta mesma família, porém com outras espécies, indicam produção nula, por exemplo, Wallis (2003), no Noroeste da Austrália e Souza (2020) na Floresta Estacional Semidecidual, no sudoeste de São Paulo (ESEC Caetetus).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O estudo foi realizado em uma população de *J. ramulosa* presente em um bosque localizado dentro das dependências do campus da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (Figura 1), em Campo Mourão. Os indivíduos que formam a população a ser estudada de *J. ramulosa* são provenientes do Parque Nacional do Iguaçu, e foram trazidos em expedição feita pelo Herbário HCF no ano de 2017. O município de Campo Mourão está inserido no bioma Mata Atlântica com fragmentos de Cerrado (IBGE, 2019) com fitofisionomia predominante de Floresta Estacional Semidecidual e com solo do tipo latossolo vermelho (EMBRAPA, 2006). Segundo Köppen (1948) o clima predominante na região é Cfa, caracterizado pelo clima subtropical com temperaturas superiores a 22 °C no verão e com mais de 30 mm de chuva no mês mais seco.



Fonte: Autoria própria (2022)

3.2 Coleta de dados

3.2.1 Biologia floral

Para a verificação da biologia floral de *Justicia ramulosa*, foram realizados os testes de receptividade do estigma e viabilidade do pólen, juntamente com a realização de algumas medidas de tamanho das flores. Flores foram coletadas após a antese e levadas ao laboratório onde foi feita a análise de receptividade do estigma, em horários distintos. Para isso, o estigma da flor foi retirado com auxílio de pinça e mergulhado no peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3%. Após alguns segundos observou-se o crescimento de bolhas com o auxílio de uma lupa de bancada. É importante a higienização da pinça a cada coleta de flor, a fim de evitar influência de fatores externos. A viabilidade do pólen também foi verificada, para isso os estames foram retirados cuidadosamente de cada flor, e em seguida mergulhados em microtubo contendo 0,5 mL deorceína acética 2%. Entre a retirada dos estames de uma flor e outra, a pinça foi higienizada com água destilada em abundância. Após tais procedimentos, os estames foram mergulhados por cerca de 20 horas seguidas. Após a coloração, os grãos de pólen foram observados em microscópio óptico (10x) e contados todos os grãos de pólen por planta pelo método de varredura. Em seguida, foi calculada a porcentagem de pólenes viáveis obtidos pela equação: Viabilidade do pólen (%) = N° de grãos corados / N° de grãos contados * 100. Para a descrição do pólen foi utilizada a metodologia e terminologia propostas por Barth e Melhem (1988) atualizada por Punt *et al.* (2007).

Como complemento de informações sobre a biologia floral, foram observadas as medidas de comprimento da corola e comprimento do pistilo com o auxílio de um paquímetro. Além disso, a quantidade de plantas presentes na mancha no bosque da UTFPR foi contada, quantas destas produziram flores e a quantidade de flores por planta.

3.2.2 Biologia reprodutiva

Foram realizados dois testes para verificação dos mecanismos de reprodução de *Justicia ramulosa* na população do campus da UTFPR. Um deles simulando a polinização cruzada e outro simulando a autopolinização, ambos de forma manual. Para polinização cruzada o pólen foi coletado direto das anteras com o auxílio de pinça ou agulha, sendo posteriormente alocado nos estigmas das flores de outras plantas da mesma população. As flores que receberam o pólen foram ensacadas previamente a fim de não sofrer interferência de agentes polinizadores. Para o teste de autopolinização, as flores também foram previamente ensacadas, em fase de botão, e o pólen coletado da antera de determinada flor foi depositado no

estigma dela mesma. Após a realização dos testes, aguardou-se a formação de frutos, os quais foram recolhidos e o número de sementes de cada fruto foi contado. A fim de verificar a formação natural de frutos, algumas flores não foram manipuladas e serviram como controle. As flores de cada tipo de tratamento (autopolinização, polinização cruzada e controle) foram marcadas com barbantes de cores distintas.

Além dos testes, foi feita a observação visual de visitantes florais, em dias diferentes e em períodos de no mínimo uma hora de duração, entre os horários das 7:00 às 20:00.

3.2.3 Fitólito

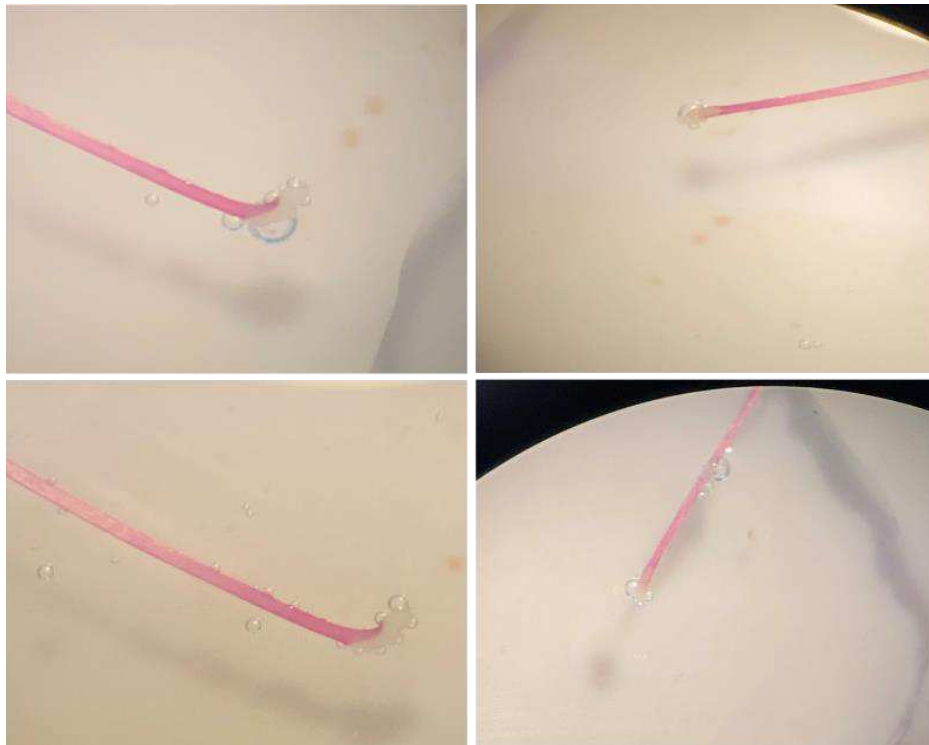
Para a extração dos fitólitos, foi realizada a separação de porções de 3g do tecido vegetal seco das folhas e caule da planta. Para o tratamento químico, houve a preparação de uma solução de 1:4 dos ácidos nítrico (HNO_3 - 65%) e sulfúrico (H_2SO_4), respectivamente, sendo adicionados 20 ml sobre o tecido vegetal que se encontrava em erlenmeyers seguindo Medeanic *et al.* (2008). Com o auxílio de uma chapa aquecida para evaporação completa da matéria orgânica durante 3 horas, após tal processo, pingou-se algumas gotas de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Decorrido o período de aquecimento e o tempo necessário para o resfriamento das amostras à temperatura ambiente, as amostras foram lavadas com água destilada inúmeras vezes, junto a centrifugação a 1500 RPM. Após, a lavagem com álcool 70% foi realizada, adicionou-se 50µl de material em lâminas, que posteriormente foram secas em chapa térmica, após resfriamento, as lâminas foram cobertas com Entellan® e lamínula. As identificações, observações e microfotografias foram realizadas em microscópio óptico com aumento de 40x e 100x.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Biologia floral

Nos testes de receptividade o estigma se mostrou receptivo em todos os momentos, entre as 8:00 horas e as 17:00 horas, onde todos os estigmas submetidos ao teste apresentaram bolhas em toda sua superfície (**Figura 2**). Análises de receptividade do estigma em Acanthaceae são extremamente limitadas (PADILHA; SOUZA; LUDKE, 2019). Assim como no presente estudo, testes com peróxido de hidrogênio a 2% revelaram que *Ruellia subsessilis* (Nees) Lindau apresenta estigma receptivo em diferentes fases do desenvolvimento floral (MIRANDA, 2010), bem como, no período de antese e pré-antese em *Lepidagathis sessifolia*. (Pohl) Kameyama ex Wassh. & J.R.I.Wood (SILVA *et al.*, 2012; PADILHA, SOUZA; LUDKE, 2019), o que pode estar associado ao processo de autopolinização da espécie. A receptividade do estigma é resultado da maturação do gameta feminino e pode influenciar na taxa de fecundação e no sucesso da polinização (SILVA *et al.*, 2010).

Figura 2 - Estigmas da flor de *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra reagindo ao peróxido de hidrogenio 2%.



Fonte: Autoria própria (2023)

A viabilidade polínica nas flores de *Justicia ramulosa* variou de 2,44% a 79,71% em seis amostras distintas, em diferentes horários, com uma média de 46,69% ($\pm 32,55$). São considerados de alta viabilidade do pólen valores médios acima de 70%, já os e valores até 30% são considerados de baixa viabilidade (SOUZA *et al.*, 2002). A viabilidade do pólen no campo

é limitada devido às condições ambientais desfavoráveis, como temperatura moderada, alta umidade e intensidade luminosa, o que resulta em um curto período de vida do grão de pólen, estimado em apenas algumas horas (SOARES, 2011). Dessa forma, segundo esse critério, *J. ramulosa* apresentou grande variabilidade de viabilidade polínica entre as diferentes flores analisadas. Os grãos de pólen de outra Acanthaceae, *Lepidagathis sessilifolia*, apresentaram alta viabilidade ($92,5\% \pm 8,48$) (SILVA e NOGUEIRA, 2012). Para *Justicia brasiliiana* Roth., 70,1% do pólen se encontrava viável em flores onde a antese já havia ocorrido, fato positivo para planta, pois tal característica auxilia no sucesso reprodutivo das plantas em geral, uma vez que quanto maior for o número de grãos viáveis, maior será a probabilidade de ocorrer a fecundação dos óvulos (PADILHA; SOUZA; LUDKE, 2019). Na **figura 3** é apresentado a diferença entre um grão de pólen viável (Avermelhado) e outro não viável (Cor natural).

Os grãos de pólen da espécie se apresentaram mônades, grandes, âmbito elíptico, prolatos, dicolporados, colpos curtos e isopolares, características que corroboram com estudo em *J. brasiliiana* de Evaldt *et al.*, 2009. Em outro estudo, foram analisadas diferentes espécies de Acanthaceae, onde foi verificado em sua descrição características pólen monades, de tamanho médio a grande, isopolares, com âmbito triangular a subtriangular, planoperturado, subprolato, prolato a prolato-esferoidal (SILVA, 2020), fato também semelhante ao encontrado em *J. ramulosa*.

Figura 3 - Diferença entre grãos de pólen: A) viáveis (coloridos); e B) não-viáveis (sem coloração), de *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra (Acanthaceae).



Fonte: Autoria própria (2023)

A população de *Justicia ramulosa* estudada era composta de 91 plantas, das quais 43 possuíam flor, com uma média de 2,28 ($\pm 1,82$) flores por planta. A antese das flores ocorreu

entre 7:00 e 8:00 da manhã e o fechamento das flores ocorreu próximo as 19 horas. A corola das flores desta espécie apresenta coloração rosada (**Fotografia 3**) e apresentaram os seguintes valores nas medidas de tamanho: a média de comprimento do pistilo foi de 2,66 cm ($\pm 0,81$), a média do comprimento da corola inteira foi de 3,70cm ($\pm 0,34$) e a média do comprimento da corola até sua abertura foi de 2,77cm ($\pm 0,30$). *Lepidagathis sessilifolia* apresentou tamanho médio de sua corola de 3,35cm ($\pm 0,21$), sendo menor do que observado no presente trabalho, já o pistilo de *L. sessilifolia* se mostrou maior, com valor médio de 3,10cm ($\pm 0,42$) (SILVA e NOGUEIRA, 2012). A escassez de estudos que apontem medidas de comprimento floral para este gênero e espécie evidencia a necessidade da realização de estudos sobre morfologia floral. A morfologia da flor também pode influir na visita de polinizadores, *Ruellia subsesilis* apresenta corola comprida e curva, e os beija flores observados próximos a ela não possuem tal característica, dificultando a polinização (BRAZ *et al.*, 2000), fato que pode explicar a falta de visitas em *J. ramulosa*, onde polinizadores com formato adequado de bico para polinização da flor podem não estar presentes no local de estudo.

Fotografia 3 - Diferentes comprimentos de pistilos (seta) e corolas de *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra (Acanthaceae).



Fonte: Autoria própria (2022)

4.2 Biologia reprodutiva

Para os dois tratamentos de biologia reprodutiva realizados foi observado a formação de frutos e sementes, onde todas as seis flores isoladas para realização de cada teste geraram frutos, levando a uma taxa de frutificação de 100%. O tratamento que apresentou o maior número de sementes por fruto foi a autopolinização manual (**Tabela 1**).

Tabela 1 – Número de sementes formadas por fruto após tratamentos de polinização realizados em *Justicia ramulosa* (Acanthaceae).

	Autopolinização	Polinização cruzada	Controle
Flor 1	2	1	3
Flor 2	3	1	2
Flor 3	3	0	1
Flor 4	2	2	2
Flor 5	3	0	2
Flor 6	1	2	2
Total	14	6	12

Fonte: Autoria própria (2023)

Considerando que houve formação de frutos em todos os dois tipos de tratamento, pode-se afirmar que ambos levam ao sucesso reprodutivo. Entretanto, a autopolinização parece mais vantajosa para a planta, visto que produziu maior número de sementes por fruto. Testes de polinização em *Justicia scheidweileri* V.A. Graham também apresentaram taxa de frutificação 100% quando submetido ao tratamento de autopolinização, bem como outras espécies do gênero *Ruellia* apresentaram taxa de frutificação acima de 85% (BRAZ *et al.*, 2000).

Estudo com *Ruellia brevifolia* também demonstrou que é uma espécie autocompatível, ocorrendo autopolinização espontânea, porém em todos os tratamentos realizados a produção de sementes foi observada: 65% de viabilidade nas sementes oriundas de autopolinização manual e polinização cruzada, 75% sob condições naturais e 42% após autopolinização espontânea (SIGRIST e SAZIMA, 2002). *Thunbergia alata* Bojer ex Sims, outra Acanthaceae, formou frutos por autopolinização espontânea, polinização natural e polinização cruzada manual, onde todos os tratamentos tiveram taxas maiores que 50% de frutificação (XAVIER e NADIA, 2013).

Foram investigados os sistemas reprodutivos de 17 espécies de Acanthaceae, observando que todas as espécies são hermafroditas e que 94,1% apresentaram autocompatibilidade, ainda, sete espécies geraram frutos sem a necessidade de agentes polinizadores, exibindo autopolinização espontânea, sendo cerca de 41,2% das espécies (MATIAS e CONSOLARO, 2015). Fato semelhante ao observado no presente estudo, onde a autopolinização levou ao maior número de sementes formadas.

Não foram observados polinizadores e pilhadores nas plantas em questão em nenhum horário de observação, onde foram realizadas 21 horas de observação em horários distintos, o que pode estar relacionado com a ameaça de extinção de *J. ramulosa*. Em habitats extremos ou

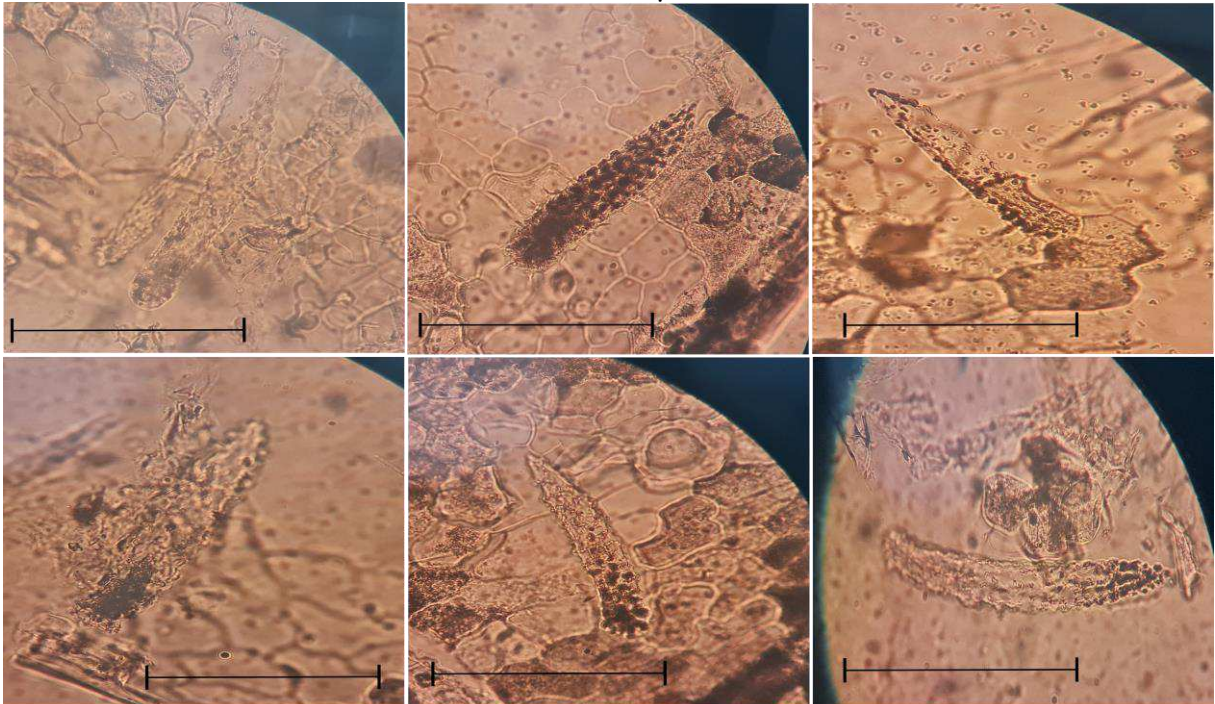
marginais, a autogamia, tem sido considerada vantajosa devido a perda de polinizadores e as condições ambientais adversas, dentre outros fatores (ENDRESS, 1994, BRIGGS e WALTERS, 1997).

Ruellia brevifolia (Pohl) Ezcurra apresenta os mesmos possíveis polinizadores de *J. ramulosa*, beija-flores, os quais costumam pairar em frente à flor e introduzir o bico no tubo da corola para retirada do néctar, contatando o estigma e as anteras com a porção superior do bico, costumaram visitar várias flores do de agrupamentos próximos ou do mesmo agrupamento. Os beija-flores realizaram visitas apenas quando havia muitas flores no agrupamento, fato que pode justificar a falta de visitas em *J. ramulosa*, onde as plantas se localizam em uma pequena mancha, e nem todas apresentavam flores, possivelmente não chamando a atenção dos beija flores (SIGRIST e SAZIMA, 2002). Em *Thunbergia alata*, não foram observadas abelhas visitando suas flores, apenas borboletas, pousando na corola para coleta de néctar, atuando como polinizadoras (XAVIER e NADIA, 2013). Visitas legítimas e ilegítimas de beija-flores são observadas com frequência em flores de Acanthaceae, *J. scheidweileri* recebe visitas ilegítimas, deste modo a produção de frutos sem o auxílio de polinizadores se mostra vantajosa para a espécie (BRAZ *et al.*, 2000), semelhante ao observado em *J. ramulosa*.

4.3 Fitólitos

Os fitólitos foram identificados e classificados de acordo com suas características morfológicas (**Figura 5**) e nomeados com base no ICPN 2.0 (2019), as microfotografias foram obtidas no aumento 400x do microscópio óptico. Com base em análises de amostras da família Acanthaceae, a mesma é citada na literatura como de produção abundante de fitólitos (PIPERNO, 2006). O morfotipo mais abundante encontrado foi o *ACUTE* (ACU) (**Figura 4**), O comprimento médio encontrado para este morfotipo foi de 45,2 μ m (\pm 9,7)

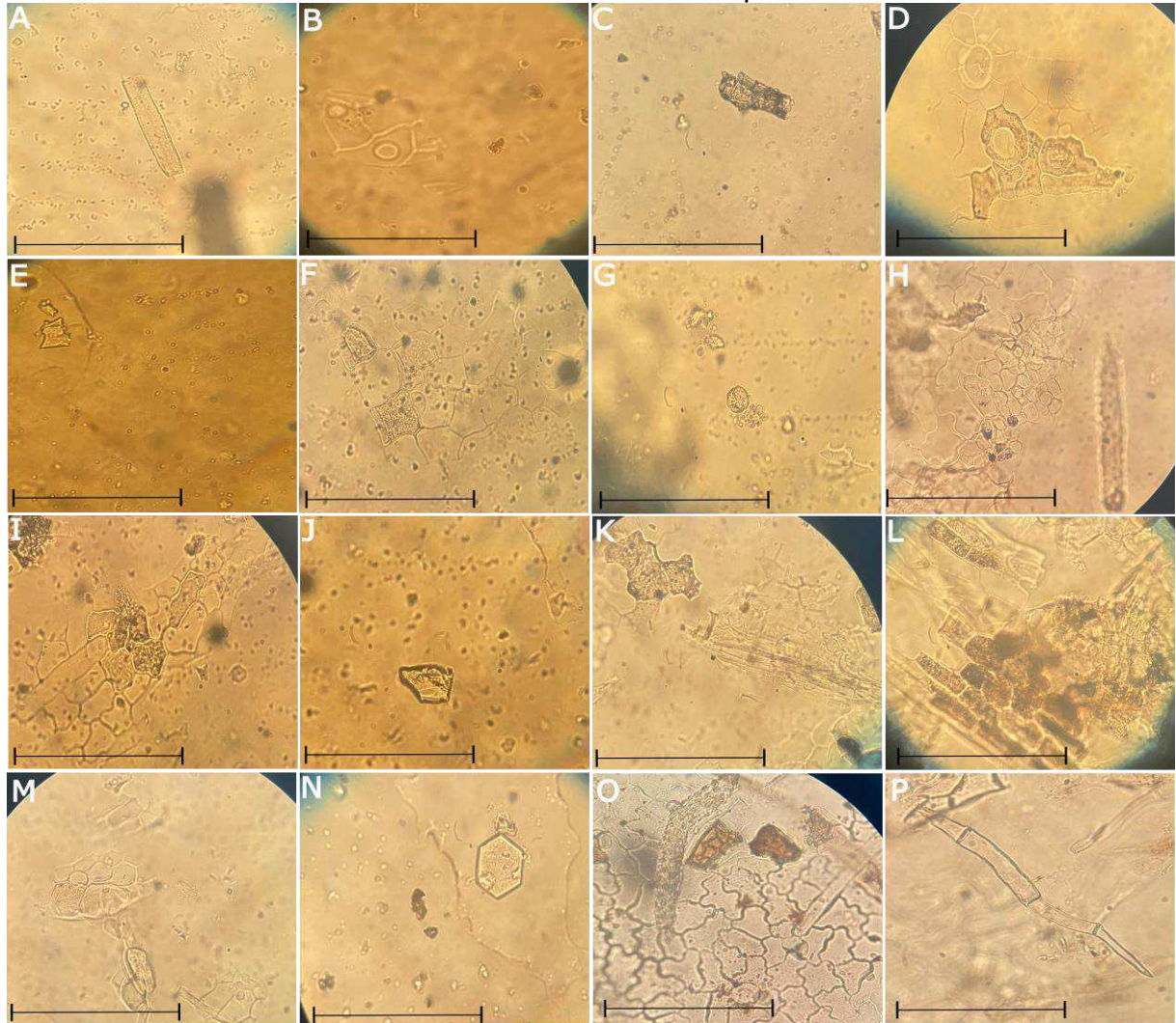
Figura 4 - Fitólitos do morfotipo *ACUTE* encontrados em *Justicia ramulosa* (Morong) C.Ezcurra. Tamanho da barra: 56µm.



Fonte: Autoria própria (2023)

Não foram encontrados trabalhos relatando o morfotipo *ACUTE* para espécies de *Justicia* e nem mesmo para Acanthaceae. Para *Mendoncia velloziana* Mart. o morfotipo representativo foi o *BLOCKYFACETED* (BLO_FAC) que apresentou tamanho médio de 63µm e elevado desvio padrão $\pm 21,48$, e ainda um morfotipo nomeado *STELLATE* (STE) (MOZER, 2021a). Um número considerável de espécies de famílias de dicotiledôneas tropicais também produz fitólitos, como Acanthaceae (COE, 2009), com importância taxonômica. Com base na **Figura 5** é possível observar os demais morfotipos de fitólitos produzidos por *J. ramulosa*. Os fitólitos característicos das dicotiledôneas são *SPHEROID GRANULATE* (SPH_GRA) e *SPHEROID PSILATE* (SPH_PSI) (DIAS, 2020). O morfotipo *ESPHEROID PSILATE* foi encontrado nas análises realizadas com *J. ramulosa*, corroborando com a constatação realizada por Dias (2020).

Figura 5 - Diferentes morfotipos de fitólitos encontrados em *J. ramulosa* (Morong) C.Ezcurra. Na figura estão identificados: A – ELONGATE, B – SPHEROID CAVATE, C – TABULAR GRANULATE, D – BLOCKY, E – BLOCKY, F – JIG-SAW-PUZZLE/BLOCKY, G – SPHEROID PSILATE, H – TABULAR POLYGONAL, I – TABULAR POLYGONAL/BLOCKY PSILATE, J – BLOCKY PSILATE, K – BLOCKY, L – ELONGATE ENTIRE, M – TABULAR POLYGONAL, N – POLYGONAL, O – JIGSAW-PUZZLE, P – ACUTE. Tamanho da barra: 56µm.



Fonte: Autoria própria (2023)

A presença de alguns morfotipos fitólitos pode apresentar um grande valor taxonômico, uma vez que eles podem ser exclusivos de certas famílias ou espécies de plantas. Junto a isso, outros tipos de fitólitos podem ser importantes do ponto de vista ambiental, mesmo que não possuam um significado taxonômico específico. Porém, atribuir um valor taxonômico a um único fitólito é considerado difícil, visto que uma planta pode produzir múltiplos tipos e que um mesmo tipo pode ser produzido por diferentes espécies vegetais (NETO, 2018).

Souza (2019) não encontrou fitólitos para *Justicia brasiliiana*, diferindo do resultado do presente estudo com *J. ramulosa*. A variação na produção dentro da mesma família foi evidenciada pelo fato de que as espécies analisadas não foram as mesmas. Esse resultado ressalta a importância das coleções de referência. O morfotipo *POLYGONAL EPIDERMIC*

CELL, agora conhecido como *TABULAR POLYGONAL* (TAB_POL) foi encontrado em *Acanthus ilicifolius* L. (Acanthaceae), assim como os morfotipos *CYLINDRIC SULCATE* (CYL_SUL), para *Avicennia alba* Blume, o morfotipo *SPHEROID GRANULATE* (SPH_GRA) foi observado (DAS *et al.*, 2013). Morfortipos semelhantes aos encontrados em *J. ramulosa* no presente estudo.

Os vegetais possuem uma grande multiplicidade na produção de fitólitos, com várias espécies podendo produzir a mesma forma. Devido a este fato, é raro atribuir uma forma específica a um determinado grupo taxonômico exclusivo, sendo necessária uma análise cuidadosa da composição fitolítica. Deste modo, a análise da assembleia fitolítica é fundamental para obter resultados precisos e confiáveis (LUZ *et al.*, 2014).

A estabilidade dos fitólitos em solos e sedimentos é crucial para sua utilização como ferramenta de reconstrução paleoambiental. Várias evidências apontam para a relação entre a preservação dos fitólitos e fatores como o pH do solo, sendo que valores acima de pH 9 tendem a acelerar o processo de dissolução, principalmente em ambientes quentes e úmidos. Além disso, o tipo de fitólito produzido também influencia na sua durabilidade, já que aqueles produzidos nas células são mais resistentes do que aqueles produzidos nas paredes celulares. A presença de elementos como Fe e Al, absorvidos juntamente com a sílica, parece proteger os fitólitos contra a dissolução. As condições favoráveis de preservação no ambiente de deposição e a superfície dos fitólitos também são importantes, uma vez que formas com maior área são mais suscetíveis à dissolução (PIPERNO, 2006).

A relevância dos trabalhos sobre morfologia de fitólitos é cada vez mais evidenciada, visto que o estabelecimento de assembleias fitolíticas, extraídas de plantas atuais, pode influir em estudos sobre reconstruções paleoambientais, se tornando assim, um diferencial para a identificação dos morfotipos encontrados em sedimentos/solos com base no táxon, podendo levar à categoria de família, e até mesmo de gênero (LUZ *et al.*, 2014).

5 CONCLUSÃO

Tendo em vista os estudos limitados acerca de Acanthaceae, este estudo com *Justicia ramulosa* teve sua importância para melhor conhecimento biologia floral da família e da espécie. O estigma de *Justicia ramulosa* ter se mostrado receptivo durante todo o dia, pode influenciar na taxa de fecundação e no sucesso da polinização, ponto positivo analisado na espécie. A valor de 46,69% viabilidade de pólen observada sugeriu uma potencialidade média de fecundidade da planta. Os dois tratamentos reprodutivos levaram a taxa de frutificação de 100%, e o que apresentou maior número de sementes foi a autopolinização, sugerindo relação com o fato de *J. ramulosa* não ter apresentado polinizadores neste estudo. Embora, a observação de visitantes florais em horários antes do amanhecer e após as 20:00 da noite não tenha sido realizada.

Para o diagnóstico dos fitólitos, o morfotipo mais abundante foi o *ACUTE*, porém, outros nove morfotipos foram encontrados em *J. ramulosa*, dentre eles alguns comuns em dicotiledôneas, onde a família Acanthaceae se encaixa, como *ESPHEROID GRANULATE* e *ESPHEROID PSILATE*. A presença de alguns morfotipos fitólitos pode apresentar grande valor taxonômico, porém, a confirmação depende de um estudo mais aprofundado.

Devido à escassez de estudos relacionados a *Justicia ramulosa*, sugere-se a realização de outros testes para maior conhecimento das características da espécie, como estudos de fertilização *in vitro* com diferentes concentrações de sacarose e outros meios de cultura por exemplo, o que não foi possível pelo curto período de floração da espécie. Ressalta-se a importância da continuação dos estudos, visto a emergente necessidade de preservação da espécie ameaçada e seus polinizadores. Quanto aos fitólitos, outras análises para quantificar e definir os morfotipos devem ser realizadas, a fim de confirmar os tipos encontrados. Outros testes com carbono e pólen podem ser realizados para maior aprofundamento dos resultados encontrados e futuras comparações. Análises paleontológicas a partir destes podem ajudar no entendimento e conservação efetiva da espécie.

REFERÊNCIAS

- AGENDA 2030. **Nações Unidas – Brasil**. 2015. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/91863-agenda-2030-para-o-desenvolvimento-sustent%C3%A1vel>. Acesso em: 20 set. 2022.
- AGUIAR, A. E. X., COE, H. H. G., MADELLA, M., CRUZ, M. L. B. DA. O uso do bioindicador fitólito em estudos ambientais e arqueológicos no Brasil (Utilisation du bioindicateur phytolite dans des études environnementales et archéologiques au Brésil). **Revista GeoNordeste**, n. 1, p. 80–104, 2019.
- ALVES-DOS-SANTOS, I.; SILVA, C. I.; PINHEIRO, M; KLEINERT, A. M. P. Quando um visitante floral é um polinizador? **Rodriguésia**, v. 67, n. 2, p. 295–307, jun. 2016.
- ARRUDA, R.L.S.; GOMES-PIMENTEL, R.; ARAÚJO, A.F.B.; BRAZ, D. M. **Acanthaceae do Jardim Botânico da UFRRJ e seus visitantes florais**. In: 3a Reunião Anual de Iniciação Científica da UFRRJ, 2015, Seropédica. Resumos 3a Reunião Anual de Iniciação Científica da UFRRJ. Seropédica, RJ: EDUR, 2015.
- BARBOSA, D. B.; CRUPINSKI, E. F.; SILVEIRA, R. N.; LIMBERGER, D. C. H. As abelhas e seu serviço ecossistêmico de polinização. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v. 3, n. 4, p. 694-703, 30 dez. 2017.
- BARTH, O. M.; MELHEM, T. S. **Glossário ilustrado de palinologia**. Campinas: Unicamp, 1988. 77 p.
- BELLARD, C.; BERTELSMEIER, C.; LEADLEY, P.; THUILLER, W.; COURCHAMP, F. Impacts of climate change on the future of biodiversity. **Ecology Letters**, v. 15, n. 4, p. 365-377, 2012.
- BRAZ, D. M.; AZEVEDO, I. H. F. Acanthaceae da Marambaia, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Hoehnea**, v. 43, n. 3, p. 497–516, set. 2016.
- BRAZ, D. M.; VIEIRA, M. F.; CARVALHO-OKANO, R. M. Aspectos reprodutivos de espécies de Acanthaceae Juss. de um fragmento florestal do município de Viçosa, Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 47, p. 229-239, 2000.
- BRIGGS D.; WALTERS S.M. Plant variation and evolution. **Cambridge University Press**, Melbourne, 1997.
- CANDELARI, B. A.; PAROLIN, M. Caracterização dos fitólitos encontrados na camada superficial do solo do cerrado de Campo Mourão-PR. In: Encontro de Produção Científica e Tecnológica, 7., 2012, **Anais [...]**. Campo Mourão: Núcleo de Pesquisa Multidisciplinar, 2012.
- CHAGAS, E.C.O.; COSTA-LIMA, J.L. **Justicia in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB106521>>. Acesso em: 20 set. 2022.

CNCFlora. *Justicia ramulosa* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2. **Centro Nacional de Conservação da Flora**. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Justicia ramulosa](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Justicia%20ramulosa)>. Acesso em 20 set. 2022.

COSTA, R.; DE MELLO, R. Um Panorama Sobre a Biologia da Conservação e as Ameaças à Biodiversidade Brasileira. **SAPIENS - Revista de divulgação Científica**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 50–69, 2021. Disponível em: <https://revista.uemg.br/index.php/sps/article/view/5493>. Acesso em: 21 set. 2022.

COE, H. H. G. **Fitólitos como indicadores de mudanças na vegetação xeromórfica da região de Búzios/Cabo Frio, RJ, durante o Quaternário**. 301 f. Tese (Doutorado em Geologia e Geofísica Marinha) – Instituto de Geociências, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2009.

DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach (the practical approach series)**. New York, Oxford: University press, 250p, 1992.

DANNER, M. A., CITADIN, I., SASSO, S. A. Z., SACHET, M. R., MALAGI, G. Modo de reprodução e viabilidade de pólen de três espécies de jabuticabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, n. 02, p. 345-352. 2011.

DAS S., GHOSH, R., BERA S. Application of non-grass phytoliths in reconstructing deltaic environments: A study from the Indian Sunderbans. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 376, p. 48-65, 2013.

DIAS, R. R. **Reconstituição paleoambiental da Bacia Hidrográfica Do Rio Paraúna, MG, relacionada a processos fluviais e geomorfológicos, através de biomineralizações de sílica**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Dinâmica dos Oceanos e Terra, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 266f., 2020.

DONÁ, E. A.; RODRIGUES, L. C.; ARAUJO, A. C. Carga de pólen em beija-flores na Serra da Bodoquena, Mato Grosso Do Sul. In: Congresso de Ecologia do Brasil, 8., 2007. Caxambu, MG. **Anais [...]**. Campo Grande: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. 2010.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias. Laboratório de Geoinformação. **Embrapa Solos**. 2006.

ENDRESS, P.K. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. **Cambridge University Press**, Cambridge, 1994.

EVALDT, A.C.P.; BAUERMANN, S.G.; FUCHS, S.C.B.; DIESEL, S.; CANCELLI, R. R. 2009. Grãos de pólen e esporos do Vale do rio Caí, nordeste do rio Grande do Sul, Brasil: descrições morfológicas e implicações paleoecológicas. **Gaea Journal of Geoscience**, v. 5, n. 2, p. 86-106.

EZCURRA, C. El Genero *Justicia* (Acanthaceae) en Sudamerica Austral. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 89, n. 2, p. 225, 2002.

FERREIRA, M. C.; CONSOLARO, H. N. Fenologia e síndromes de polinização e dispersão de espécies de sub-bosque em um remanescente florestal urbano no Brasil central. **Bioscience Journal**, Uberlândia, MG, v. 29, p. 1708–1720, 2013. Disponível em: <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/18072>. Acesso em: 19 sep. 2022.

GELAIN, A. J. L. et al. Desmatamento no Brasil: um Problema Ambiental. **Revista Capital Científico - Eletrônica (RCCe)**, v. 10, n. 1, 31 jul. 2012.

HAMMES, J. K. **Flora de Acanthaceae Juss. e Verbenaceae J.ST.-HIL. (Lamiales) no Parque Nacional Do Iguaçu, Paraná, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Conservação e Manejo de Recursos Naturais). Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2017.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Divisão Municipal do Instituto Brasileiro de Geografia Estatística**. 2019. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/campo-mourao/panorama>. Acesso em: 03. abr. 2021.

KAMEYAMA, C. FLORA DA RESERVA DUCKE, AMAZONAS, BRASIL: ACANTHACEAE. **Rodriguésia**, v. 57, p. 149–154, 2006.

KERR W.E., CARVALHO G.A., SILVA A.C., ASSIS M.G.P. Aspectos pouco mencionados da biodiversidade amazônica. **Mensagem doce**. n.80, 2005.

KÖPPEN, W. **Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra**. Fondo de Cultura Económica. México. 1948. 479p.

LEPSCH, I. F. **19 Lições de pedologia**. 1. São Paulo: Oficina de Textos, 2011.

LUZ, L.D.; KALINOVSKI E.C.Z.; PAROLIN M.; SOUZA F. E.E de. Estágio Atual do Conhecimento sobre Fitólitos no Brasil. **Terræ Didactica**, v. 11, n. 1, p. 52-64, 2015.

MADELLA, M.; ALEXANDRE, A.; BALL, T. International Code for Phytolith Nomenclature 1.0. **Annals of Botany**, v. 96, p. 253-260, 2005.

MEDEANIC, S., CORDAZZO, C. V., CORRÊA, I. C. S. & MIRLEAN, N. Os Fitólitos em Gramíneas de Dunas do Extremo Sul do Brasil: Variabilidade Morfológica e Importância nas Reconstruções Paleoambientais Costeiras. **Gravel**, v. 6, n. 2, p. 1-14. 2008.

MIRANDA, A. S. **Biologia reprodutiva em *Ruellia subsessilis* (Nees) Lindau (Acanthaceae) em indivíduos de população natural e cultivados sob estresse hídrico**. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 66f.,2010.

MONTEIRO, M. R.; PEREIRA, J. S. R.; RASBOLD, G. G.; PAROLIN, M.; CAXAMBU, M. G. Morfologia de fitólitos característicos de duas espécies de Arecaceae do bioma Mata Atlântica: *Bactris setosa* Mart. e *Geonoma schottiana* Mart. **Journal of Neotropical Biology**, Goiânia, v. 9, n. 1, p. 10–18, 2013. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/RBN/article/view/19197>. Acesso em: 28 set. 2022.

MOZER, J; SOUZA, E.; VIDAL-TORRADO, P. MADELLA, M.; MACEDO, R. S. Análises morfométricas de fitólitos: subsídio para estudos de reconstituição da paleovegetação. In: ENANPEGE, 14., **Anais [...]** Campina Grande: Realize Editora, 2021. Disponível em: <<https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/78444>>. Acesso em: 29 set. 2022.

MOZER, J. H. **Coleção de referência de fitólitos e reconstituição paleoambiental da Floresta Ombrófila Densa Altomontana no Parque Estadual Carlos Botelho – SP**.

Dissertação (Mestrado). Programa de Pós Graduação em Geografia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 212f. 2021a.

NEUMANN, K.; STRÖMBERG, C.A.; BALL, T.; ALBERT, R.M.; VRYDAGS, L.; CUMMINGS, L.S. International Code for Phytolith Nomenclature (ICPN) 2.0. **Annals of Botany**, v. 124, p.189–199, 2019.

NETO, E. C. S. **Fitólitos como registros paleoambientais em solos de ambientes altomontanos no estado do Espírito Santo**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia e Ciência do Solo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 91f., 2018.

OLLERTON, J.; KILLICK, A.; LAMBORN, E.; WATTS, S.; WHISTON, M. Multiple meanings and modes: on the many ways to a generalist flower. **Taxon**, Utrecht, v. 56, p. 717-728, 2007.

PADILHA, G. B.; SOUZA, R. T. T. DE; LÜDTKE, R. Primeiro estudo da biologia reprodutiva de *Justicia brasiliensis* Roth (Acanthaceae) no Pampa brasileiro. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 17, n. 2, 2019.

PIPERNO, D.R. Phytoliths: a comprehensive guide for archaeologists and paleoecologists. **Lanham MD - AltaMira Press**, San Diego. p. 238, 2006.

PUNT, W. *et al.* Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Palaeobotany and Palynology**.v. 143, p. 1-81, 2007.

RASHID, I., MIR, S. H., ZURRO, D., DAR, R. A., RESHI, Z. A. Phytoliths as proxies of the past. **Earth-Science Reviews**, v. 194, p. 234–250. 2019.

RICARDO, S. D. F.; COE, H. H. G.; SOUSA, L.O.F.; DIAS, R. R.; GOMES, E. **Produção de Fitólitos em Plantas Características da Caatinga**. In: Botânica Aplicada. 1 ed. Ponta Grossa: Atena, 2018, p. 139-160.

SIGRIST, M. R.; SAZIMA, M. *Ruellia brevifolia* (Pohl) Ezcurra (Acanthaceae): fenologia da floração, biologia da polinização e reprodução. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, p. 35-42, 2002.

SILVA, C. A. P. da. **A tribo Justiceae (Acanthaceae) no Nordeste oriental do Brasil: taxonomia e palinologia**. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

SILVA, C. A.; NOGUEIRA, G. A. Sistema reprodutivo e polinização de *Lepidagathis sessilifolia* (Pohl) Kameyama ex Wassh. & J.R.I. Wood (Acanthaceae), em remanescente florestal da região sudoeste de Mato Grosso, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 42, n. 3, p. 315–320, 1 set. 2012.

SILVA, L. A. C DA; PAGLIARINI, M. S; SANTOS, S.A; VALLE, C. B DO. Receptividade dos Estigmas de Acessos da grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae* Luces), Pantanal. In: Simpósio Sobre Recursos Naturais E Socioeconômicos Do Pantanal, 5., 2010. Corumbá, MS. **Anais [...]**, Corumbá: EMBRAPA, 2010. Disponível em:

<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/869600/1/038R.pdf>. Acesso em: 29 set. 2022.

SILVA, R. M. da; CONSOLARO, H. N. Polinização e sistema reprodutivo de Acanthaceae Juss. no Brasil: uma revisão. **Bioscience Journal**, Uberlândia, MG, v. 31, n. 3, p. 890–907, 2015.

SOARES, T. L. **Eficiência do sistema reprodutivo de bananeira**. 2011. Tese (Doutorado) Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 101f., 2011.

SOUZA, D. L.; Evangelista-Rodrigues, A.; Pinto, M. do S. C. As Abelhas Como Agentes Polinizadores. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 8, n. 3, p. 1-7, 2007.

SOUZA, E. **Reconstituição Paleoambiental a partir do Sinal Fitolítico na ESEC CAETETUS - Gália (SP)**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Geografia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 168f., 2019.

SOUZA, E.; CALEGARI, M. R.; VIDAL TORRADO, P.; MADELLA, M.; MACEDO, R. Análise Fitolítica Aplicada na Reconstituição Paleoambiental na ESEC Caetetus – Gália (SP). **Perspectiva Geográfica**, v. 14, n. 20, p. 96–106, 2020. Disponível em: <https://e-revista.unioeste.br/index.php/pgeografica/article/view/24032>. Acesso em: 29 set. 2022.

SOUZA M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa degener*). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, V. 26, n. 6, p.1209-1217, 2002

TWISS, P.C. 2001. A Curmudgeon's view of Grass phytolithology. In: MEUNIER J.D. & COLIN, F. (eds.). *Phytoliths: Application in Earth Sciences and Human History*. Taylor & Francis, p. 7-26.

WALLIS, L. An overview of leaf phytolith production patterns in selected northwest Australian flora. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 125, n. 3–4, p. 201–248, 2003. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0034666703000034?token=E71F2215C8511405027ED48F1B5CF3A52A55F7F4BAD41CC8BC30ADAF5203C2F4D1F47A37E04A0892FDEC AF560182DDB7&originRegion=us-east-1&originCreation=20220929162738>. Acesso em: 01 out. 2022.

XAVIER, O.B.; NADIA, T. L. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Thunbergia alata* (Acanthaceae) em um fragmento de mata atlântica do estado de Pernambuco. In: 64 Congresso Nacional De Botânica, 2013, Belo Horizonte. Resumos do 64 Congresso Nacional De Botânica, 2013. v. 1. p. 1-1