

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



Tese

**Conservação *ex situ* e biologia reprodutiva da
espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae)**

Tângela Denise Perleberg

Pelotas, 2017

Tângela Denise Perleberg

Conservação *ex situ* e biologia reprodutiva da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Fitomelhoramento).

Orientador: Dr^a. Rosa Lia Barbieri

Co-Orientadores: Dr. Márcio Paim Mariot

Dr^a. Rosana Farias Singer

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P426c Perleberg, Tângela Denise

Conservação ex situ e biologia reprodutiva da
espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae) /
Tângela Denise Perleberg ; Rosa Lía Barbieri, orientadora ;
Márcio Paim Mariot, Rosana Farias Singer, coorientadores.
— Pelotas, 2017.

90 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel,
Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Banco de germoplasma. 2. Recursos genéticos. 3.
Caracterização. 4. Plantas medicinais. I. Barbieri, Rosa Lía,
orient. II. Mariot, Márcio Paim, coorient. III. Singer, Rosana
Farias, coorient. IV. Título.

CDD : 633.88

Tângela Denise Perleberg

Conservação *ex situ* e biologia reprodutiva da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*,
Celastraceae)

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em Ciências, Área do conhecimento em Fitomelhoramento, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 09 de junho de 2017

Banca examinadora:

.....
Dr^a. Rosa Lia Barbieri – Embrapa Clima Temperado (orientadora e presidente)
Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

.....
Dr. Gustavo Heiden – Embrapa Clima Temperado
Doutor em Botânica pela Universidade de São Paulo

.....
Dr^a. Teila Ceolin - Universidade Federal de Pelotas
Doutora em Enfermagem pela Universidade Federal de Pelotas

.....
Dr^a Elisane Schwartz - Instituto Federal Sul-rio-grandense
Doutora em Agronomia pela Universidade Federal de Pelotas

Dedico este trabalho aos meus pais,
Toni Verinha e Darci

Agradecimentos

A minha querida amiga e orientadora Rosa Lía Barbieri agradeço pela confiança depositada em mim e no meu trabalho, pela paciência, pelos ensinamentos transmitidos, pela atenção de sempre e principalmente pela amizade e carinho. Agradeço imensamente por ter compartilhado comigo um pouco do seu amplo conhecimento. Peço licença para tomar como exemplo para minha carreira de docente e para minha vida, a competência, o profissionalismo e o amor que tens pela pesquisa e pelo que fazes. Obrigada por tudo.

Ao meu querido amigo e co-orientador, Márcio Paim Mariot, que compartilhou comigo o seu amor pela espinheira-santa. Tua empolgação é contagiante. Obrigada pelos ensinamentos, pela atenção que sempre teve por mim, pelas longas conversas sobre o assunto e, principalmente, pela amizade.

Vocês são a minha inspiração, representam a minha vontade de ir além e de conhecer cada vez mais sobre o assunto.

À minha mãe e ao meu pai, pelo amor, apoio e cuidado que sempre tiveram por mim. O exemplo de vocês é o meu guia, a minha direção. É por vocês e, para vocês, que cheguei onde estou. Amo vocês demais.

À minha família, irmãos, tias, sobrinhas, cunhados, pelos momentos de descontração e carinho. Vocês sempre foram e serão meu alicerce. O amor de vocês é essencial na minha vida.

Ao meu amor, Marcos Nobre, meu companheiro e amigo. Obrigada por estar ao meu lado neste período tão importante da minha vida. O teu apoio foi fundamental para chegar até aqui. Te amo.

As minhas amigas, que de perto ou de longe, sempre tinham alguma palavra de apoio e consolo. Roberta, Denise Souza, Andréia, Tatiane, Giane, Denise Vargas, Adriane, Gabriele e Daniele vocês fizeram parte de tudo, sem as vezes perceber. Roberta, compartilhasse comigo a longa caminhada do Doutorado, dividindo angústias, alegrias e dúvidas, que naquele momento somente nós entendíamos. Todos vocês, amigos que a vida me deu, contribuíram de alguma forma para a concretização deste trabalho. Obrigada!

Aos meus queridos alunos e bolsistas e agora amigos, que durante as diferentes etapas do desenvolvimento do trabalho me auxiliaram e me ensinaram

muito. Gabriel Hartwig, Tamires Ebeling, Josiane Vitória, Rafaela Magalhães, Patrick Silva e Bruna da Rosa, jamais esquecerei do carinho de vocês, da dedicação e do comprometimento.

Ao funcionário Sérgio Soares, do Instituto Federal Sul-rio-grandense, pela dedicação, carinho e amizade de sempre. Tenho grande admiração pela pessoa e profissional que és.

Aos que colaboraram na construção de alguma etapa da tese: Rosana Farias, Rejane Peter, Gustavo Gomes, Luísa Ugoski, Vera Bobrowski, Caroline Jácome, Flávio Roberto Mello Garcia. Rejane a tua dedicação na identificação dos insetos foi fundamental para aprimorar o trabalho, sou muito grata.

Aos meus colegas e queridos amigos que fiz no Laboratório de Recursos Genéticos da Embrapa Clima Temperado, Daniela, Claudete, Henrique, Marene, Juliana, Carla, Rebeca, Laísa, Marcelo, Rafaela, Patrick, Andrey, Eduardo, Bianca e Péricles, Gustavo G., Gustavo H., Luís. Agradeço pelos momentos que passamos juntos, pelo incentivo e pelas conversas que contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Instituto Federal Sul-rio-grandense pela concessão do afastamento para concluir o Doutorado.

À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/FAEM-UFPEL pela oportunidade de cursar Doutorado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia por todos os conhecimentos transmitidos e pelo tempo dedicado aos alunos do Curso.

À Embrapa Clima Temperado por ter proporcionado a oportunidade de desenvolver as etapas do trabalho com a infraestrutura adequada. A todos os seus funcionários, pelo apoio constante, pelas contribuições e pela amizade, em especial ao Breno, pelo carinho, amizade e apoio no campo.

A Deus pela vida, saúde e proteção ao longo dessa caminhada.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

*"A natureza é o único livro que oferece um conteúdo
valioso em todas as suas folhas!"*

Johann Goethe

Resumo

PERLEBERG, Tângela Denise. **Conservação *ex situ* e biologia reprodutiva da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae)**. 2017. 90f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) é uma planta medicinal nativa do Brasil utilizada no tratamento de gastrites e úlceras gástricas. Para conservar a variabilidade genética dessa espécie, 129 acessos provenientes de 15 municípios do Rio Grande do Sul são mantidos no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado em parceria com o Instituto Federal Sul-rio-grandense. Essa Tese teve como objetivo contribuir para o avanço do conhecimento relacionado à biologia reprodutiva de *M. ilicifolia*. Foram feitas avaliações da biologia floral, da fenologia reprodutiva, do sistema reprodutivo e dos polinizadores e dispersores de sementes. As fenofases de botão floral, antese floral, fruto maduro e imaturo foram avaliadas mensalmente. Os visitantes florais foram observados no período de floração e classificados em polinizadores ou pilhadores de néctar. As aves que consumiram os frutos foram registradas no período de maturação, sendo consideradas dispersoras de sementes as que engoliram os diásporos (arilo e sementes) inteiros. Foi verificado que as flores têm antese diurna, são morfológicamente hermafroditas, semelhantes no tamanho, formato e coloração, mas apresentam comportamento de flores funcionalmente femininas (produzem frutos) ou flores funcionalmente masculinas (produzem pólen), raramente hermafroditas. As flores funcionalmente femininas e masculinas produzem óvulos e pólen, e o estigma é receptivo. O ovário das flores funcionalmente masculinas não forma frutos. O pólen é fértil em ambos os morfotipos florais. Todavia, nas flores funcionalmente femininas não ocorre pólen em 37% das anteras e nas demais foi registrado apenas quatro grãos, em média. As flores funcionalmente masculinas e funcionalmente femininas ocorrem em diferentes plantas, caracterizando a espécie como funcionalmente dioica. Somente flores funcionalmente femininas e hermafroditas originaram frutos por polinização cruzada e geitonogamia, caracterizando autoincompatibilidade na espinheira-santa. O período reprodutivo ocorreu de junho, com a emissão dos botões florais, até fevereiro, com a maturação dos frutos. Os polinizadores são as moscas, com destaque para *Lucilia eximia* e *Limnophora* sp., e as vespas, com destaque para *Brachygastra melifica*, *Polistes canadensis* e uma espécie da família Tiphidae. Oito espécies de aves consumiram diásporos, atuando como dispersoras, com destaque para *Tangara sayaca*, *Elaenia* sp. e *Pipraeidea bonariensis*. *M. ilicifolia* é uma espécie alógama, apresentando morfologia floral compatível com a polinização entomófila e generalista. As fenofases reprodutivas estão correlacionadas com a temperatura e o comprimento do dia, e o início da floração depende da latitude. Esta tese contribui para o avanço do conhecimento sobre a biologia reprodutiva de espinheira-santa, apresentando informações relevantes para a conservação e uso deste importante recurso genético.

Palavras chave: Banco Ativo de Germoplasma; recursos genéticos; caracterização; plantas medicinais.

Abstract

PERLEBERG, Tângela Denise. **Ex situ conservation and reproductive biology of espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae)**. 2017. 90f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) is a medicinal plant native in Brazil. It is used in the treatment of gastritis and gastric ulcers. To conserve the genetic variability of this species, 129 accessions from 15 municipalities of Rio Grande do Sul State, Brazil, are conserved in the Active Germplasm Bank of Espinheira-Santa by Embrapa Clima Temperado in partnership with the Instituto Federal Sul-rio-grandense. This thesis had the objective to contribute to the advancement of knowledge related to the reproductive biology of *M. ilicifolia*. Evaluations were made of floral biology, reproductive phenology, reproductive system, pollinators and seed dispersers. The phenophases of flower bud, floral anthesis, ripe and immature fruit were evaluated monthly. Floral visitors were observed in the period of flowering and were classified in pollinators or nectar scavengers. The birds consuming fruit were registered at the time of ripening, and those that swallowed the whole diaspores (aril and seeds) were considered dispersors of seeds. The flowers have diurnal anthesis, are morphologically hermaphrodites, they are similar in size, shape and coloration, but exhibit behavior of functionally female flowers (producing fruit), or functionally male flowers (producing pollen), rarely hermaphrodites. Both floral morphotypes produce ovules and pollen, and the stigma is receptive. The ovary of the functionally male flowers does not produce fruit. Pollen is fertile in both floral morphotypes. However, pollen was not present in 37% of the anthers in functionally female flowers, and only four grains were recorded on the other flowers. The functionally male and female flowers occur on different plants, characterizing this species as functionally dioecious. Only functionally female flowers pollinated with pollen from other flowers set fruit by cross-pollination and geitonogamy, characterizing autoincompatibility in espinheira-santa. The reproductive period occurred from June, with the emission of flower buds, until February, with the maturation of the fruit. The pollinators are the flies, mainly *Lucilia eximia* and *Limnophora* sp., and wasps, especially *Brachygastra melifica*, *Polistes canadensis* and a species of Tiphiidae family. Eight species of birds consumed diaspores, acting as dispersors, standing out the *Tangara sayaca*, *Elaenia* sp. and the *Pipraeidea bonariensis*. *M. ilicifolia* is an allogamous species, showing floral morphology compatible with entomophilous and generalist pollination. The reproductive phenophases are correlated with temperature and length of the day, and the beginning of bloom depends on the latitude. This thesis contributes to the advancement of knowledge of the reproductive biology of espinheira-santa, featuring relevant information to the conservation and use of this important genetic resource.

Keywords: Active Germplasm Bank; genetic resources; characterization; medicinal plants.

Lista de Figuras

CAPÍTULO I - Biologia e fenologia reprodutiva de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae)

Figura 1	Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense, Pelotas, Rio Grande do Sul.....	23
Figura 2	Climatograma de junho de 2013 a maio de 2015 do município de Pelotas, Rio Grande do Sul.....	24
Figura 3	Morfotipos florais de <i>Maytenus ilicifolia</i> (Celastraceae).....	30
Figura 4	Aspectos da biologia floral de flores funcionalmente femininas de <i>Maytenus ilicifolia</i> (Celastraceae).....	33
Figura 5	Fenofases reprodutivas de <i>Maytenus ilicifolia</i> (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.....	42
Figura 6	Fenologia reprodutiva de <i>Maytenus ilicifolia</i> (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense, no período de junho de 2013 a maio de 2015.....	45
Figura 7	Índice de atividade da antese floral em plantas com flores funcionalmente femininas e plantas com flores funcionalmente masculinas de <i>Maytenus ilicifolia</i> (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.....	46

**CAPÍTULO II - Polinizadores e dispersores de sementes em
espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae)**

Figura 1	Flores de <i>Maytenus ilicifolia</i> (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.....	55
Figura 2	Polinizadores de <i>Maytenus ilicifolia</i> (Celastraceae) no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.....	61
Figura 3	Dispersão de sementes em <i>Maytenus ilicifolia</i> (Celastraceae) no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.....	67
Figura 4	Aves dispersoras de sementes de <i>Maytenus ilicifolia</i> (Celastraceae) no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.....	68

Lista de Tabelas

CAPÍTULO I - Biologia e fenologia reprodutiva de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae)

- Tabela 1** Acessos de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense coletados no Rio Grande do Sul..... **24**
- Tabela 2** Morfometria floral de flores funcionalmente femininas e flores funcionalmente masculinas de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.... **33**
- Tabela 3** Testes do sistema reprodutivo de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense..... **40**
- Tabela 4** Correlação de Spearman (r_s) entre as fenofases reprodutivas e variáveis climáticas para *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense..... **44**

CAPÍTULO II - Polinizadores e dispersores de sementes em espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae)

- Tabela 1** Visitantes florais de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense..... **58**
- Tabela 2** Aves visitantes de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense..... **66**

Tabela 3 Táticas utilizadas por aves dispersoras de sementes na coleta de diásporos em <i>Maytenus ilicifolia</i> (Celastraceae) no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.....	70
---	-----------

Sumário

1. Introdução geral.....	14
2. CAPÍTULO I - Biologia e fenologia reprodutiva de espinheira-santa (<i>Maytenus ilicifolia</i>, Celastraceae)	19
2.1 Introdução	19
2.2 Material e métodos	21
2.3 Resultados e Discussão	29
2.4 Conclusões	47
3. CAPÍTULO II - Polinizadores e dispersores de sementes em espinheira- santa (<i>Maytenus ilicifolia</i>, Celastraceae)	48
3.1 Introdução	48
3.2 Material e métodos	50
3.3 Resultados e Discussão	54
3.4 Conclusões	73
4. Considerações finais	74
Referências	76

1. Introdução geral

Conforme cresce o conhecimento sobre a grande biodiversidade brasileira, também cresce a variedade de opções de espécies que podem ser utilizadas para alimentação, remédios, óleos essenciais, fonte de fibras, e uma diversidade de outros produtos (BRASIL, 2016a). De acordo com o sistema de informação sobre a biodiversidade brasileira (SIBBR), o Brasil tem a maior biodiversidade do mundo, representando aproximadamente 20 a 22% de todas as espécies de plantas conhecidas (BRASIL, 2017a). Dados científicos confirmam que 32.862 espécies de angiospermas e gimnospermas são atualmente conhecidas para o país (BFG, 2015).

Apesar de algumas iniciativas, como a ampliação da superfície de áreas protegidas no planeta, a biodiversidade vem sofrendo uma preocupante redução nos últimos anos. As Unidades de Conservação, que tem por objetivo proteger as áreas naturais do nosso país, para a manutenção dos recursos naturais em longo prazo (BRASIL, 2017b), raramente são capazes de resguardar todos os habitats e espécies de interesse (KATI et al., 2004). Como estratégia complementar à conservação *in situ*, pode-se utilizar a conservação *ex situ*, que é quando as plantas são mantidas em bancos de germoplasma, fora do seu habitat natural.

Uma forma de conservação *ex situ* são os Bancos Ativos de Germoplasma, que têm como objetivo evitar a perda de recursos genéticos, conservar fontes de genes, e colecionar, identificar e caracterizar genótipos para uso no melhoramento (BARBIERI, 2003; VILLELA et al., 2014). De acordo com o Quarto Relatório Nacional para a Convenção sobre Diversidade Biológica, no Brasil estão registrados 350 Bancos de Germoplasma e uma Coleção de Base (de conservação de longo prazo) composta de 212 gêneros, 668 espécies e mais de 107.000 acessos. Todo esse sistema apoia centenas de programas públicos e privados de melhoramento genético desenvolvidos em todo o Brasil (BRASIL, 2011).

As plantas medicinais estão entre as que mais sofrem erosão genética pelo seu uso difundido (EMBRAPA, 2017). Entre estas, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (Celastraceae), conhecida popularmente como espinheira-santa, é amplamente utilizada na medicina popular do Brasil (DUTRA et al., 2016), especialmente em comunidades locais no sul do país, onde ainda é considerada uma espécie subutilizada (BARBIERI et al., 2014).

Maytenus Molina é um dos maiores gêneros da família Celastraceae, sendo essencialmente americano com cerca de 140 espécies (BIRAL et al., 2015; MCKENNA et al., 2008). O Brasil possui 49 espécies pertencentes a esse gênero, das quais 36 são endêmicas (CELASTRACEAE, 2017), amplamente adaptadas a variadas configurações ecológicas e ocorrendo em todos os domínios fitogeográficos do país (BIRAL et al., 2015). Dentre as espécies do gênero, *Maytenus ilicifolia* é a mais conhecida e explorada economicamente devido a seu uso na medicina popular e na indústria de fitoterápicos (COSTA et al., 2014; KOWALSKI et al., 2008).

O uso medicinal dessa planta é amplamente referenciado em bibliografia sobre o assunto (COPPEDE et al., 2014; JESUS; CUNHA, 2012; SIEGEL et al., 2016; STOLZ et al., 2014). A infusão de suas folhas apresenta eficácia comprovada para o tratamento de gastrites e úlceras gástricas (CARLINI, 1988; JORGE et al., 2004; SOUZA-FORMIGONI et al., 1991). Além disso, estudos etnofarmacológicos e etnobotânicos realizados no Rio Grande do Sul indicaram que a espinheira-santa configura entre as espécies nativas mais frequentemente citadas para o alívio de diversas dores (STOLZ et al., 2014). Apresenta grande importância na medicina popular, sendo uma das plantas medicinais mais utilizadas em comunidades rurais no sul do Brasil (BARBIERI et al., 2014) e por agricultores de Misiones na Argentina (KUJAWSKA et al., 2017).

A espinheira-santa é uma espécie secundária inicial exigindo grande intensidade de luz para o seu estabelecimento, desenvolvimento e reprodução (RADOMSKI et al., 2004). Neste sentido, *M. ilicifolia* é indicada na recuperação de ecossistemas degradados e no enriquecimento de florestas e áreas de reserva legal, com plantio em locais onde a floresta nativa encontra-se em fase inicial de regeneração, ou seja, em áreas de capoeirinha ou capoeira (CARVALHO, 2006; SCHEFFER et al., 2009).

É uma espécie de porte subarbustivo a arbóreo, com estatura variando desde 40cm até 12m (CARVALHO, 2006; MARIOT, 2005). Diferencia-se das demais espécies do gênero por apresentar ramos angulosos, tetra ou multicarenados. As folhas são coriáceas, glabras e brilhantes, com margens providas de espinhos pouco rígidos. As flores são inconspícuas, de coloração branco-esverdeada, e estão reunidas em inflorescências do tipo fascículo multifloro. Apresentam um disco nectarífero, carnoso e bem desenvolvido que circunda o ovário. Os cinco estames são alternipétalos, e apresentam anteras basefixas, introrsas, bitecas e rimosas. O

gineceu é bicarpelar, glabro, sincárpico, bilocular, com placentação axial e com dois óvulos por lóculo. Os frutos possuem pericarpo vermelho-alaranjado, são do tipo cápsula, bivalvar e orbicular. As sementes são completamente cobertas por um arilo branco e suculento (CARVALHO-OKANO, 1992; CARVALHO-OKANO; LEITÃO-FILHO, 2004).

A forte ação antrópica, sem critérios de manejo adequado e a carência de informações com relação à caracterização de germoplasma, tem levado à perda deste recurso genético, promovendo uma importante redução das populações naturais da espinheira-santa e a consequente diminuição da variabilidade genética (MARIOT, 2005; STEENBOCK; REIS, 2004). Ações integradas e contínuas de pesquisa para a coleta, conservação e caracterização são de fundamental importância para diminuir ou frear a perda deste importante recurso genético.

No sentido de contribuir com os estudos de caracterização e conservação da diversidade genética de espinheira-santa, a Embrapa Clima Temperado, em parceria com o Instituto Federal Sul-rio-grandense, implantou, em 2002, um Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa. O Banco conserva, através de cultivo no campo, 129 acessos de *M. ilicifolia* e oito acessos de *M. aquifolia* Mart. oriundos de várias regiões do Rio Grande do Sul (MARIOT, 2005).

A caracterização morfológica, genética e química permite o conhecimento do germoplasma conservado, disponibilizando-o para estudos posteriores. Desde a implantação do banco de germoplasma os acessos vêm sendo caracterizados quanto a caracteres morfológicos, fisiológicos e genéticos de importância agrônômica (MARIOT, 2005; MARIOT; BARBIERI, 2007; MARIOT; BARBIERI, 2010; MARIOT et al., 2008; MARIOT et al., 2009; RIBEIRO et al., 2010). Estes trabalhos têm mostrado que existe grande variabilidade fenotípica e genotípica entre os acessos. No entanto, ainda existe carência de informação com relação à caracterização do germoplasma de espinheira-santa, principalmente no que se refere à biologia reprodutiva, polinização e dispersão de sementes.

Estudos relacionados a biologia reprodutiva, envolvendo o conhecimento da biologia floral, da fenologia reprodutiva, estratégias de cruzamento, ecologia de polinização e dispersão de sementes em *M. ilicifolia* são uma eficiente ferramenta para contribuir no aprimoramento de estratégias de manejo e de conservação (STEENBOCK; REIS, 2004). A manutenção de indivíduos reprodutivos, nas áreas manejadas ou Bancos Ativos de Germoplasma, deve levar em conta as diferenças

na estrutura floral e na frequência de tipos florais. O melhoramento genético, a conservação de germoplasma e a produção de sementes devem estar apoiados no conhecimento do modo de reprodução da espécie (GUSSON et al., 2006).

No que diz respeito à biologia floral de *M. ilicifolia*, sabe-se que, embora suas flores sejam morfológicamente monóclinas, elas são consideradas funcionalmente díclinas (CARVALHO-OKANO, 1992; MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003). Provavelmente, no gênero *Maytenus*, a redução dos órgãos reprodutivos, ora do androceu, ora do gineceu, indica uma tendência da bissexualidade para a unissexualidade das flores e até mesmo dos indivíduos. Entretanto, flores monóclinas, com estames e pistilos normais, também estão presentes, sugerindo um estágio intermediário da sexualidade de suas espécies (CARVALHO-OKANO, 1992).

A dioícia é um sistema sexual amplamente distribuído entre as angiospermas, ocorrendo em quase todas as famílias, incluindo grupos basais e derivados (BARRETT; HOUGH, 2013). No entanto, a frequência geral de espécies de angiospermas que são dioicas é apenas de cerca de 6% (RENNER; RICKLEFS, 1995).

A análise de aspectos da biologia floral de *M. ilicifolia* em populações naturais mostrou que há diferentes estratégias de adaptação relacionadas à estrutura floral e à frequência dos morfotipos florais em diferentes condições de solo e luminosidade (MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003). A pleno sol e sob fortes restrições edáficas, como afloramentos rochosos, a taxa de cruzamento é de praticamente 100%, e os indivíduos tendem a produzir quase exclusivamente flores funcionalmente femininas ou flores funcionalmente masculinas. Na medida em que a sucessão secundária avança, os indivíduos tendem a apresentar os dois morfotipos florais, e a taxa de cruzamento cai significativamente (MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003; STEENBOCK; REIS, 2004). Em indivíduos que ocorrem em ambientes sombreados pode existir a possibilidade de reprodução por geitonogamia, caso não haja algum mecanismo de autoincompatibilidade envolvido, fato que deve reduzir a alogamia nesta população (STEENBOCK, 2003).

O estudo da fenologia representa uma ótima ferramenta para o entendimento dos fatores que influenciam a reprodução das espécies vegetais (MORELLATO et al. 2000), contribuindo para a compreensão da dinâmica e estruturação das comunidades de plantas (BELO et al., 2013). A fenologia estuda a ocorrência de eventos biológicos repetitivos, como os reprodutivos, e os efeitos responsáveis pelo

desencadeamento destes em relação a fatores bióticos e abióticos, dentro de uma ou várias espécies (LIETH et al., 1974). Através da fenologia reprodutiva é possível conhecer como está organizada a distribuição temporal das flores e frutos, entender a dinâmica de reprodução e regeneração das plantas e a relação entre plantas e animais (CALVI; PIÑA-RODRIGUES, 2005).

Como demonstrado para várias espécies de plantas, a fenologia reprodutiva é influenciada por fatores climáticos ambientais (COSTA et al., 2017; FARIA et al., 2015; RANIERI et al., 2012). Em *M. ilicifolia* a temperatura e o comprimento do dia foram considerados fatores abióticos importantes para o início do período reprodutivo (botão e antese floral) e a precipitação um fator ambiental importante para a antese e o início da frutificação (MAZZA et al., 2011). A latitude também influencia na época de floração e maturação dos frutos da espinheira-santa (MARIOT, 2005; SCHEFFER, 2001). No Rio Grande do Sul, a espinheira-santa apresenta frutos em maturação em diferentes épocas conforme o local, entre novembro e dezembro mais ao sul e em janeiro no nordeste do estado (MARIOT, 2005). No Paraná a ocorrência de frutos maduros se estende até fevereiro (MAZZA et al., 2011).

No que diz respeito à ecologia da polinização e dispersão de sementes de espinheira-santa, pouco se sabe sobre o assunto. Em flores de *M. ilicifolia* foram observados pequenos insetos, como abelhas, vespas e formigas, que podem ser polinizadores ou pilhadores de néctar (CARVALHO, 2006; SCHEFFER et al., 2009). O contraste do pericarpo laranja-avermelhado com o arilo branco quando o fruto maduro se abre pode ser atrativo às aves (NEGRELLE et al., 1999), sugerindo que estas possam ser as dispersoras das sementes da espécie.

Considerando o exposto acima, este trabalho teve como objetivo geral contribuir para o avanço do conhecimento relacionado à biologia reprodutiva de *M. ilicifolia* no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.

Serão apresentados dois capítulos, cujos objetivos são, respectivamente, caracterizar a biologia floral, a fenologia reprodutiva e o sistema reprodutivo; e, identificar os polinizadores e dispersores de sementes de *M. ilicifolia*.

2. CAPÍTULO I

Biologia e fenologia reprodutiva de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae)

2.1 Introdução

Apesar da existência de várias recomendações para a conservação e uso sustentável de plantas medicinais, apenas uma pequena parcela destes recursos genéticos tem sido adequadamente protegida em reservas ou jardins botânicos (CHEN et al., 2016). Os Bancos Ativos de Germoplasma são uma forma de conservação *ex situ* que auxiliam nesse processo, uma vez que têm como objetivo evitar a perda de recursos genéticos, conservar fontes de genes, e colecionar, identificar e caracterizar genótipos para uso no melhoramento (BARBIERI, 2003; VILLELA et al., 2014). A Embrapa Clima Temperado, em parceria com o Instituto Federal Sul-rio-grandense, mantém um Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa com acessos de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek e *Maytenus aquifolia* Mart. (Celastraceae) coletados em vários municípios do Rio Grande do Sul (MARIOT et al., 2008).

M. ilicifolia, popularmente conhecida como espinheira-santa, é uma planta nativa do Brasil, de porte subarbustivo a arbóreo, podendo chegar a 12m de altura. Apresenta folhas com margem espinesciente, flores pequenas, amarelo-esverdeadas e fruto de coloração alaranjada a avermelhada quando maduro (CARVALHO, 2006; CARVALHO-OKANO, 1992; MAZZA et al., 2011). Ocorre predominantemente nos estados da região sul do País e nos países vizinhos do Paraguai, Uruguai e leste da Argentina (CARVALHO-OKANO, 1992). Existem registros da ocorrência da espécie

para as regiões Centro-Oeste (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul) e Sudeste (São Paulo) do Brasil (CELASTRACEAE, 2017). No Rio Grande do Sul está presente, ainda que esporadicamente, em todas as formações florestais (SOBRAL et al., 2013). Possui significativa plasticidade ambiental, desenvolvendo-se em diversas condições de fertilidade e regime hidromórfico de solos e sob distintos ambientes lumínicos (RADOMSKI; BULL, 2010). Populações desta espécie são abundantes em ambientes com severas restrições edáficas e hídricas, como afloramentos rochosos e ambientes inundáveis (MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003).

A espinheira-santa faz parte da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) desde 2009 (BRASIL, 2014), além disso, consta na RDC nº 10 de 2010 (BRASIL, 2010), no Memento Fitoterápico de 2016 (BRASIL, 2016b) e na lista dos 12 fitoterápicos fornecidos pelo Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2012). A espécie é amplamente utilizada na medicina popular brasileira (COSTA et al., 2014; DUTRA et al., 2016). As folhas são usadas por meio do processo de infusão para desordens estomacais (NASCIMENTO et al., 2005), apresentando ação comprovada contra gastrite e úlceras gástricas (CARLINI, 1988; JORGE et al., 2004; SOUZA-FORMIGONI et al., 1991). Além destas indicações existem relatos da eficácia desta espécie para outras doenças, apresentando atividade antioxidante, antiespasmódica, anti-inflamatória, diurética, antiácida, anticancerígena e cicatrizante (COPPEDE et al., 2014; JESUS; CUNHA, 2012; LEME et al., 2013; SIEGEL et al., 2016).

Apesar de sua grande importância pouco se conhece sobre a biologia reprodutiva desta espécie. O conhecimento da biologia floral, do sistema reprodutivo e dos padrões fenológicos possibilita a compreensão da biologia reprodutiva do germoplasma disponível, auxiliando na estratégia de conservação e no manejo a ser adotado (MAUÉS; COUTURIER, 2002), além de ser fundamental como ferramenta para definição de estratégias em programas de melhoramento genético. Uma compreensão básica da biologia floral é essencial para estudos relacionados com a polinização de uma determinada espécie vegetal. As flores têm estruturas complexas adaptadas à reprodução sexual. Cada parte da flor desempenha um papel especial em um ou mais eventos que ocorrem durante a produção, transporte ou encontro de gametas (FRANCESCHINELLI et al., 2015).

Aspectos da morfologia floral, da fenologia reprodutiva e do sistema reprodutivo foram avaliados em populações naturais de *M. ilicifolia* no Paraná. Estes

estudos constataram que a espécie é preferencialmente alógama (MAZZA et al., 2011; SCHEFFER, 2001; STEENBOCK, 2003) e que as fenofases reprodutivas tem relação com a temperatura, precipitação e comprimento do dia (MAZZA et al., 2011). Além disso, observou-se que *M. ilicifolia* apresenta variação no início e duração das fenofases reprodutivas dependendo do local de ocorrência e das condições climáticas predominantes no ano (MARIOT, 2005; MAZZA et al., 2011).

Pautados no sistema reprodutivo e na presença de flores morfológicamente monóclinas e funcionalmente díclinas, estudos têm apontado para uma provável dioécia em *M. ilicifolia*. As flores funcionalmente femininas e funcionalmente masculinas são diferenciadas por características morfológicas e funcionais dos órgãos reprodutivos (CARVALHO-OKANO, 1992; MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003). A frequência dos morfotipos florais e a taxa de cruzamento da espécie parece ter relação com o tipo de solo e com condições de luminosidade a que as plantas estão submetidas. A pleno sol e sob fortes restrições edáficas, como afloramentos rochosos, a taxa de cruzamento é de praticamente 100%, e os indivíduos tendem a produzir quase exclusivamente flores funcionalmente femininas ou flores funcionalmente masculinas. Sob condições de sombreamento, os indivíduos tendem a exibir os dois morfotipos florais, e a taxa de cruzamento cai significativamente (MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003; STEENBOCK; REIS, 2004).

Nesse contexto, a avaliação da biologia reprodutiva e da fenologia da espinheira-santa deve ser realizada em diferentes ambientes, uma vez que ocorrem variações. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a biologia floral, a fenologia reprodutiva e o sistema reprodutivo de *M. ilicifolia* do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense (IFSul).

2.2 Material e métodos

2.2.1 Área de estudo

O trabalho foi realizado no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado/IFSul, em Pelotas, Rio Grande do Sul, entre junho de 2013 e outubro de 2016. Os acessos desse BAG pertencem às

espécies *Maytenus aquifolia* e *M. ilicifolia*, são originários de diferentes regiões do Rio Grande do Sul e são conservados a campo em duas áreas distintas no município de Pelotas (Figura 1). Cada acesso corresponde a progênie de uma única planta matriz cujas sementes foram coletadas de novembro de 2002 a janeiro de 2003 em municípios do Rio Grande do Sul (Tabela 1) (MARIOT, 2005).

Na Estação Experimental Cascata (EEC) da Embrapa Clima Temperado (31°61' S e 52°52' O) são mantidas 471 plantas, dos acessos 1 a 115, sendo oito acessos de *M. aquifolia* e os demais de *M. ilicifolia*. O local fica a 25km do centro de Pelotas e pertence à região fisiográfica Encosta do Sudeste, com altitude de 160m e vegetação de entorno de Floresta Estacional Semidecidual. No Câmpus Pelotas - Visconde da Graça (CaVG) do Instituto Federal Sul-rio-grandense (31°42' S e 52°18' O) são mantidas 183 plantas, dos acessos 116 a 137, todos pertencentes a espécie *M. ilicifolia*. Esta área fica a 8,5Km do centro de Pelotas, e situa-se na Planície Costeira, 7m acima do nível do mar. A vegetação do entorno apresenta campos de pastejo, plantios de eucalipto (*Eucalyptus* spp., Myrtaceae) e áreas experimentais com culturas anuais e perenes.

O clima nessas áreas é do tipo Cfa, subtropical úmido, com verões quentes e sem estação seca, conforme classificação de Köppen (MORENO, 1961). Os dados das normais climatológicas (1971-2000), para o município de Pelotas, mostram que existe regularidade na precipitação ao longo do ano, com média mensal de 113,9mm. A temperatura média anual é de 17,8°C, com temperaturas máximas absolutas superiores a 39°C entre novembro e janeiro, e temperaturas mínimas absolutas inferiores a 0°C entre junho e agosto (SCHÖFFEL et al., 2016). As temperaturas médias, temperatura mínima (média mensal), temperatura máxima (média mensal), e a precipitação pluviométrica durante o período de estudo, junho de 2013 a maio de 2015, se mantiveram próximas às médias das normais climatológicas (Figura 2).

O trabalho foi desenvolvido com acessos de *M. ilicifolia*. A avaliação fenológica e a caracterização das plantas quanto ao morfotipo floral foram realizadas nas duas áreas do Banco Ativo de Germoplasma. As avaliações referentes a biologia floral e ao sistema reprodutivo foram feitas com as plantas do CaVG. Exsicatas dos acessos avaliados foram depositadas no Herbário da Embrapa Clima Temperado (ECT), com os números de voucher ECT0000648 a ECT0000660.

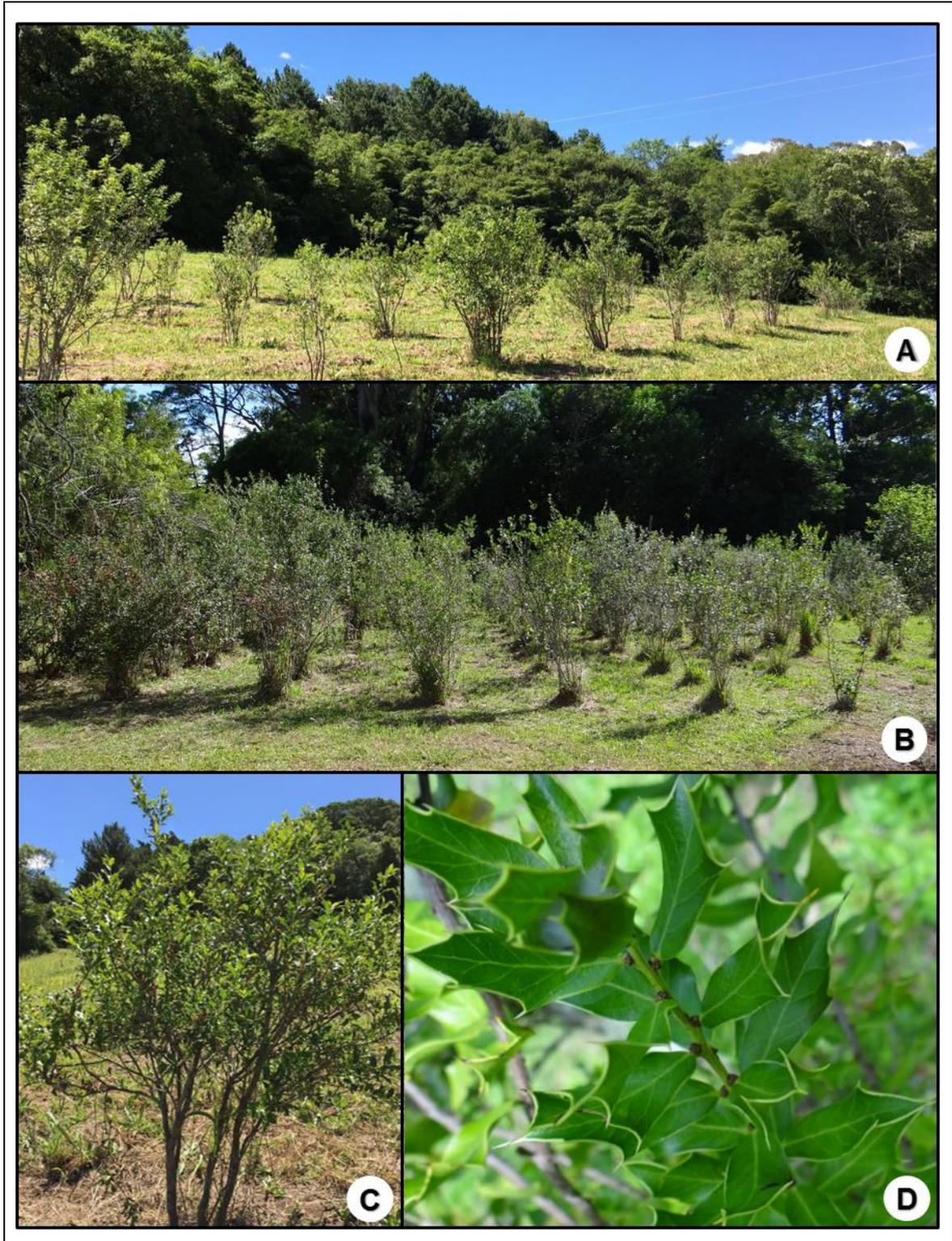
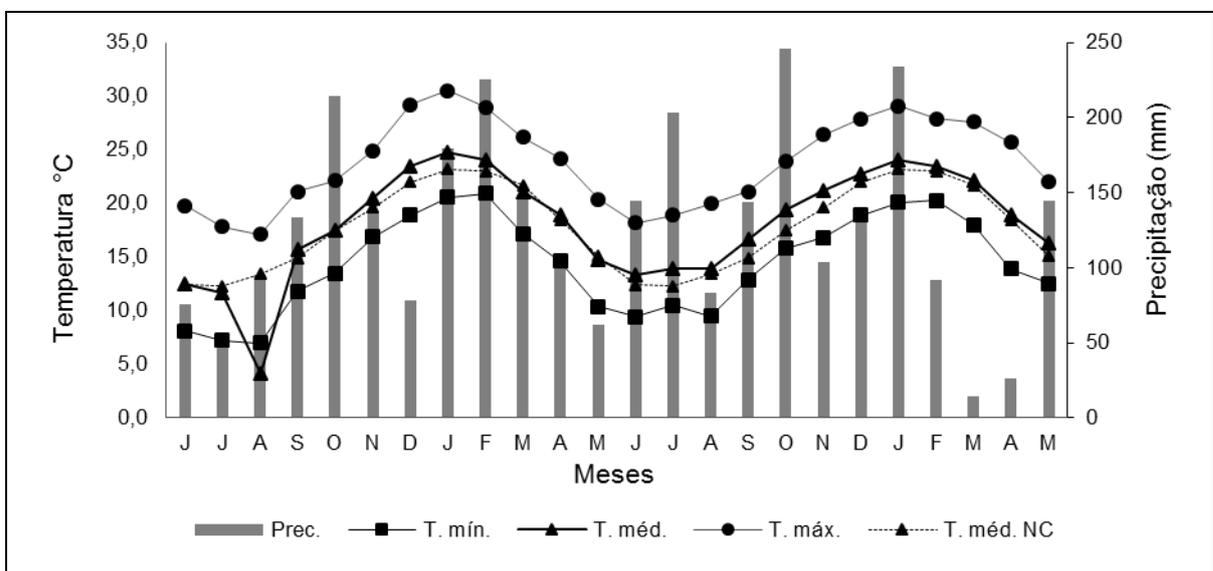


Figura 1. Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense, Pelotas, Rio Grande do Sul. A. Área localizada na Estação Experimental da Cascata (EEC). B. Área localizada no Câmpus Pelotas - Visconde da Graça (CaVG). C. Hábito de crescimento. D. Detalhe das folhas de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). Fotos: Tângela Denise Perleberg.

Tabela 1. Acessos de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense coletados no Rio Grande do Sul.

Acessos	Procedência	Data de coleta	Coletor
1 a 16	Encruzilhada do Sul	Nov./2002	Márcio Mariot
17 a 54, 127 a 136	Piratini	Dez./2002 e Dez./2003	Márcio Mariot
55 a 61, 86 a 89, 92 a 94	Arroio Grande	Dez./2002	Márcio Mariot
62-83	Candiota	Dez./2002	Márcio Mariot
84	Hulha Negra	Dez./2002	Márcio Mariot
85 e 137	Pelotas	Dez./2002 e Dez./2004	Márcio Mariot
90 e 91	Farroupilha	Dez./2002	Márcio Mariot
95 e 96	Cachoeirinha	Jan./2003	Márcio Mariot
97 e 98	São Francisco de Paula	Jan./2003	Márcio Mariot
99 a 101, 112	Caxias do Sul	Jan./2003	Márcio Mariot
102	Vacaria	Jan./2003	Márcio Mariot
113	São Marcos	Jan./2003	Márcio Mariot
114, 116 a 121	Canguçu	Jan./2003 e Nov./2003	Márcio Mariot
115	Bom Jesus	Jan./2003	Márcio Mariot
123 a 126	Morro Redondo	Dez./2003	Márcio Mariot



2.2.2 Biologia floral

Para caracterização morfológica das flores foram utilizadas 30 flores funcionalmente femininas e 30 flores funcionalmente masculinas. Com auxílio de paquímetro digital de precisão (0,01mm) foram obtidas as seguintes medidas: diâmetro da abertura da corola, largura e comprimento das pétalas, diâmetro do cálice, comprimento dos estames, comprimento da antera, diâmetro do disco nectarífero e comprimento do estilete. Além disso, foi registrada a coloração das flores, a presença de odor, a simetria floral, o número de pétalas, sépalas e estames, a deiscência das anteras, o tipo de ovário, o número de lóculos e óvulos por ovário, e a presença de pólen nas anteras. A terminologia dos caracteres morfológicos foi baseada em Gonçalves; Lorenzi (2007). Para verificar a presença de odor, flores dos dois morfotipos florais foram mantidas separadas em recipientes de vidro tampados por 10 minutos (KEARNS; INOUE, 1993), quando foi solicitado que 10 pessoas, através do olfato, verificassem se havia perfume.

A viabilidade polínica foi testada com uso do carmim acético (KEARNS; INOUE, 1993) em 90 flores funcionalmente masculinas e 90 flores funcionalmente femininas, com uso de microscópio óptico. De cada flor foram utilizadas as cinco anteras, sendo que para as funcionalmente masculinas foi feita a contagem de 100 grãos de pólen por flor, e para as femininas todos os grãos de pólen de cada flor foram contados. Foram considerados viáveis apenas os grãos de pólen que coraram de vermelho.

A caracterização das plantas de *M. ilicifolia* quanto ao morfotipo floral foi realizada em todas as plantas do CaVG (n=180) e em 100 plantas da EEC, pela observação direta das flores com uso de lupa de mão com aumento de cinco vezes. Foram consideradas plantas funcionalmente femininas as que possuíam flores com ovário evidente, estames curtos e anteras esbranquiçadas e plantas funcionalmente masculinas as que possuíam flores com estames desenvolvidos, anteras amarelo-escuro e ovário não evidente (MAZZA et al., 2011), assim como a presença de pólen em grande quantidade nas anteras.

O número de inflorescências foi contado em cinco ramos de 10 plantas de cada morfotipo floral, totalizando 50 ramos por morfotipo floral. O número total e diário de flores em antese por inflorescência foi acompanhado diariamente em 30 inflorescências de cada morfotipo floral, previamente ensacadas, durante 30 dias,

iniciando com a contagem do número de botões florais e terminando quando a última flor de cada inflorescência abriu. Em 30 infrutescências de plantas funcionalmente femininas foi feita a contagem do número de frutos maduros.

Para determinação do horário de antese e da longevidade das flores, 30 flores de cada morfotipo floral, previamente ensacadas, foram acompanhadas durante 15 dias. A observação das flores foi feita em intervalos de duas horas entre 7 horas e 18 horas e em um único intervalo de 12 horas entre 18 horas e 6 horas. Neste período também foi verificado se havia produção de néctar, presença de pólen e se o estigma estava fértil. Estas últimas análises foram realizadas em laboratório com uso de estereomicroscópio. A receptividade do estigma foi testada pelo método de peróxido de hidrogênio a 3% no momento da antese, 24 horas, 48 horas, e assim por diante até completar 15 dias de antese (KEARNS; INOUE, 1993).

2.2.3 Sistema reprodutivo

Os seguintes procedimentos foram realizados para avaliação do sistema reprodutivo dos acessos de *M. ilicifolia*:

- 1) ensacamento dos dois morfotipos florais em pré-antese (110 flores funcionalmente masculinas e 110 flores funcionalmente femininas de 11 acessos), para verificar a ocorrência de autopolinização espontânea;
- 2) polinização de flores dos dois morfotipos florais (110 flores funcionalmente masculinas e 110 flores funcionalmente femininas de 11 acessos) com pólen da própria flor e posterior ensacamento, para verificar a ocorrência de autopolinização manual;
- 3) emasculação das flores dos dois morfotipos florais (110 flores funcionalmente masculinas e 110 flores funcionalmente femininas de 11 acessos) e posterior ensacamento, para verificar a ocorrência de apomixia;
- 4) polinização de flores emasculadas dos dois morfotipos florais (140 flores funcionalmente masculinas e 140 flores funcionalmente femininas de 14 acessos) com pólen proveniente de flores funcionalmente masculinas e funcionalmente femininas de acessos diferentes, para verificar a ocorrência de polinização entre acessos diferentes;
- 5) polinização de flores funcionalmente femininas emasculadas (120 flores de 12 acessos) com pólen de flores funcionalmente masculinas do mesmo acesso, mas de

plantas diferentes, para verificar a ocorrência de polinização entre acessos de meios irmãos;

6) polinização de flores dos dois morfotipos florais (14 flores funcionalmente masculinas e 14 flores funcionalmente femininas de um acesso) com pólen de flores funcionalmente masculinas da mesma planta, para verificar a ocorrência de geitonogamia;

7) botões dos dois morfotipos florais (130 botões funcionalmente masculinos e 130 botões funcionalmente femininos de 13 acessos) foram marcados e ficaram disponíveis aos visitantes florais, para verificar a ocorrência de polinização em condições naturais;

8) polinização de flores hermafroditas (14 flores de um acesso) com pólen de flores funcionalmente masculinas de outro acesso, para verificar a ocorrência de polinização.

Ramos com flores em pré-antese foram isolados com sacos de tecido de malha fina. A transferência de pólen nos procedimentos acima descritos foi realizada entre flores que estavam no segundo ou terceiro dia de antese. Os ramos foram mantidos ensacados até a queda da flor ou a formação do fruto, que foi acompanhado até a maturação. Os frutos maduros foram colhidos para verificar o número de sementes e a porcentagem de emergência (MARIOT et al., 2009).

Para verificar a viabilidade das sementes oriundas dos morfotipos florais de *M. ilicifolia*, selecionou-se, aleatoriamente, cinco plantas funcionalmente femininas e cinco plantas funcionalmente masculinas. Foram utilizadas 50 sementes de cada planta funcionalmente feminina, e todas as sementes obtidas de cada planta funcionalmente masculina, sendo 15, 50, 36, 50 e 21 sementes respectivamente. As sementes oriundas de flores hermafroditas (n=20) também foram avaliadas. Foi realizado o teste de emergência, com semeadura a 1,5-2,0cm de profundidade, em bandejas multicelulares de 132 células contendo mistura de substrato comercial (Plantmax®) e vermiculita (volume de expansão de 0,1 m³) na proporção de 1:1. As bandejas foram mantidas em casa-de-vegetação com irrigação por nebulização três vezes ao dia. A contagem de plântulas emergidas foi realizada após 70 dias para estimar a porcentagem de emergência (MARIOT et al., 2009).

2.2.4 Fenologia reprodutiva

O acompanhamento fenológico dos acessos de *M. ilicifolia* foi realizado mensalmente entre junho de 2013 e maio de 2014 (primeiro ano) e entre junho de 2014 e maio de 2015 (segundo ano), com 100 plantas da EEC e 180 plantas do CaVG. Dois parâmetros foram avaliados: o índice de atividade e o índice de intensidade de Fournier.

O índice de atividade se refere ao percentual de indivíduos em uma determinada fenofase, indicando o início e o final do evento fenológico e a sincronia entre as plantas avaliadas para um determinado evento fenológico. Para estimar este índice, foram utilizados dados de presença (1) ou ausência (0) da fenofase em relação ao número total de plantas (N) da amostra. O evento fenológico foi considerado não sincrônico quando menos de 20% dos indivíduos apresentavam a fenofase; pouco sincrônico, quando de 20 a 60% dos indivíduos apresentavam a fenofase; e sincrônico, quando mais 60% dos indivíduos estavam na fenofase avaliada (BENCKE; MORELLATO, 2002).

O Índice de intensidade de Fournier (1974) se refere à intensidade de ocorrência de uma determinada fenofase. Foi estimado com auxílio de uma escala de cinco categorias: 0 = ausência do evento fenológico; 1 = presença do evento fenológico na magnitude entre 1% e 25%; 2 = presença do evento fenológico na magnitude entre 26% e 50%; 3 = presença do evento fenológico na magnitude entre 51% e 75%; e 4 = presença do evento fenológico na magnitude entre 76% e 100%. Este índice foi calculado mensalmente para cada área avaliada, por meio do somatório dos valores de intensidade obtidos para todos os indivíduos, dividido pelo valor máximo possível (número total de indivíduos da área multiplicado por quatro), de acordo com a fórmula: $[(\sum \text{Fournier}) \cdot (4N)^{-1}]100$.

Para verificar a existência de correlação entre as fenofases reprodutivas (número de indivíduos exibindo determinada fenofase) e as variáveis climáticas (temperatura média, mínima e máxima, precipitação e comprimento do dia) foi feita a correlação de Spearman (r_s) (ZAR, 1999), com uso do programa SAS.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Biologia floral

A morfologia dos órgãos reprodutivos de *M. ilicifolia* permitiu a identificação de três morfotipos florais: flores funcionalmente masculinas, flores funcionalmente femininas e flores hermafroditas (Figura 3). As flores destes morfotipos florais são inconspícuas (pequenas e discretas), apresentam coloração verde-amarelada e não exalam odor perceptível ao olfato humano. Estão reunidas em inflorescências axilares fasciculadas, são pediceladas, actinomorfas, pentâmeras, dialipétalas e gamossépalas, com um disco nectarífero intra-estaminal carnoso que circunda o gineceu e que produz néctar. As sépalas, em número de cinco, têm margem ciliada de coloração amarronzada. O gineceu é bicarpelar e bilocular. Os cinco estames são alternipétalos, estão inseridos no disco nectarífero e as anteras tem deiscência longitudinal.

Estas características florais estão relacionadas à entomofilia (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979), ou seja, que podem ser polinizadas por diferentes grupos de insetos. A corola aberta, do tipo prato, permite o fácil acesso ao néctar por vários grupos de insetos, como as abelhas, moscas e vespas, que podem ser os possíveis polinizadores (PINHEIRO et al., 2014), além da coloração pálida das pétalas, oferta de pólen e néctar que favorece a atração de uma diversidade de insetos (ENDRESS, 1994; FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979).

Estudos anteriores mencionam a presença de diferentes morfotipos florais em *M. ilicifolia*, sugerindo que as flores seriam funcionalmente femininas ou funcionalmente masculinas, o que revela uma tendência para a dioiccia (CARVALHO-OKANO, 1992; CARVALHO-OKANO; LEITÃO FILHO, 2004; MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003). Na maioria das espécies dioicas as flores são morfologicamente monóclinas, no entanto apenas o gineceu ou o androceu é funcional (BAWA; OPLER, 1975; FRANCESCHINELLI et al., 2015; ROCCA; SAZIMA, 2006). Em *M. ilicifolia* todos os morfotipos florais apresentam gineceu e androceu, no entanto, há uma redução no tamanho do androceu em flores funcionalmente femininas e do gineceu em flores funcionalmente masculinas e, em algumas flores, estes órgãos ainda são funcionais, produzindo menor quantidade de pólen ou óvulos, viáveis ou não.



Figura 3. Morfotipos florais de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). A. Flores funcionalmente masculinas. B. Flores funcionalmente femininas. C. Flores hermafroditas. Fotos A e B: Paulo Lanzetta. Foto C: Tângela Denise Perleberg.

As flores funcionalmente masculinas têm estames desenvolvidos, três vezes maiores do que o estilete (Tabela 2), verticalizados e com anteras amarelas que produzem muito pólen (Figura 3A). Na maioria das flores deste morfotipo floral (80%) a deiscência das anteras ocorre no primeiro dia da antese floral, das 6 horas às 14

horas. Nas demais flores a deiscência ocorre entre 14 horas de um dia e 10 horas do dia seguinte a antese floral. O pólen é liberado até o sexto dia após a deiscência das anteras. O ovário fica imerso no disco nectarífero e contém em média três óvulos, sendo que 37,5% das flores tinham quatro óvulos, 37,5% dois óvulos e 25% três óvulos. Na maioria das flores a receptividade do estigma ocorreu a partir do sexto dia de antese floral, nas demais, a partir do terceiro dia. A produção de néctar foi observada da antese até a senescência da flor, mesmo quando não havia mais pólen nas anteras. Sem contato com os polinizadores as flores funcionalmente masculinas tiveram duração de até nove dias. As flores funcionalmente masculinas, em média, apresentam tamanho maior do que as flores funcionalmente femininas. No entanto estas últimas são variáveis no tamanho, podendo ser do mesmo tamanho ou até maiores do que as primeiras (Tabela 2), não sendo o tamanho um critério confiável para diferenciar os morfotipos florais.

Nas flores funcionalmente masculinas a receptividade do estigma não é indício de que o processo de fecundação irá ocorrer caso haja depósito de pólen sobre o mesmo. Um exemplo é o que ocorre em tucaneira (*Citharexylum myrianthum* Cham., Verbenaceae), espécie dioica nativa do Cerrado Brasileiro, onde o estigma das flores masculinas é receptivo já na pré-antese, permitindo a germinação do pólen e a formação do tubo polínico, porém, não ocorre a fecundação (ROCCA; SAZIMA, 2006).

Nas flores funcionalmente femininas os estames são mais curtos do que os das flores funcionalmente masculinas (Tabela 2), horizontalizados ou verticalizados, e neste caso adquirem posição horizontalizada logo após a antese, ficando adpressos às pétalas. As anteras são brancas ou amarelo-claras, com nenhum ou poucos grãos de pólen, adquirindo aparência pardacenta após deiscência, e o estigma se torna amarronzado quando a flor foi polinizada (Figuras 3B, 4A e 4B). O processo de deiscência das anteras ocorre no primeiro dia da antese floral e a liberação do pólen, quando este está presente, ocorre até o segundo ou terceiro dia após a deiscência das anteras. O ovário é evidente ou parcialmente imerso no disco nectarífero, e contém quatro óvulos em todas as flores. O teste com peróxido de hidrogênio mostrou que a maioria das flores (80%) tem estigma receptivo já na antese, enquanto nas demais o estigma é receptivo a partir do segundo dia de antese, permanecendo receptivo até a senescência da flor. A produção de néctar ocorre a partir do primeiro dia da antese, aumentando até o sexto dia, quando

começa a cessar. Sem contato com os polinizadores as flores funcionalmente femininas podem durar até nove dias.

As flores hermafroditas, que ocorreram em número muito reduzido em duas plantas do Banco Ativo de Germoplasma, apresentaram características intermediárias aos dois morfotipos florais descritos anteriormente. Os estames destas flores são verticalizados e do mesmo tamanho do estilete, as anteras são amareladas e produzem pólen, o ovário é saliente ou parcialmente imerso no disco nectarífero (Figura 3C).

Nas flores funcionalmente femininas a redução do tamanho dos estames e a ausência ou diminuição do número de grãos de pólen nas anteras pode indicar a regressão do órgão reprodutor masculino neste morfotipo floral. Assim como, nas flores funcionalmente masculinas, a redução do tamanho do estilete e a diminuição do número de óvulos pode indicar a regressão do órgão reprodutor feminino neste morfotipo floral. Neste sentido, pode estar ocorrendo um processo de evolução a caminho da unissexualidade das flores e o estabelecimento da dioícia a partir do hermafroditismo (CHARLESWORTH, 2002).

A manutenção de órgãos rudimentares do sexo oposto em flores funcionalmente masculinas e femininas pode representar uma fase intermediária na evolução do hermafroditismo para a dioícia, e também que a separação dos sexos é um fenômeno relativamente recente (BAWA; OPLER, 1975; ROTTENBERG, 1998). O registro de duas plantas no Banco Ativo de Germoplasma com flores hermafroditas reforça essa hipótese. A ocorrência de flores hermafroditas, com estames e pistilo funcionais, que produzem frutos, é registrada para diversas espécies dioicas (BAWA; OPLER, 1975; CESÁRIO; GAGLIANONE, 2008; FERNANDES et al., 2012; LENZA; OLIVEIRA, 2005) e também para *M. ilicifolia* (CARVALHO-OKANO, 1992; CARVALHO-OKANO; LEITÃO-FILHO, 2004).

Tabela 2. Morfometria floral de flores funcionalmente femininas e flores funcionalmente masculinas de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.

Característica (mm)	Flores	
	Funcionalmente femininas	Funcionalmente masculinas
Diâmetro da flor	5,70 ^a ± 1,06 ^b (3,57 - 7,58) ^c	6,08 ± 0,74 (4,87 - 7,35)
Largura pétalas	1,91 ± 0,36 (1,17 - 2,55)	2,01 ± 0,20 (1,61 - 2,37)
Comprimento pétalas	2,55 ± 0,35 (1,86 - 3,18)	2,74 ± 0,32 (2,21 - 3,22)
Diâmetro cálice	2,70 ± 0,43 (1,95 - 3,52)	3,02 ± 0,26 (2,64 - 3,44)
Comprimento dos estames	1,20 ± 0,10 (1,00 - 1,40)	1,92 ± 0,20 (1,54 - 2,19)
Comprimento da antera	0,70 ± 0,10 (0,60 - 0,90)	0,87 ± 0,08 (0,76 - 1,03)
Diâmetro disco nectarífero	1,91 ± 0,27 (1,36 - 2,26)	1,99 ± 0,12 (1,82 - 2,18)
Comprimento do estilete	1,30 ± 0,20 (1,00 - 1,70)	0,61 ± 0,10 (0,45 - 0,84)

^aMédia, ^bdesvio padrão, ^camplitude.



Figura 4. Aspectos da biologia floral de flores funcionalmente femininas de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). A: 1. Botão floral. 2. Botão floral iniciando abertura das pétalas. 3. Flor com as pétalas quase estendidas, estames verticalizados, quatro anteras indeiscentes. 4. Pétalas completamente estendidas, todas as anteras deiscidas de coloração pardacenta, estames horizontalizados, adpressos às pétalas. 5. Ovário bem evidente. B. Setas indicando flores com estigmas amarronzados, já polinizadas. Fotos: Tângela Denise Perleberg.

A antese floral da maioria das flores funcionalmente masculinas e funcionalmente femininas (80%) inicia às 18 horas e se completa até as 6 horas, quando as pétalas se distendem completamente. No entanto as demais flores destes dois morfotipos florais iniciam a abertura das pétalas às 6 horas e completam a antese ao longo do dia.

A maioria das flores funcionalmente femininas e masculinas (80%) são sincrônicas já na antese, quando o estigma das flores funcionalmente femininas está receptivo e ocorre liberação de pólen pelas flores funcionalmente masculinas. No entanto, em algumas flores foi observado que o sincronismo entre a receptividade do estigma nas flores funcionalmente femininas e a liberação de pólen nas flores funcionalmente masculinas só ocorreu a partir do segundo dia de antese, quando todas as anteras estavam deiscentes e o estigma já estava receptivo. A variação no período de antese e na maturação dos órgãos sexuais das flores funcionalmente masculinas e femininas pode representar uma etapa intermediária na transição do hermafroditismo para a dioícia.

O amadurecimento de algumas flores funcionalmente masculinas antes das flores funcionalmente femininas, e vice-versa, pode ser um resquício da dicogamia (maturação do androceu e gineceu em períodos diferentes) que as flores hermafroditas ancestrais de *M. ilicifolia* apresentavam, provavelmente para diminuir a autofecundação. No entanto, atualmente, os morfotipos florais desta espécie tenderiam à sincronia no amadurecimento dos órgãos reprodutivos, não ocorrendo à dicogamia, uma vez que na grande maioria das flores o amadurecimento dos órgãos sexuais ocorre concomitantemente a partir da antese floral, promovendo o fluxo gênico entre os morfotipos florais. A dioícia, na maioria das vezes, evoluiu de espécies autocompatíveis em resposta à pressão seletiva para promover cruzamento (BAWA, OPLER, 1975).

A análise das anteras das flores funcionalmente femininas mostrou que 37% não continham pólen e as demais tinham em média quatro grãos por antera. As flores funcionalmente masculinas apresentaram grande quantidade de pólen em todas as anteras, no entanto, o número não foi contabilizado. A análise polínica, com uso de carmim acético, mostrou que 73% dos grãos de pólen de ambos os morfotipos florais são viáveis. Os resultados encontrados neste trabalho não estão de acordo com o registro feito para *M. ilicifolia* por Steenbock (2003), que constatou que os grãos de pólen oriundos de anteras de flores funcionalmente femininas são

inviáveis. Em canjerana (*Cabralea canjerana* (Vell.) Mart., Meliaceae), espécie arbórea dioica nativa do Rio Grande do Sul, as anteras das flores femininas apresentaram em média 10 grãos de pólen, no entanto 92% destas foi inviável, contrastando com 90% de viabilidade dos grãos de pólen das anteras das flores masculinas.

De acordo com o morfotipo floral foi possível identificar plantas funcionalmente femininas (plantas que apresentaram somente flores funcionalmente femininas e/ou um pequeno número de flores funcionalmente masculinas) e plantas funcionalmente masculinas (plantas que apresentaram somente flores funcionalmente masculinas e/ou um pequeno número de flores funcionalmente femininas ou ainda flores hermafroditas). As flores hermafroditas ocorreram em pequeno número em duas plantas do BAG consideradas funcionalmente masculinas.

Nas plantas funcionalmente masculinas foi observada uma média de 18,6 inflorescências por ramo, com 11,7 flores por inflorescência. E, nas plantas funcionalmente femininas, uma média de 15,1 inflorescências por ramo e de 10 flores por inflorescência. O acompanhamento do desenvolvimento floral mostrou que 89,6% e 87,1% dos botões funcionalmente masculinos e femininos, respectivamente, originam flores, com uma a duas flores abrindo por dia em cada inflorescência, independente do morfotipo floral. Como o período de floração médio foi de 45 dias em cada indivíduo, *M. ilicifolia* manteve um grande número de flores disponíveis aos polinizadores ao mesmo tempo e por um longo período. Esta diferença no número de flores funcionalmente masculinas e funcionalmente femininas pode ser considerada um dimorfismo sexual que ocorre em plantas dioicas e que influencia o sucesso reprodutivo masculino e feminino (BARRETT; HOUGH, 2013; FRANCESCHINELLI et al., 2015).

A produção de um maior número de flores funcionalmente masculinas por inflorescência ou por indivíduo é uma característica de espécies dioicas, que aumenta o “display” sexual de indivíduos masculinos (BAWA, 1980), auxiliando os polinizadores na tarefa inicial de encontrar as flores de *M. ilicifolia*, uma vez que as mesmas são inconspícuas, não apresentam coloração chamativa e odor perceptível, promovendo, desta forma, maior dispersão de pólen. No entanto, num segundo momento, a semelhança entre as flores dos dois morfotipos florais no formato, tamanho e coloração (Figuras 3A e 3B), pode ter a função de facilitar o

reconhecimento pelos agentes polinizadores, permitindo que ocorra o fluxo de pólen entre as plantas (BAWA, 1980; FREEMAN et al, 1997).

Na EEC, das 100 plantas avaliadas, 51% são funcionalmente femininas e 49% são funcionalmente masculinas. Em sete plantas funcionalmente femininas (13,7%) foram identificados alguns ramos com flores funcionalmente masculinas em pequena quantidade. O mesmo ocorreu em 12 plantas funcionalmente masculinas (24,5%), nas quais foram encontrados ramos com flores funcionalmente femininas que deram origem a frutos.

No CaVG, das 180 plantas avaliadas, 125 (69,4%) são funcionalmente femininas e 55 (30,6%) são funcionalmente masculinas. Em duas plantas foram observadas flores hermafroditas em pequeno número, no entanto estas plantas foram consideradas funcionalmente masculinas. Todas as plantas funcionalmente femininas produziram muitos frutos e em oito (6,5%) foram verificados alguns ramos com flores do sexo oposto. A maioria das plantas funcionalmente masculinas (63,6%) produziu alguns frutos, provenientes de flores funcionalmente femininas presentes em pequeno número.

Em duas populações naturais de *M. ilicifolia*, no Paraná, também foi registrada a ocorrência de frutos em indivíduos com flores funcionalmente masculinas, no entanto não foi constatada a presença de flores do sexo oposto nestas plantas. Na população encontrada no município de Guarapuava, a porcentagem de plantas funcionalmente masculinas que produziram frutos, 60% (STEENBOCK, 2003), foi semelhante ao observado no CaVG, enquanto que na população encontrada nos municípios de Fernandes Pinheiro e Teixeira Soares este percentual foi menos expressivo, 14,3% (MAZZA et al., 2011), assim como ocorreu na EEC. Neste último estudo os autores sugeriram que os frutos teriam se originado de flores que ocorrem em baixa frequência e que têm características intermediárias (provavelmente hermafroditas) e, que as sementes destes frutos não seriam viáveis.

A frequência de plantas de *M. ilicifolia* com os dois morfotipos florais ou com apenas um morfotipo floral foi associada a condições ambientais de solo e luminosidade. Em ambientes com intensa luminosidade ou com restrições hídricas e edáficas foram encontradas plantas com apenas um morfotipo floral (MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003). Por sua vez, em ambientes sombreados e com solo fértil foram observadas plantas com flores funcionalmente femininas e plantas com os dois morfotipos florais, não ocorrendo plantas com flores funcionalmente masculinas

(STEENBOCK, 2003). As plantas do Banco Ativo de Germoplasma são adubadas periodicamente, portanto o solo é fértil, e recebem intensa luminosidade. No entanto, apresentaram plantas com flores funcionalmente femininas ou plantas com flores funcionalmente masculinas, e plantas com os dois morfotipos florais. O controle genético da expressão sexual na maioria das espécies dioicas não é forte o suficiente para sobrepor inteiramente o efeito ambiental (BAWA, 1980). A produção de flores funcionalmente femininas e funcionalmente masculinas pode ser induzida por determinadas condições do ambiente (FREEMAN et al., 1997), como a temperatura, o fotoperíodo, a nutrição e a disponibilidade de água que podem determinar a expressão do sexo nas angiospermas (KORPELAINEN, 1998; SEVERINO et al., 2006).

A partir destas avaliações é possível dizer que a biologia reprodutiva de *M. ilicifolia* não é completa, pois a separação dos sexos nas flores e nas plantas é incompleta, visto que algumas características presentes podem ser associadas a uma ancestralidade hermafrodita enquanto, outras características, tendem para a dioicia. Segundo Bawa (1980) os modelos teóricos que traçam a evolução da dioicia a partir do hermafroditismo predizem a inconsistência na expressão sexual em um ou ambos os sexos durante o estabelecimento da dioicia. A variação na biologia floral de *M. ilicifolia* demonstra o estágio intermediário entre o hermafroditismo e a dioicia. No que diz respeito a dioicia, esta provavelmente tenha evoluído várias vezes dentro das Angiospermas, e os fatores que influenciaram na evolução deste sistema reprodutivo estão relacionados a redução da endogamia, atribuição de recursos para as funções feminina e masculina, seleção sexual disruptiva, dispersão de sementes, polinização e predação (BAWA, 1980).

2.3.2 Sistema reprodutivo

Não houve formação de frutos por autofecundação espontânea e manual, e por apomixia. Apenas flores funcionalmente femininas (polinização cruzada e geitonogamia) e flores hermafroditas (polinização cruzada) formaram frutos (Tabela 3), indicando, como sugerido por Carvalho-Okano (1992), que os óvulos das flores funcionalmente masculinas são inviáveis ou que o processo de fecundação não se completa. Flores funcionalmente masculinas de duas espécies dioicas, *Citharexylum myrianthum* e *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart., Meliaceae, também não produziram

frutos, embora as duas tenham óvulos bem desenvolvidos (FRANCESCHINELLI et al., 2015; ROCCA; SAZIMA, 2006).

A formação de frutos no tratamento com uso do pólen proveniente das flores funcionalmente femininas (Tabela 3) comprova a viabilidade do pólen deste morfotipo floral indicada pelo teste com carmim acético. A baixa taxa de frutificação pode ser explicada pela pequena quantidade de pólen presente nestas anteras, o que pode ter interferido no processo de polinização manual.

A partir dessas observações é possível constatar que está ocorrendo uma regressão do aparelho sexual feminino e masculino a caminho da unissexualidade das flores, como sugerido por Carvalho-Okano (1992). A constatação da redução do número de óvulos, de quatro para dois ou três, em mais de 60% das flores funcionalmente masculinas e a ausência ou redução do número de grãos de pólen nas anteras das flores funcionalmente femininas corrobora esta hipótese.

É importante ressaltar que as flores funcionalmente femininas, presentes em pequeno número em plantas funcionalmente masculinas, originaram frutos quando receberam pólen das flores funcionalmente masculinas da mesma planta. A possibilidade de ocorrer geitonogamia em *M. ilicifolia* já havia sido levantada anteriormente pela observação da formação de frutos em plantas de uma população natural que não possuía indivíduos com flores funcionalmente masculinas (STEENBOCK, 2003).

A taxa de frutificação na polinização natural foi semelhante à da polinização entre acessos, enquanto que na polinização entre acessos de meios-irmãos foi menor (Tabela 3). Isto pode estar relacionado ao mecanismo reprodutivo das plantas para aumentar a variabilidade genética, onde ocorre apenas a seleção dos grãos de pólen compatíveis e as flores que foram autofecundadas ou que receberam pólen de parentes próximos caem, não desenvolvendo frutos (BARROS et al., 2013).

A porcentagem de frutificação por polinização natural em *M. ilicifolia* foi superior ao observado em outras espécies dioicas (CESÁRIO; GAGLIANONE, 2008; FUZETO et al., 2001; LENZA; OLIVEIRA, 2005), o que comprova a eficiência da polinização na região de estudo. A eficiência da polinização também foi comprovada na contagem do número de frutos maduros por infrutescência, mostrando que 44% das flores funcionalmente femininas desenvolveram frutos, porcentagem semelhante ao observado nos tratamentos realizados por polinização cruzada manual e natural.

O teste de emergência realizado com sementes provenientes de frutos originados dos tratamentos indicou viabilidade superior a 60% (Tabela 3). As sementes produzidas por flores funcionalmente femininas presentes em plantas funcionalmente masculinas são viáveis. Além disso, o teste de viabilidade de sementes coletadas aleatoriamente em plantas do Banco de Germoplasma mostrou que as sementes oriundas de flores funcionalmente femininas e flores hermafroditas são viáveis. Sementes provenientes de flores funcionalmente femininas presentes em plantas funcionalmente masculinas tiveram 55% de viabilidade, enquanto que as sementes de flores funcionalmente femininas das plantas funcionalmente femininas apresentaram 88,6% de viabilidade, e as sementes oriundas de flores hermafroditas, 90% de viabilidade. Embora a média da viabilidade de sementes de *M. ilicifolia* fique em torno de 90% (KOWALSKI et al., 2008; SCALON et al., 2005), o percentual de viabilidade das sementes oriundas de flores funcionalmente femininas presentes em plantas funcionalmente masculinas, ainda que baixo, indica que estas flores podem garantir a reprodução da espécie caso não estejam presentes plantas funcionalmente femininas na população.

Os resultados obtidos evidenciaram que *M. ilicifolia* necessita de um agente polinizador para se reproduzir, apresentando sistema de cruzamento alógamo. SCHEFFER (2001) e STEENBOCK (2003) chegaram a conclusões semelhantes com base em análises de marcadores isoenzimáticos.

Tabela 3. Testes do sistema reprodutivo de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.

Testes	Flores funcionalmente femininas			Flores funcionalmente masculinas	Flores hermafroditas	
	Flores (n)/ Frutos (n)	Frutificação (%)	Sementes (n)/ Emergência (%)	Flores (n)/ Frutos (n)	Flores (n)/ Frutos (n)	Frutificação (%)
Autopolinização espontânea	110/0	0	0	110/0	NR	-
Autopolinização manual	110/0	0	0	110/0	NR	-
Apomixia	110/0	0	0	110/0	NR	-
Geitonogamia (PFFM)	14/3	21,4	NR ^c	14/0	NR	-
Pol. entre acessos diferentes (PFFF) ^a	140/3	2,1	5/80,0	140/0	NR	-
Pol. entre acessos diferentes (PFFM) ^b	140/60	42,9	109/75,2	140/0	14/8	57,0
Pol. entre acessos de meio-irmãos (PFFM)	120/36	30,0	54/64,8	NR	NR	-
Polinização natural	130/64	49,2	114/89,5	130/0	NR	-

Pol. = polinização. ^aPFFF = pólen de flores funcionalmente femininas. ^bPFFM = pólen de flores funcionalmente masculinas. ^cNR = não realizado.

2.3.3 Fenologia reprodutiva

O período reprodutivo de *M. ilicifolia* iniciou em junho com a emissão dos botões florais e se estendeu até fevereiro, com a produção de frutos maduros (Figura 5). O comportamento reprodutivo de *M. ilicifolia* é sazonal, anual e regular, confirmando o que já havia sido descrito anteriormente (MAZZA et al., 2011).

A maior intensidade de botões florais ocorreu em agosto, nos dois anos de avaliação e nas duas áreas (Figura 6A). A maior atividade foi observada de julho a setembro, para as duas áreas no primeiro ano, e em agosto na ECC, e em julho e agosto no CaVG, no segundo ano (Figura 6A). A antese floral iniciou em julho e a maior intensidade ocorreu em agosto para ambas as áreas e anos, diminuindo consideravelmente nos meses subsequentes. O máximo de atividade foi registrado em setembro no primeiro ano e em agosto no segundo ano, para ambas as áreas. Em fevereiro e março do primeiro ano de avaliação houve um segundo pico de floração, mas a intensidade do evento não foi expressiva e apenas no CaVG culminou na formação de alguns frutos maduros (Figura 6B). Na ECC, das 100 plantas avaliadas, apenas uma não floresceu no primeiro ano e três plantas não floresceram no segundo ano, enquanto que no CaVG das 180 plantas avaliadas, quatro não floresceram no primeiro ano de avaliação.

O padrão de floração observado em *M. ilicifolia* é classificado por Gentry (1974) como cornucópia, onde há a produção contínua de flores ao longo de várias semanas, promovendo, dessa forma, a eficiência da polinização. Esta estratégia de floração em cornucópia permite a polinização por diversos grupos de organismos com diferentes tipos de forrageamento pela disponibilização de flores por um longo período (OTÁROLA; ROCCA, 2014), evidenciando a entomofilia de *M. ilicifolia*. Em uma escala populacional, um tempo maior de floração diminui as chances de exposição a períodos de baixa atividade de polinizadores, de dispersores ou de sobrevivência de sementes, uma vez que essas fenofases estão interligadas, aumentando, segundo Kudo (2006) o movimento de polinizadores e de dispersores entre populações.

Na ECC frutos imaturos foram observados de setembro a dezembro nos dois anos (Figura 6C). No CaVG, no primeiro ano de avaliação, houve registro de frutos imaturos de setembro até o início da próxima floração, no ano seguinte, em agosto. No entanto, a intensidade desta fenofase foi pouco expressiva a partir de fevereiro e

culminou em poucos frutos maduros. A maturação dos frutos ocorreu de novembro a janeiro no primeiro ano, e de outubro a dezembro no segundo ano Figura 6D). O máximo de atividade e a maior intensidade de frutos maduros ocorreu em dezembro no primeiro ano, e, no segundo ano, em novembro para a EEC e dezembro para o CaVG.

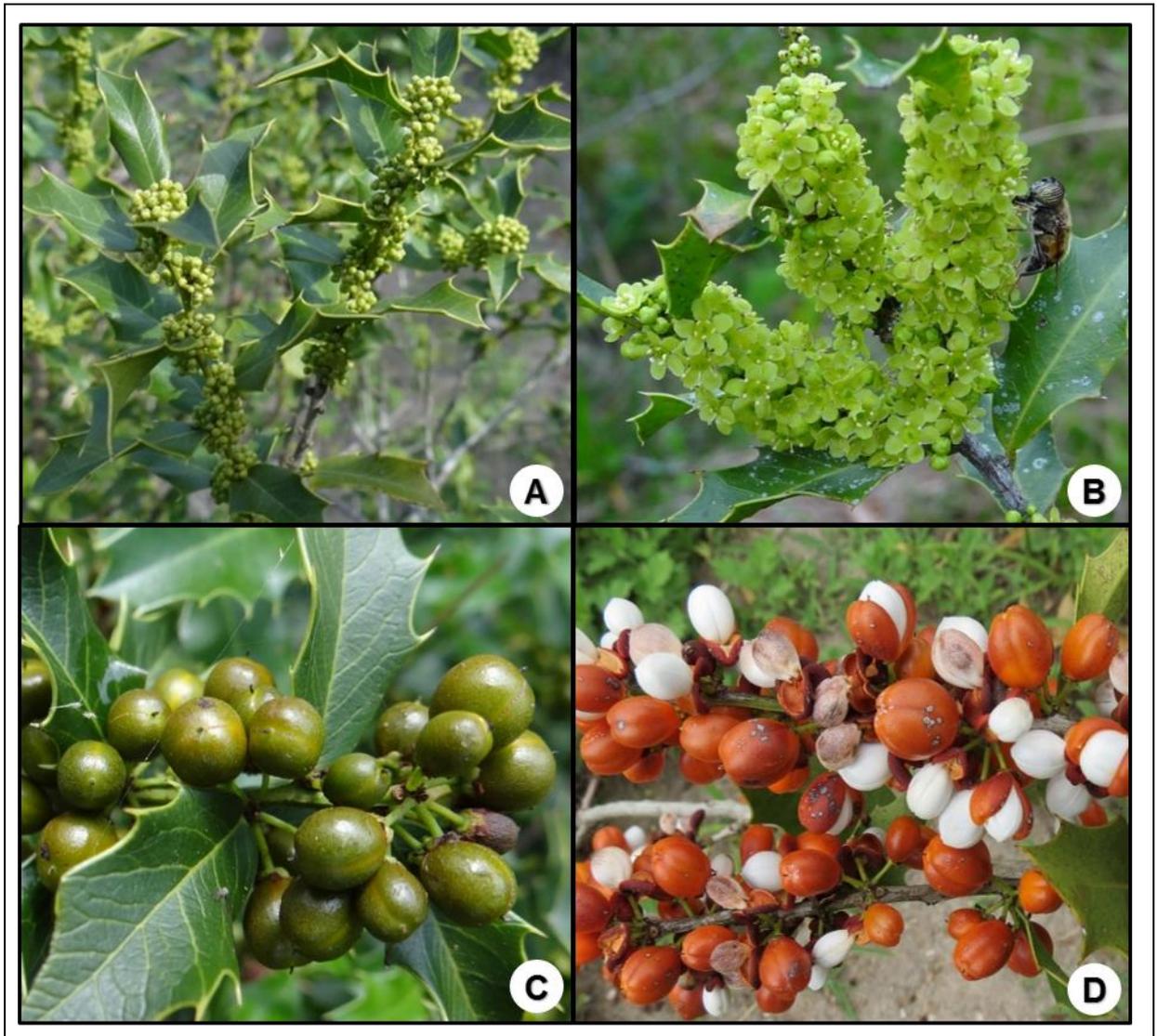


Figura 5. Fenofases reprodutivas de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense. A. Botões florais. B. Flores em antese. C. Frutos imaturos. D. Frutos maduros. Fotos: Tângela Denise Perleberg.

O índice de correlação de Spearman mostrou que houve correlação entre as fenofases de botão floral e antese floral com a temperatura e o comprimento do dia (Tabela 4). Isto indica que estes fatores ambientais são importantes para o início do período reprodutivo de *M. ilicifolia*. Estudos realizados em regiões subtropicais

registraram maior correlação dos eventos fenológicos com a temperatura e o comprimento do dia do que com a precipitação, devido à maior amplitude anual destas variáveis nestes locais (LIEBSCH; MIKICH, 2009; MARCHIORETTO et al., 2006; MARQUES et al., 2004). No entanto, além da temperatura e do comprimento do dia, Mazza et al. (2011) constataram que a precipitação é um fator abiótico importante para a antese de *M. ilicifolia*, o que não foi observado no presente estudo.

A correlação negativa entre botão floral e temperatura (Tabela 4) indica que quanto menor a temperatura maior a produção de botões florais, confirmado pela maior intensidade desta fenofase em julho mês com temperaturas baixas. Quanto a fenofase de antese floral o máximo de atividade e intensidade ocorreu nos meses de agosto e setembro, quando as temperaturas médias começam a se elevar. No primeiro ano de avaliação, o mês de agosto apresentou temperatura média muito abaixo das médias históricas e, assim, o pico de floração ocorreu em setembro, enquanto que no segundo ano a temperatura média de agosto ficou dentro da normalidade, sendo este o mês do pico de floração. Estes resultados estão de acordo com o descrito para *M. ilicifolia* no Paraná, onde o florescimento ocorreu na transição entre um período mais frio e um período mais quente (MAZZA et al., 2011). O incremento da temperatura também propicia a atuação de polinizadores, promovendo a fecundação das flores e consequente formação de frutos.

A relação do período reprodutivo de *M. ilicifolia* com o comprimento do dia fica ainda mais evidente na antecipação da floração em latitudes maiores. Nas duas áreas avaliadas (EEC = 31°61' S; CaVG = 31°42' S) ocorreu a antecipação em um mês para o início das fenofases reprodutivas, quando comparado a populações naturais de *M. ilicifolia* em Floresta Ombrófila Mista (27°47' S), no município de Erechim, Rio Grande do Sul (MALYSZ; ZANIN, 2011) e na Floresta Nacional de Irati (25°21' S), nos municípios de Fernandes Pinheiro e Teixeira Soares, Paraná (MAZZA et al, 2011), que possuem latitudes menores. Segundo Scheffer (2001) *M. ilicifolia* entra em fase reprodutiva em épocas diferentes, de acordo com a região. Mariot (2005) observou que a espinheira-santa apresentou frutos em maturação entre novembro e dezembro no sul do Rio Grande do Sul, e em janeiro no nordeste do mesmo estado.

Quanto à frutificação, houve correlação entre frutos imaturos e todas as variáveis climáticas analisadas (Tabela 4). Enquanto que, para frutos maduros

ocorreu correlação entre temperatura e comprimento do dia (Tabela 4). Mazza et al. (2011) registraram correlação entre a precipitação e frutos imaturos, considerando esta variável climática importante para o início da frutificação. No que diz respeito aos frutos maduros os mesmos autores não evidenciaram correlação significativa para nenhuma variável climática analisada.

A produção de frutos maduros na EEC foi menor quando comparada ao CaVG (Figura 6D). Entre os fatores que podem ter contribuído para esta diferença, estão a menor atuação de polinizadores na EEC devido à competição e maior oferta de recursos florais, uma vez que na Floresta Estacional Semidecidual, existente na região, ocorrem várias espécies que florescem concomitantemente a *M. ilicifolia*. No CaVG, localizado na área urbana de Pelotas, não há tal diversidade de espécies vegetais em floração no mesmo período, o que pode aumentar a frequência de visitas dos polinizadores as plantas desta espécie.

Tabela 4. Correlação de Spearman (r_s) entre as fenofases reprodutivas e variáveis climáticas para *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.

Variáveis climáticas	Fenofases reprodutivas			
	Botão floral	Antese floral	Fruto imaturo	Fruto maduro
Temperatura mínima (média)	-0,78	0,76	ns	ns
Temperatura média	-0,65	0,76	0,64	0,81
Temperatura máxima (média)	ns	0,78	0,73	0,56
Comprimento do dia (h)	0,79	0,79	-0,72	-0,75
Precipitação	ns	ns	-0,72	ns

P < 0,05; ns = não significativo

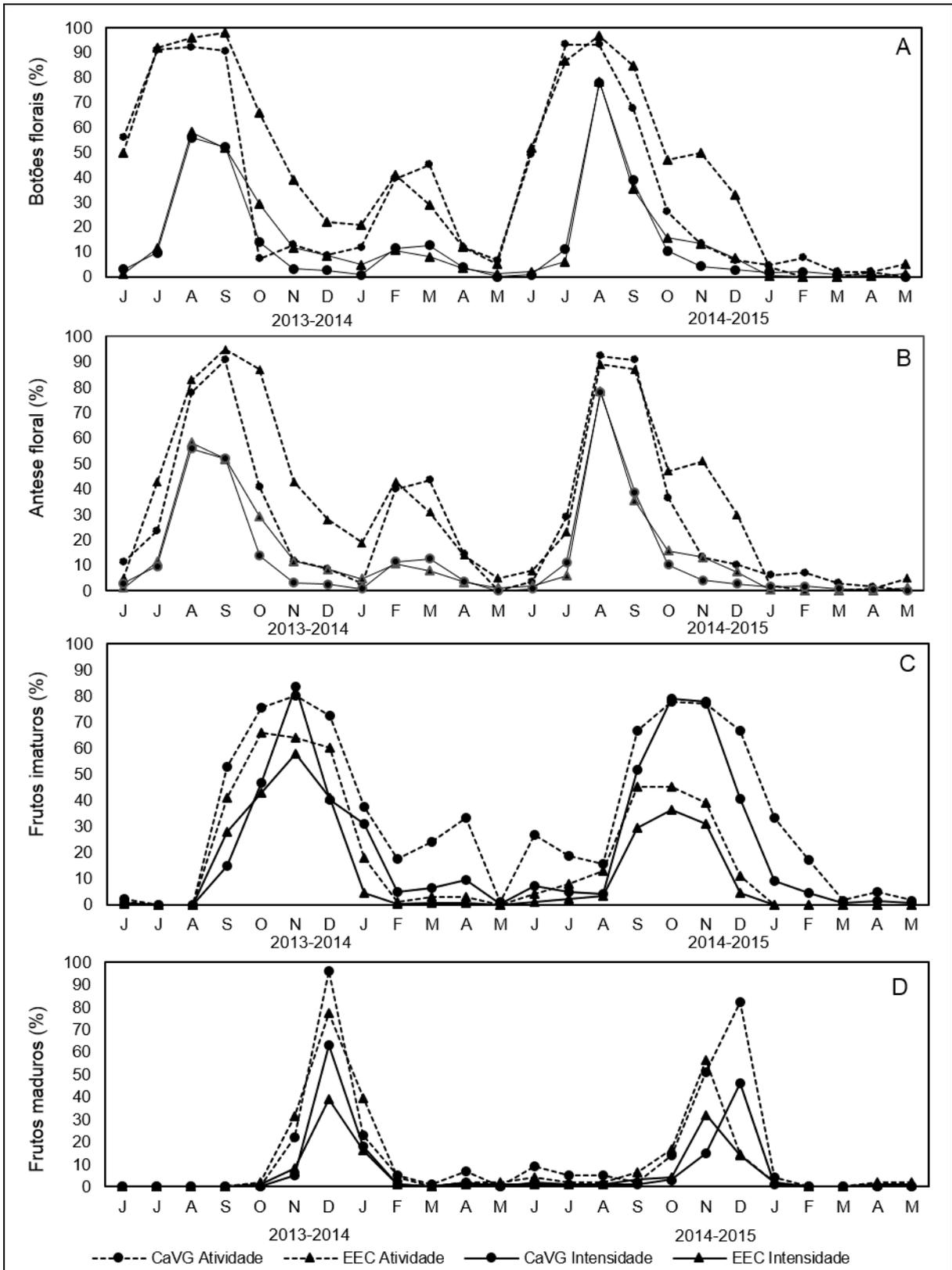


Figura 6. Fenologia reprodutiva de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense, no período de junho de 2013 a maio de 2015. A. Fenofase de botão floral. B. Fenofase de antese floral. C. Fenofase de fruto imaturo. D. Fenofase de fruto maduro. Linha contínua = Índice de Intensidade de Fournier. Linha tracejada = Índice de Atividade.

Houve um sincronismo nas fenofases reprodutivas das plantas funcionalmente femininas e das plantas funcionalmente masculinas (Figura 7), o que também foi relatado por Mazza et al. (2011). Nas plantas dioicas, a sincronia dos eventos fenológicos é particularmente importante para garantir o sucesso reprodutivo, uma vez que não existe a possibilidade de autopolinização e há necessidade da movimentação dos grãos de pólen entre os indivíduos (OTÁROLA; ROCCA, 2014). Em *M. ilicifolia* a sincronia nas fenofases reprodutivas aumentou o sucesso reprodutivo, uma vez que ampliou o número de visitantes florais e, conseqüentemente, o número de dispersores, pela ocorrência, ao mesmo tempo, de um maior número de flores em antese e frutos maduros. A sincronia das fases fenológicas de floração e frutificação apresenta grandes implicações sobre a disponibilidade dos recursos para os polinizadores, dispersores e predadores, pois a permanência e manutenção desses organismos na comunidade se faz dependente da disponibilidade dos recursos oferecidos pelas plantas (MEIRELES et al., 2015).

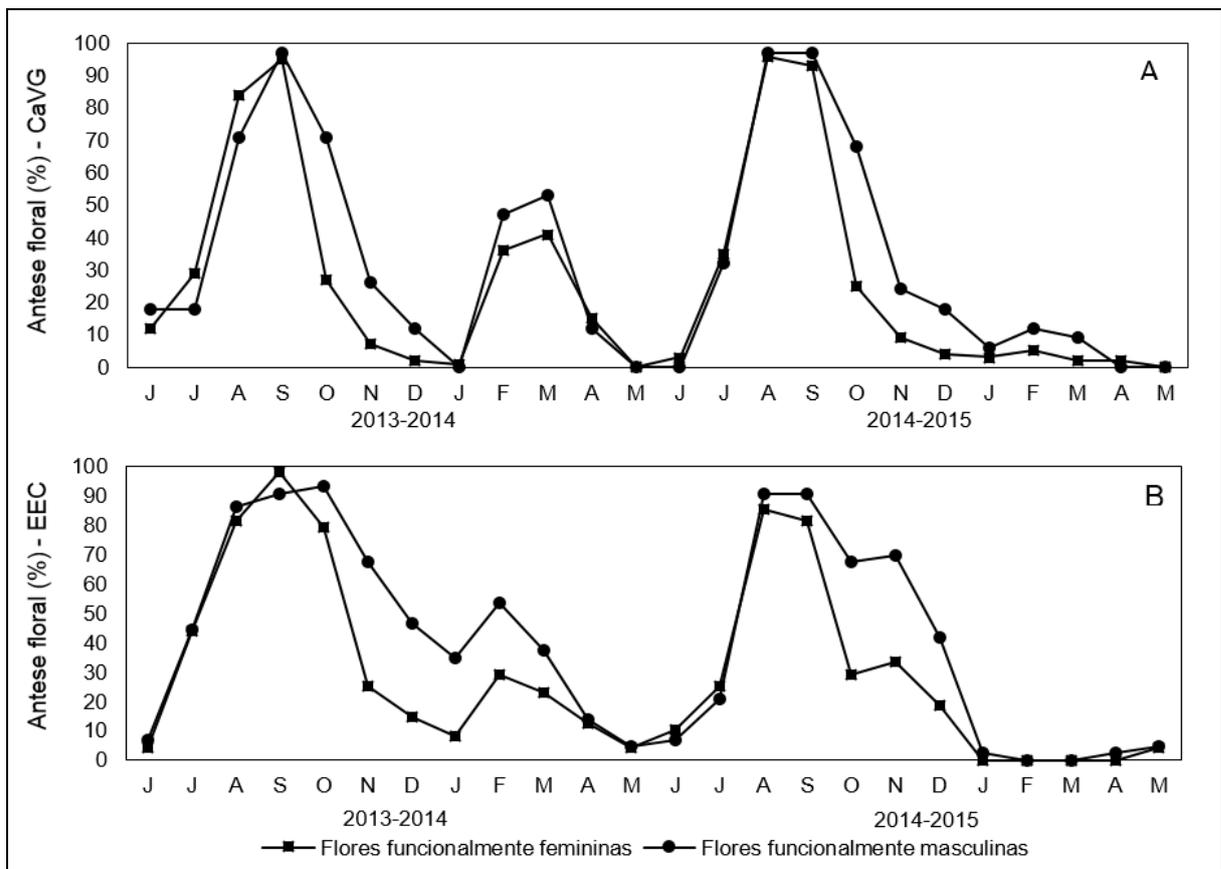


Figura 7. Índice de atividade da antese floral em plantas com flores funcionalmente femininas e plantas com flores funcionalmente masculinas de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense. A. Câmpus - Pelotas Visconde da Graça. B. Estação Experimental Cascata.

2.4 Conclusões

Maytenus ilicifolia apresenta biologia floral compatível com polinização entomófila e generalista. A separação sexual nas flores e nas plantas de *M. ilicifolia* não está completa, pois a biologia floral revela características relacionadas ao hermafroditismo e a dioiccia. As fenofases reprodutivas estão correlacionadas com a temperatura e o comprimento do dia, sendo que a floração está fortemente ligada à latitude. O sistema reprodutivo é alógamo.

3. CAPÍTULO II

Polinizadores e dispersores de sementes em espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae)

3.1 Introdução

A espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek), da família Celastraceae, é uma planta de porte subarbustivo a arbóreo, que pode atingir no máximo doze metros de altura, mas geralmente é mais baixa (CARVALHO, 2006). É nativa do Brasil, ocorrendo predominantemente nos estados da Região Sul, e nos países vizinhos do Paraguai, Uruguai e Argentina (CARVALHO-OKANO, 1992). Populações desta espécie crescem frequentemente em sub-bosques de matas ciliares e agrupamentos arbóreos em áreas de campo nativo, principalmente sobre neossolos e afloramentos rochosos (MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003).

A atribuição do nome popular de espinheira-santa a essa espécie deve-se à presença de folhas com margem espinescente e também ao seu amplo uso na medicina popular (CARVALHO-OKANO; LEITÃO-FILHO, 2004; DUTRA et al., 2016), com diversas indicações terapêuticas (ALMEIDA et al., 2015; BATTISTI et al., 2013; COPPEDE et al., 2014; LEME et al., 2013; SIEGEL et al., 2016). Apresenta ação comprovada no tratamento de úlceras gástricas e gastrites (BAGGIO et al., 2007; CARLINI, 1988; JORGE et al., 2004; STOLZ, et al., 2014) e, por isto, faz parte da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS) desde 2009 (BRASIL, 2014), da RDC nº 10 de 2010 (BRASIL, 2010), do

Memento Fitoterápico de 2016 (BRASIL, 2016b) e da lista dos 12 fitoterápicos fornecidos pelo Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2012).

Os ramos jovens de *M. ilicifolia* são angulosos tetra ou multicarenados, característica que distingue a espécie das demais do gênero. As folhas são coriáceas, glabras, com margem inteira ou contendo de um a vários espinhos, distribuídos regular ou irregularmente. As flores estão reunidas em fascículos multifloros, são inconspícuas, actinomorfas e de coloração branco-esverdeada (CARVALHO-OKANO, 1992; MAZZA et al., 2011). Embora sejam morfologicamente monóclinas, apresentam comportamento funcional de flores díclinas, com tendência a dioícia. As flores funcionalmente femininas apresentam estames praticamente sésseis e horizontalizados, com ovário saliente e longistilia. As flores funcionalmente masculinas têm estames maiores e verticalizados, anteras de cor amarela forte, ovário ínfero e brevistilia (CARVALHO-OKANO, 1992; MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003). Os frutos de *M. ilicifolia* são do tipo cápsula bivalvar, com pericarpo maduro de coloração alaranjado a avermelhado. As sementes são cobertas por um arilo, de coloração branca o qual fica exposto quando o pericarpo maduro se abre (CARVALHO-OKANO, 1992).

Não existem estudos que abordem a polinização e a dispersão de sementes de *M. ilicifolia*. O conhecimento das interações entre plantas e animais, como a polinização e a dispersão, são fundamentais para a compreensão da estrutura e da dinâmica das comunidades e seu processo de regeneração, constituindo importantes ferramentas para a conservação da biodiversidade (RODARTE et al., 2008; YAMAMOTO et al., 2007).

As flores de espécies da família Celastraceae frequentemente são polinizadas por abelhas, moscas e coleópteros, oferecendo néctar como recompensa floral. Os frutos são coloridos e abrem expondo as sementes ariladas, que são dispersas por aves (JUDD et al., 2009). Os polinizadores e dispersores de *M. ilicifolia* não são conhecidos. Pequenos insetos, como abelhas, vespas e formigas, que podem ser polinizadores ou pilhadores de néctar, foram observados em flores de *M. ilicifolia*, (CARVALHO, 2006; SCHEFFER et al., 2009). O contraste do pericarpo laranja-avermelhado com o arilo branco quando os frutos abrem ao amadurecer pode ser atrativo às aves (NEGRELLE et al., 1999), sugerindo que estas sejam as dispersoras das sementes desta espécie. Em uma região de cerrado no Mato

Grosso do Sul a espinheira-santa apresentou dispersão zoocórica, no entanto as espécies dispersoras não são citadas (RAMOS; SARTORI, 2013).

Estudos tem apontado evidências da evolução para a dioicia em *M. ilicifolia* (CARVALHO-OKANO, 1992; MAZZA et al., 2011; STEENBOCK, 2003). Nesse sentido, conhecer os visitantes florais permite identificar potenciais polinizadores e a eficiência destes na transferência de pólen, promovendo o fluxo gênico, para que ocorra a formação de frutos e consequente formação de sementes. A dispersão de sementes é uma das principais interações entre seres vivos, tornando-se essencial para as plantas zoocóricas, pois permitem a elas a ocupação de novos nichos e a manutenção da espécie (FRANCISCO; GALETTI, 2001; 2002).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi identificar os polinizadores e dispersores de sementes de *M. ilicifolia*.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Área de estudo

Este trabalho foi realizado no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense durante os períodos de floração e frutificação entre 2015 e 2017. O Banco Ativo de Germoplasma realiza a conservação *ex situ*, na forma de plantas cultivadas a campo em duas áreas, uma na Estação Experimental Cascata da Embrapa Clima Temperado (31°61' S e 52°52' O) e outra no Câmpus Pelotas - Visconde da Graça do Instituto Federal Sul-rio-grandense (31°42' S e 52°18' O), Pelotas, Rio Grande do Sul. O presente estudo foi realizado apenas na área do banco que fica no Câmpus Pelotas - Visconde da Graça do Instituto Federal Sul-rio-grandense. Esta área situa-se na Planície Costeira do município, e apresenta vegetação bastante antropizada, com campos de pastejo, silvicultura de eucalipto (*Eucalyptus* spp., Myrtaceae) e áreas experimentais com cultivos anuais e perenes. Conforme classificação de Köppen o clima da região é do tipo Cfa, subtropical úmido, com verões quentes e sem estação seca (MORENO, 1961).

3.2.2 Características da biologia floral

As seguintes características da biologia floral, relacionadas à polinização, foram avaliadas em 30 flores funcionalmente femininas e 30 flores funcionalmente masculinas: coloração das pétalas, diâmetro da flor, simetria floral, presença de odor, horário de antese e presença de recursos florais. Para verificar a presença de odor, flores dos dois morfotipos florais foram mantidas separadamente em recipientes de vidro tampados por 10 minutos (KEARNS; INOUE, 1993), quando foi solicitado que 10 pessoas, através do olfato, verificassem se havia algum odor.

Para estimar o número de flores por planta inicialmente fez-se a contagem do número de inflorescências em 50 ramos de 10 plantas com flores funcionalmente femininas e 50 ramos de 10 plantas com flores funcionalmente masculinas (cinco ramos em cada planta). A seguir foi realizada a contagem do número de ramos destas plantas, e a contagem do número de flores em 50 inflorescências de cada morfotipo floral. Foram multiplicadas as médias do número de flores por inflorescência, número de inflorescências por ramo e número de ramos por planta.

3.2.3 Polinizadores

Observações dos visitantes florais foram feitas em duas plantas com flores funcionalmente femininas e duas plantas com flores funcionalmente masculinas, totalizando 120 horas. Essas observações foram realizadas na época de floração das plantas, em dois anos (2014 e 2015), de agosto a outubro, das 8 horas às 18 horas, em dias alternados, sendo 60 horas em cada morfotipo floral. O horário da visita, o recurso floral coletado e o comportamento dos visitantes foram registrados. A ocorrência ou não do contato de partes do corpo dos insetos com as anteras das flores funcionalmente masculinas e com o estigma das flores funcionalmente femininas foi observado para classificar o inseto como potencial polinizador ou como pilhador de néctar. O local de deposição de pólen no corpo do animal visitante também foi considerado nesta avaliação, sendo identificado durante a visita e no laboratório, após coleta, com uso de microscópio estereoscópico.

O comprimento do corpo dos visitantes florais foi medido com uso de paquímetro digital e as espécies foram classificadas como pequenas, quando eram menores que 12mm, ou grandes, quando eram iguais ou maiores de 12mm (LENZA;

OLIVEIRA, 2005). A frequência absoluta de visitantes (número total de insetos visitantes) e a frequência relativa dos insetos visitantes foram registradas. Para obtenção da frequência relativa de cada espécie visitante, o número total de visitas de cada espécie foi dividido pelo número total de visitas e multiplicado por 100. Este cálculo foi feito para todas as espécies visitantes. Uma visita significou cada ato de procura pelo recurso floral por um dado visitante, ao pousar nas flores.

Indivíduos de cada espécie de visitantes florais foram coletados e montados a seco para identificação por especialistas no Laboratório de Ecologia de Insetos da Universidade Federal de Pelotas. A autorização para coleta e transporte de espécimes da fauna silvestre *in situ* foi concedida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO), e está registrada no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) sob o número 51282.

3.2.4 Dispersores de sementes

O acompanhamento da maturação dos frutos foi feito a partir do mês de novembro, através da observação da mudança de coloração e abertura do pericarpo (cápsula bivalvar) expondo o arilo. Trinta frutos maduros, de coloração alaranjada a avermelhada, que apresentavam cápsula ainda fechada, foram mensurados quanto ao comprimento (distância entre a inserção do pedúnculo e o ápice) e ao diâmetro. O diâmetro e comprimento do arilo com as sementes (diásporo) também foi obtido com a retirada do pericarpo. Todas as medidas foram realizadas com auxílio de paquímetro digital com precisão de 0,1mm.

Para estimar o número de frutos maduros por planta contou-se o número de frutos maduros em 50 infrutescências de 10 plantas funcionalmente femininas (cinco infrutescências por planta). A seguir foi realizada a contagem do número de ramos destas plantas e a contagem do número de frutos em 50 infrutescências. Foram multiplicados o número médio de frutos maduros produzidos por infrutescência pelo número médio de infrutescências por ramo e pelo número de ramos por planta.

O registro das aves visitantes foi feito pelo método de observação focal, que consiste em observar diretamente um grupo de plantas, com frutos maduros, anotando os eventos de frugivoria e comportamentos de interesse (JORDANO; SCHUPP, 2000). Duas plantas, próximas entre si, foram observadas em 17 dias não consecutivos, totalizando 60 horas de observação, de novembro a janeiro de 2016 e

2017, das 6h30 às 19h30. As observações foram feitas a uma distância mínima de 5m. Sempre que possível as aves visitantes foram registradas em imagens e vídeos.

Durante cada sessão de observação foram anotadas as espécies de aves visitantes e o horário da visita, o número total de visitas de cada espécie, incluindo as visitas em que não houve consumo, e o número de visitas completas, quando as aves puderam ser observadas durante toda a visita. Nas visitas completas, foi registrado o tempo de duração, o número total de diásporos (arilo com as sementes) retirado dos frutos (incluindo os que não foram engolidos) e o número de diásporos engolidos inteiros. Quando houve o consumo somente do arilo, com o descarte da semente, este foi contabilizado somente no número total de diásporos retirados dos frutos.

A porcentagem relativa de consumo para cada espécie de ave foi calculada a partir da multiplicação do número médio de diásporos engolidos inteiros nas visitas completas pelo número total de visitas completas, dividido pelo somatório dos valores obtidos para todas as espécies e multiplicado por 100 (FRANCISCO; GALETTI, 2001). O potencial de dispersão (DP), que mede a eficiência de uma espécie como dispersora de sementes a partir do número de diásporos inteiros engolidos e o tempo gasto nas visitas completas, também foi estimado para cada espécie de ave usando o cálculo $DP = [f/t.(n)]$, de acordo com Gonçalves et al. (2015). Sendo, f o número médio de diásporos intactos ingeridos; t o tempo médio em que o pássaro permaneceu na planta em visitas completas; n o número de visitas completas por hora.

A manipulação dos frutos durante o forrageamento das aves foi classificada em: engolir o diásporo inteiro (arilo com as sementes), retirar as sementes e engolir somente o arilo, e bicar os arilos (PIZO, 1997).

As táticas de coleta utilizadas pelas aves foram padronizadas de acordo com Moermond; Denslow (1985) em: colher (*picking*), onde a ave pousada captura o diásporo, sem estender o corpo ou assumir posições especiais; alcançar (*reaching*), quando a ave estende o corpo abaixo ou acima do poleiro para alcançar o diásporo, sendo incluído o comportamento de estender o corpo para os lados a fim de alcançar o diásporo; pendurar (*hanging*), quando a ave fica com todo o corpo abaixo do poleiro, com a região ventral voltada para cima; investir (*stalling*), a ave em voo realiza uma investida direta ao diásporo. A classificação das espécies de aves quanto à dieta segue Motta Junior (1990) e Sick (1997), e a nomenclatura

taxonômica segue o Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (PIACENTINI, 2015).

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Características da biologia floral

As flores funcionalmente femininas e funcionalmente masculinas de *M. ilicifolia* apresentaram semelhança na coloração, formato e tamanho (Figuras 1A e 1B). Ambas têm coloração verde-amarelada, simetria actinomorfa e são inconspícuas, com média do diâmetro floral de $5,7\text{mm} \pm 1,06$ para as flores funcionalmente femininas e de $6,08\text{mm} \pm 0,74$ para as flores funcionalmente masculinas. Os dois morfotipos florais têm antese diurna, não exalam odor perceptível ao olfato humano e produzem néctar como recurso floral. O pólen está presente em grande quantidade nas flores funcionalmente masculinas, e em 37% das flores funcionalmente femininas não foi observado pólen, e nas demais havia em média quatro grãos de pólen por antera.

A morfologia floral de *M. ilicifolia*, com corola actinomorfa (do tipo prato), permite que o néctar seja facilmente acessado por diversos grupos de insetos, incluindo abelhas, moscas e vespas que podem atuar como polinizadores (PINHEIRO et al., 2014). Várias outras espécies de plantas dioicas também têm o acesso de visitantes florais facilitado devido à corola actinomorfa (CESÁRIO; GAGLIANONE, 2008; FERNANDES et al., 2012; LENZA; OLIVEIRA, 2005). Semelhanças morfológicas entre as flores femininas e masculinas também foram observadas em outras espécies dioicas pertencentes a diferentes famílias (FRANCESCHINELLI et al., 2015; FUZETO et al., 2001; LENZA; OLIVEIRA, 2005).

A espécie produz um grande número de flores dos dois morfotipos florais, no entanto o número de flores funcionalmente masculinas é expressivamente maior (Figura 1C). Em plantas com flores funcionalmente masculinas foi estimado uma média de 32.425 flores e nas plantas com flores funcionalmente femininas a estimativa foi de 10.313 flores. O conjunto de flores em antese em um determinado indivíduo por um dado intervalo de tempo é conhecido como *display* floral (BAWA, 1980; OHASHI; YAHARA, 2001) e, para a espinheira-santa, pode funcionar como

uma unidade de atração visual para os potenciais polinizadores, uma vez que as flores são pequenas, pouco chamativas e não tem odor perceptível.



Figura 1. Flores de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense. A. Flores funcionalmente masculinas. B. Flores funcionalmente femininas. C. Planta com flores funcionalmente masculinas. Fotos: A e B - Paulo Lanzetta. C -Tângela Denise Perleberg.

3.3.2 Polinizadores

Foram registradas 35 espécies de visitantes florais para *M. ilicifolia*, pertencentes a quatro ordens e 18 famílias, todos da classe Insecta. As ordens com maior número de espécies visitantes (88,6%) foram Diptera, representada pelas moscas, e Hymenoptera, representada pelas vespas e abelhas. A ordem Diptera foi a que apresentou o maior número de famílias (nove), com destaque para a família Syrphidae, com oito espécies. Em seguida está a ordem Hymenoptera, com cinco famílias, na qual se destacou a família Vespidae, com cinco espécies (Tabela 1). As ordens Diptera e Hymenoptera foram consideradas as mais representativas na polinização de diferentes espécies dioicas (FERNANDES et al., 2012; LENZA; OLIVEIRA, 2005; SOMAVILLA et al., 2010). Pelo fato de todos os visitantes florais serem da classe Insecta, com diversidade de espécies de diferentes ordens e famílias, associado às características morfológicas florais, *M. ilicifolia* apresenta polinização entomófila e generalista.

As visitas ocorreram a partir das 9 horas, estendendo-se por todo período diurno, com maior intensidade entre 10 horas e 15 horas. A visitação dos insetos entre 9 horas e 18 horas indica que o néctar, único recurso floral coletado, está disponível durante todo esse período.

Ao visitarem as flores e ao se deslocarem sobre elas, todos os insetos visitantes tocaram os órgãos reprodutivos da flor (antera e estigma) com alguma parte do corpo (cabeça, tórax, abdômen ou patas). No entanto, em cinco espécies de insetos não foi constatado a presença de grãos de pólen quando examinadas ao microscópio estereoscópico. Estas estão entre as 12 espécies incluídas no grupo dos pilhadores de néctar, das quais 11 foram observadas apenas uma ou duas vezes visitando um único morfotipo floral (Tabela 1).

Em contrapartida, a maioria das espécies (65,7%), pertencentes as ordens Diptera e Hymenoptera, visitou ambos os morfotipos florais, teve contato com os órgãos reprodutivos da flor e apresentou pólen aderido a alguma parte do seu corpo (Tabela 1). Estes foram considerados polinizadores de *M. ilicifolia* na área de estudo. O fácil reconhecimento dos morfotipos florais da espinheira-santa pelos agentes polinizadores é de grande importância por proporcionar o fluxo de pólen entre as plantas (FREEMAN et al., 1997). Neste sentido, a semelhança no tamanho, formato e coloração, além da produção de néctar, nas flores funcionalmente femininas e nas

flores funcionalmente masculinas parece ter contribuído para que a maioria dos insetos polinizadores visitasse ambos os morfotipos florais.

Todas as espécies de polinizadores da ordem Diptera (moscas), 65%, enquadram-se na categoria de pequeno tamanho e todas as espécies da ordem Hymenoptera (vespas e abelhas), 35%, na categoria grande (Tabela 1). Estes insetos realizaram visitas rápidas em várias flores da mesma planta, alguns segundos em cada flor, e após foram observados se deslocando para outras plantas do Banco Ativo de Germoplasma. Este comportamento dos insetos é considerado importante para que ocorra a polinização cruzada (PEREIRA, 2014).

M. ilicifolia é polinizada tanto por insetos classificados na categoria de pequeno tamanho, quanto por insetos classificados na categoria grande. No entanto, os insetos de pequeno tamanho tiveram maior frequência absoluta. Isto é comum para as espécies dioicas, onde a maioria dos polinizadores é de tamanho pequeno, geralmente não específicos, adaptados a pequenas flores de cor branca, amarela ou verde-pálida e com menos de 1cm de diâmetro (BAWA; OPLER, 1975). A polinização por pequenos insetos também foi observada para outras espécies dioicas (FERNANDES et al., 2012; LENZA; OLIVEIRA, 2005; NADIA et al., 2007). Além disso, as flores polinizadas por pequenos animais geralmente produzem néctar em pequena quantidade (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979) o que induz à procura de um maior número de flores, inclusive em diferentes plantas, aumentando o percentual de polinização cruzada (CRUDEN et al., 1983).

Tabela 1. Visitantes florais de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.

Ordem/Família	Espécie	Flores		FA ^c	FR ^d	LDP ^e	CC ^f	CI ^g
		Func. Masc. ^a	Fun. Fem. ^b					
HYMENOPTERA								
Apidae	<i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758	X	X	11	3,4	C	12,0	PO
Argidae	<i>Arge</i> sp.	X		1	0,3	SP	9,3	PN
Ichneumonidae	<i>Mesostenus</i> sp.	X	X	7	2,2	P	8,6	PO
	<i>Theronia</i> sp.		X	2	0,6	SP	9,0	PN
Tiphiidae	Indeterminada	X	X	23	7,2	C	15,0	PO
Vespidae	<i>Agelaia</i> sp.	X	X	2	0,6	Cab	12,5	PO
	<i>Brachygastra mellifica</i> Say, 1837	X	X	37	11,6	PB, C	13,9	PO
	<i>Mischocyttarus</i> sp.	X	X	18	5,6	Cab, PB, P	18,9	PO
	<i>Polybia scutellaris</i> (Write, 1841)	X	X	5	1,6	Cab	10,38	PO
	<i>Polistes canadensis</i> (Linnaeus, 1758)	X	X	23	7,2	Cab, PB	20,2	PO
DIPTERA								
Anthomyiidae	Indeterminada	X	X	12	3,8	C	5,5	PO
Bibionidae	<i>Biblio johannis</i> (Linnaeus, 1767)	X	X	7	2,2	C	6,4	PO
Calliphoridae	<i>Lucilia eximia</i> (Wiedemann, 1819)	X	X	38	11,9	Cab, A, P	8,7	PO
	<i>Hemilucilia segmentaria</i> (Fabricius, 1805)	X	X	5	1,6	T	7,4	PO
Muscidae	<i>Coenisia</i> sp.	X		1	0,3	T	5,3	PN
	<i>Neodexiopsis</i> sp.		X	2	0,6	T	5,8	PN
	<i>Limnophora</i> sp.	X	X	26	8,1	C	6,5	PO
Tachinidae	Indeterminada		X	1	0,3	SP	10,0	PN

Ordem/Família	Espécie	Flores		FA ^c	FR ^d	LDP ^e	CC ^f	CI ^g
		Func. Masc. ^a	Fun. Fem. ^b					
Sarcophagidae	<i>Oxysarcodexia riograndensis</i> (Lopes, 1946)	X	X	2	0,6	T	6,0	PO
	<i>Peckia ingens</i> (Walker, 1849)	X		1	0,3	T	12,5	PN
	Indeterminada	X	X	12	3,8	P	8,4	PO
Stratiomyidae	<i>Odontomya</i> sp.		X	1	0,3	SP	15,8	PN
Syrphidae	<i>Eristalis</i> sp. 1	X	X	15	4,7	T	9,4	PO
	<i>Eristalis</i> sp. 2	X	X	20	6,3	T, P	12,8	PO
	<i>Temnostoma</i> sp. 1	X	X	7	2,2	C	10,8	PO
	<i>Temnostoma</i> sp. 2	X	X	2	0,6	T	11,4	PO
	Indeterminada 1	X	X	2	0,6	A	14,6	PO
	Indeterminada 2	X	X	2	0,6	O, P	10,5	PO
	Indeterminada 3	X	X	2	0,6	T	8,0	PO
	Indeterminada 4	X	X	5	1,6	T, P	10,4	PO
Tabanidae	Indeterminada		X	2	0,6	Cab, A	11,8	PN
HEMIPTERA								
Coreidae	<i>Acantocephala</i> sp.	X		5	1,6	P	12,4	PN
Pyrrhocoridae	<i>Dysdercus</i> sp.	X		1	0,3	SP	11,8	PN
COLEOPTERA								
Coccinellidae	<i>Harmonia axyridis</i> (Pallas, 1773)	X	X	19	5,9	T, Cab	7,4	PN
Lampyridae	Indeterminada		X	1	0,3	A	6,4	PN

^aFlores funcionalmente masculinas. ^bFlores funcionalmente femininas. ^cFrequência absoluta expressa em número. ^dFrequência relativa expressa em porcentagem. ^eLocal de deposição do pólen, onde SP = sem pólen, C = corpo todo, A = asas, Cab. = cabeça, O = olhos, P = patas, PB = peças bucais, T = tórax. ^fComprimento do corpo. ^gClassificação do visitante em: PO = polinizador e PN = pilhador de néctar.

As moscas (Diptera) foram os polinizadores mais frequentes, contribuindo com 55,5% das visitas. Todas as espécies apresentaram comportamento semelhante, usando a probóscide para sugar ou lambar o néctar por todo o disco nectarífero, fazendo movimentos circulares ao redor do estilete, encostando com a cabeça e outras partes do corpo nas anteras e no estigma (Tabela 1). A mosca *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819) (Figura 2B), da família Calliphoridae, foi o polinizador mais frequente, contribuindo com 11,9% das visitas. *Limnophora* sp., foi a segunda mosca polinizadora mais frequente (Figura 2C). Estas moscas foram observadas repetidamente em plantas com flores funcionalmente femininas e plantas com flores funcionalmente masculinas e visitaram as flores durante todo o período de observação, com maior atividade entre 11 horas e 17 horas.

A visita de moscas de hábito larval saprófago, como *L. eximia*, às flores de *M. ilicifolia* pode estar relacionada à localização da área de estudo na zona periurbana do município de Pelotas, dentro do Câmpus Pelotas - Visconde da Graça (IFSul), onde existe criação de aves, bovinos e equinos. A existência destes animais e de esterco atrai moscas de hábito saprófago e necrófago, pertencentes às famílias Anthomyiidae, Calliphoridae, Muscidae e Sarcophagidae (CARVALHO et al., 2002; MACEDO et al., 2011). Estas moscas utilizam, também, o néctar das flores de *M. ilicifolia* como recurso alimentar, carreando pólen das flores masculinas para as femininas, sendo consideradas importantes polinizadoras desta espécie.

A família Syrphidae (mosca-das-flores) foi a mais diversificada, com destaque para as duas espécies de *Eristalis* que, juntas, representaram 11% das visitas (Tabela 1; Figura 2A). Esta família é considerada a mais importante entre os dípteros polinizadores, sendo constituída por moscas especializadas em se alimentar de pólen e néctar, dependendo, na sua fase adulta, quase exclusivamente de flores para sua alimentação (WILLMER, 2011). O deslocamento destas moscas entre diferentes flores é mais sistemático e regular do que das outras espécies de moscas, sendo, por isso, reconhecidas como importantes e eficientes vetores de pólen (WILLMER, 2011). A família Syrphidae também foi a que mais se destacou na polinização da planta dioica conhecida por pau-pombo, *Tapirira guianensis* Aubl., família Anacardiaceae (FERNANDES et al., 2012).



Figura 2. Polinizadores de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense. A. *Eristalis* sp. (Syrphidae, Diptera). B. *Lucilia eximia* (Calliphoridae, Diptera). C. *Limnophora* sp. (Muscidae, Diptera). D. *Brachygastra mellifica* (Vespidae, Hymenoptera). E. *Polistes canadensis* (Vespidae, Hymenoptera). F. Espécie indeterminada da família Tiphiidae (Hymenoptera). Fotos: Tângela Denise Perleberg.

O grupo das vespas (Argidae, Tiphiidae e Vespidae) contribuiu com 44,5% das visitas, com destaque para *Brachygastra mellifica* Say, 1837 (Figura 2D), que foi a segunda espécie polinizadora mais frequente, ficando atrás apenas de *Lucilia eximia*. Dentre as vespas destacaram-se *Polistes canadensis* (Linnaeus, 1758), uma espécie da família Tiphiidae e uma espécie de *Mischocyttarus* (Tabela 1; Figuras 2E e 2F). As vespas utilizaram o aparelho bucal para coletar néctar, mastigando o disco nectarífero na base dos estames, encostando com a cabeça e outras partes do corpo nas anteras e no estigma. Um fato curioso é a espécie da família Tiphiidae não determinada, onde o macho e a fêmea visitam as flores sempre em cópula. O macho, alado, ao se locomover entre as flores para coletar néctar carrega a fêmea, áptera, que também se alimenta de néctar. Nesse processo, principalmente a fêmea, fica completamente coberta de pólen.

Vespas adultas geralmente visitam flores em busca de néctar para sua própria alimentação ou manutenção da colônia e, nesse processo, transportam o pólen sobre o corpo (PEREIRA, 2014). Vespas sociais dos gêneros *Brachygastra*, *Mischocyttarus*, *Polistes* e *Polybia* foram citadas como polinizadoras de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae), uma planta funcionalmente dioica nativa da América do Sul (SOMAVILLA et al., 2010; SÜHS et al., 2009) e bastante comum na área de estudo. Essas vespas são consideradas generalistas por explorar uma ampla gama de espécies vegetais (PEREIRA, 2014).

A joaninha-asiática, *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773), foi considerada pilhadora de néctar, mesmo apresentando alta frequência relativa de visitas, pólen aderido no corpo e coletando néctar em flores funcionalmente femininas e funcionalmente masculinas. No entanto, cada indivíduo permaneceu na mesma flor e na mesma planta durante todo o período da observação. A joaninha é exótica, originária da Ásia, predadora de outros insetos e utilizada no controle biológico de pragas (KOCH, 2003), mas, na ausência de presas, pode utilizar fontes alternativas de alimento, como néctar e pólen (MILLÉO et al., 2011). Indivíduos dessa espécie de joaninha observados em flores de maçã e berinjela foram considerados apenas visitantes florais e não polinizadores. A visita à flor de maçã foi atribuída à provável procura de presas (NUNES-SILVA et al., 2016). Por sua vez, nas flores de berinjela, a liberação de pólen ocorre por vibração das anteras, frequentemente feita por insetos de corpo robusto e que realizam a vibração torácica, como as abelhas do gênero *Bombus*. Neste sentido, embora a joaninha tenha se destacado entre os

visitantes florais mais frequentes e constantes, assim como aconteceu na espinheira-santa, não foi considerada polinizadora das flores de berinjela (MILLÉO et al., 2011).

Embora as flores da maioria das angiospermas sejam visitadas e polinizadas principalmente ou exclusivamente por abelhas (PINHEIRO et al., 2014), na espinheira-santa foi registrada somente uma espécie (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758). As plantas que dependem da melitofilia (polinização por abelhas) apresentam, entre outras características, antese diurna, quase sempre tem flores chamativas (amarelas ou azuis) com guias de néctar ou de pólen e odor frequentemente presente, agradável ao olfato humano (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979). Fernandes et al. (2012) registraram Apidae, como a família com maior riqueza e abundância na polinização do pau-pombo (*Tapirira guianensis*) e, Nadia et al. (2007), constataram que os principais polinizadores do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda, Anacardiaceae) também são abelhas. As duas espécies apresentam flores com odor adocicado, sendo enquadradas na síndrome de polinização melitófila. Além disso, Lenzi; Orth (2004) demonstraram que as flores da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*) possuem odores como mecanismo para atrair visitantes florais e possíveis polinizadores, principalmente abelhas. Neste sentido, pode-se concluir que as flores de *M. ilicifolia* são pouco atrativas ao grupo das abelhas, o que explica a baixa frequência de visitas e a visita de apenas uma espécie.

3.3.3 Dispersores de sementes

Entre 2015 e 2017, 100 plantas funcionalmente femininas do Banco Ativo de Germoplasma produziram em média 4.538 frutos maduros cada uma. A maturação dos frutos ocorreu no final de novembro e início de dezembro, quando os mesmos adquiriram coloração alaranjada, avermelhada ou amarronzada e a cápsula bivalvar se abriu expondo o arilo branco e suculento que envolve as sementes. Nove espécies de aves pertencentes a Ordem Passeriformes e a três famílias diferentes visitaram as plantas de espinheira-santa para se alimentar dos frutos neste período (Tabela 2). Destas, apenas o cambacica [*Coereba flaveola* (Linnaeus, 1758)], não foi considerado dispersor de sementes de *M. ilicifolia*. A espécie do gênero *Elaenia* não

foi determinada pois os representantes desse gênero são muito semelhantes, de difícil identificação, sendo diferenciadas somente pelo canto (SICK, 1997). Neste trabalho optou-se por adotar o nome popular de guaracava para a espécie.

A coloração verde das folhas realçou os frutos quando estes amadureceram, no entanto, somente após ocorrer abertura da cápsula, expondo o arilo branco (Figura 3A), é que houve o início da atividade de frugivoria pelas aves, únicos consumidores de frutos de espinheira-santa registrados. Negrelle (1999) já havia chamado a atenção para a questão de que o contraste entre o pericarpo e o arilo era um atrativo às aves. A ocorrência de coloração chamativa nos frutos quando estes se tornam maduros pode ser considerada uma adaptação evolutiva para atração dos dispersores (WILLSON; THOMPSON, 1982).

Os frutos apresentaram, em média, comprimento de $9,7 \pm 0,9$ mm e diâmetro de $8,5 \pm 0,9$ mm, enquanto o diásporo (sementes com arilo) apresentou, em média, comprimento de $7,1 \pm 1,2$ mm e diâmetro de $5,8 \pm 1,0$ mm. As aves removeram o diásporo somente de frutos deiscentes, e o engoliram inteiro em 80% das vezes (Tabela 2). No entanto, o sanhaço-cinzento [*Tangara sayaca* (Linnaeus, 1766)] mandibulou 36,5% dos diásporos, retirando as sementes, que caíram sob a planta, se alimentando apenas do arilo. Em algumas ocasiões esta ave foi observada esfregando o diásporo nos ramos de *M. ilicifolia* ou em ramos de plantas próximas, com objetivo de retirar a semente e engolir somente o arilo (Figura 3B). O bem-te-vi [*Pitangus sulphuratus* (Linnaeus, 1766)] e o sanhaço-papa-laranja [*Pipraeidea bonariensis* (Gmelin, 1789)] deixaram cair, respectivamente, 10,5% e 2,5% dos diásporos sob a planta, sem engoli-los. As demais aves engoliram todos os diásporos coletados inteiros, com exceção do cambacica que se alimentou apenas do arilo, bicando o diásporo, expondo as sementes ou as derrubando sob a planta (Figura 3C). Não foi observado o consumo de frutos com a cápsula bivalvar.

Com exceção do cambacica, as demais espécies de aves visitantes foram consideradas dispersoras de sementes de *M. ilicifolia*, por engolirem o diásporo inteiro, possibilitando que as sementes fossem regurgitadas ou defecadas em locais afastados das plantas do banco de germoplasma. O menor porte do cambacica, dentre as espécies observadas provavelmente tenha impossibilitado que o diásporo fosse engolido. Além disso, essa ave é nectarívora e, provavelmente, tenha se alimentado dos arilos por serem adocicados. A dimensão reduzida dos diásporos, menores do que 1cm, possibilitou que a maioria fosse engolido inteiro sem a

necessidade de mandibulação (movimento do bico). Com a abertura do pericarpo o diásporo ficou exposto, tornando-se de fácil e rápida remoção.

A atividade de visitação das aves dispersoras iniciou às 06h45 e cessou às 18h30, totalizando 305 visitas em 60 horas de observação, com média de cinco visitas por hora. As aves consumiram 329 diásporos em 110 visitas completas, apresentando consumo médio de 5,5 unidades por hora e de três diásporos por visita (Tabela 2). O sanhaço-cinzento e o guaracava (*Elaenia* sp.) (Figuras 4A e 4B), apresentaram o maior número de visitas e as maiores porcentagens relativas de consumo, sendo responsáveis pela remoção e consumo de 65,2% dos diásporos. Além disso, foram registrados em todos os horários e em todos os dias de observação. Logo a seguir o sanhaço-papa-laranja (Figuras 4C e 4D), o bem-te-vi e o sabiá-laranjeira (*Turdus rufiventris* Vieillot, 1818) representaram 31% da porcentagem relativa de consumo. Estas cinco espécies foram responsáveis pelo consumo de 96,2% dos diásporos. O suiriri (*Tyrannus melancholicus* Vieillot, 1819), o sabiá-poca (*Turdus amaurochalinus* Cabanis, 1850) e o peitica [*Empidonamus varius* (Vieillot, 1818)] foram as aves que tiveram o menor número de visitas e menor porcentagem de consumo (Tabela 2). Na maioria das visitas o sabiá-laranjeira se alimentou no interior da copa, não sendo possível contabilizar o número de diásporos consumidos. Desta forma, a porcentagem relativa de consumo desta espécie pode estar subestimada, uma vez que permanece por um longo tempo forrageando.

Tabela 2. Aves visitantes de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) do Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.

Família	Espécie	Nome popular	Dieta ^a	V ^b	VC ^c	DV ^d	DR ^e	DE ^f	MC ^g	PRC ^h	PD ⁱ
Tyrannidae	<i>Elaenia</i> sp.	Guaracava	ON	106	23	45±61	55	55	2,4	28,5	0,46
	<i>Empidonomus varius</i> (Vieillot, 1818)	Peitica	IN	2	1	72	5	5	5	1,1	0,001
	<i>Pitangus sulphuratus</i> (Linnaeus, 1766)	bem-te-vi	ON	16	7	76,7±81,9	38	34	4,9	8,7	0,05
	<i>Tyrannus melancholicus</i> Vieillot, 1819	Suiriri	IN	4	3	96±67,3	7	7	2,3	1,1	0,004
Turdidae	<i>Turdus amaurochalinus</i> Cabanis, 1850	sabiá-poca	ON	4	2	30	7	7	3,5	1,6	0,007
	<i>Turdus rufiventris</i> Vieillot, 1818	sabiá-laranjeira	ON	17	2	480±594	8	8	4	7,7	0,0005
Thraupidae	<i>Coereba flaveola</i> (Linnaeus, 1758)	Cambacica	NEC	4	4	50±6,7	2	0	0	0	0
	<i>Pipraeidea bonariensis</i> (Gmelin, 1789)	sanhaço-papa-laranja	FRU	28	17	65,9±39,9	81	79	4,6	14,6	0,34
	<i>Tangara sayaca</i> (Linnaeus, 1766)	sanhaço-cinzento	ON	124	51	61,4±42,2	21	134	2,6	36,7	1,9

^aON = onívoro; IN = insetívoro; NEC = nectarívoro; FRU = frugívoro. ^bNúmero total de visitas. ^cNúmero de visitas completas, quando as aves puderam ser observadas durante toda a visita sendo possível registrar o tempo de duração da visita e o total de diásporos consumidos. ^dDuração média das visitas completas, em segundos (média ± desvio padrão). ^eNúmero total de diásporos retirados dos frutos. ^fNúmero total de diásporos engolidos inteiros. ^gMédia de diásporos consumidos por visita nas observações completas (média ± desvio padrão). ^hPorcentagem relativa de consumo, calculada a partir da multiplicação do número médio de frutos consumidos por visita pelo número total de visitas, dividido pelo somatório dos valores obtidos para todas as espécies e multiplicado por 100 (FRANCISCO; GALETTI, 2001). ⁱPotencial de dispersão: estimado para cada espécie de ave usando o cálculo DP= [f/t.(n)], de acordo com Gonçalves et al. (2015). Sendo: f o número médio de diásporos intactos ingeridos; t o tempo médio em que o pássaro permaneceu na planta em visitas completas; n o número de visitas completas por hora.

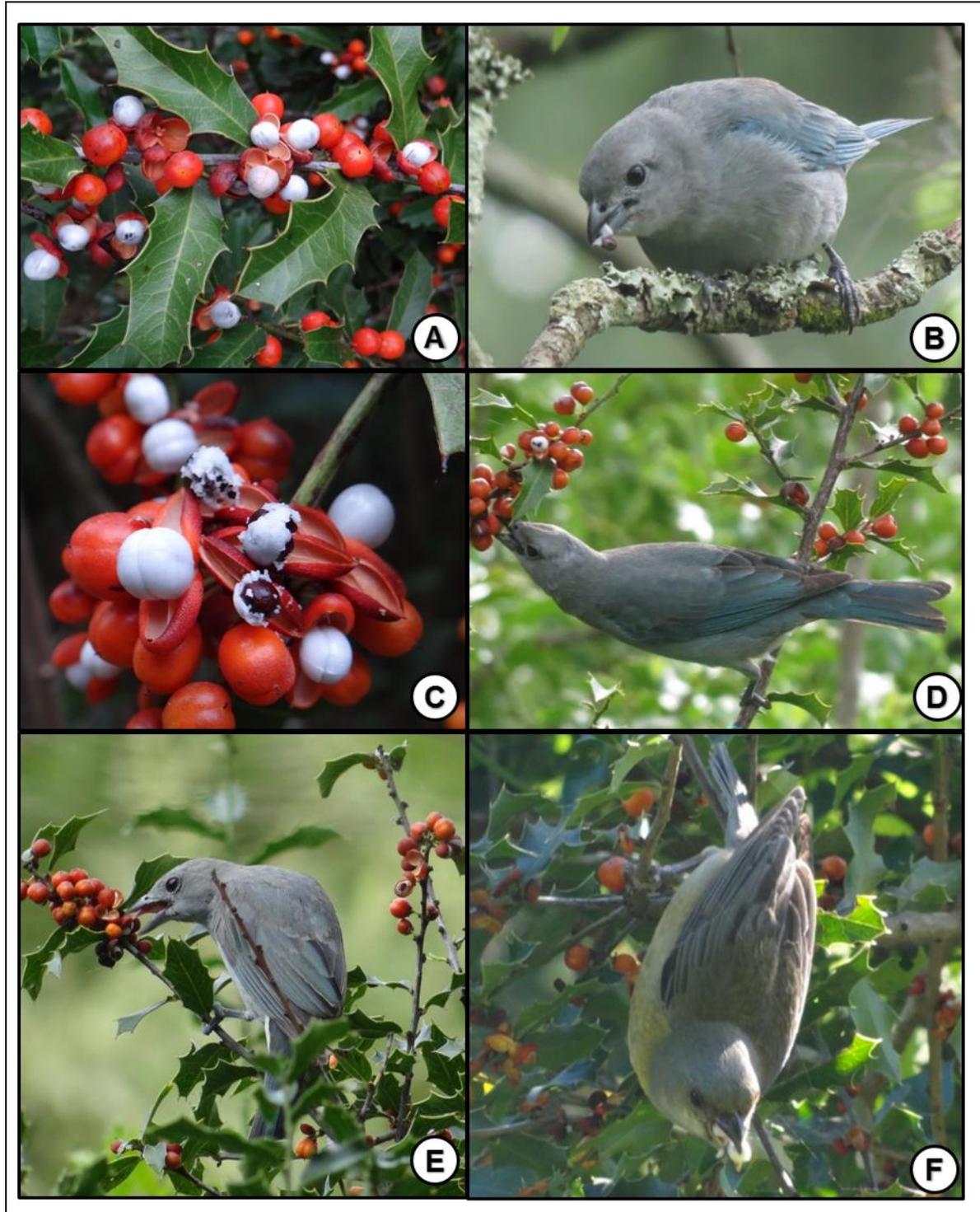


Figura 3. Dispersão de sementes em *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-riograndense. A. Frutos maduros expondo o arilo após abertura do pericarpo. B. Sanhaço-cinzento (*Tangara sayaca*) removendo a semente para consumir apenas o arilo. C. Arilos bicados pela ave cambacica (*Coereba flaveola*). D-E. Táticas de coleta de diásporos. D. *Reaching* – sanhaço-cinzento (*Tangara sayaca*). E. *Picking* - sanhaço-cinzento (*Tangara sayaca*). F. *Hanging* – sanhaço-papa-laranja (*Pipraeidea bonariensis*). Fotos: Tângela Denise Perleberg.



Figura 4. Aves dispersoras de sementes de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-riograndense. A. Sanhaço-cinzento (*Tangara sayaca*). B. Guaracava (*Elaenia* sp.). C. Fêmea de sanhaço-papa-laranja (*Pipraeidea bonariensis*). D. Macho de sanhaço-papa-laranja (*Pipraeidea bonariensis*). Fotos: Tângela Denise Perleberg.

De acordo com o potencial de dispersão, cálculo que considera o número de diásporos engolidos, o número de visitas completas e o tempo médio que a ave permanece sobre a planta (GONÇALVES et al., 2015), o sanhaço-cinzento foi a ave mais eficiente na dispersão de sementes de espinheira-santa (Tabela 2). O guaracava e o sanhaço-papa-laranja também apresentaram boa eficiência na dispersão de sementes. Por sua vez, o suiriri, o sabiá-poca, o peitica, o bem-te-vi e o sabiá-laranjeira apresentaram baixo potencial de dispersão (Tabela 2). Embora o sabiá-laranjeira tenha ficado em quarto lugar na porcentagem de consumo de diásporos, o longo período em que o mesmo permanece na planta diminui seu potencial de dispersão, uma vez que aumenta as chances de defecar ou regurgitar as sementes sob as plantas de espinheira-santa.

As aves foram observadas visitando e se revezando entre as 100 plantas do Banco Ativo de Germoplasma que produziram frutos nos dois anos de observação. A dieta, a abundância de cada espécie de ave e a escolha entre frutos de determinadas espécies de plantas presentes na região podem ter influenciado na diferença da frequência de visitação entre as espécies observadas (SCHUPP, 1993). Isto justifica um menor número de visitas por hora e, conseqüentemente, um menor número de diásporos consumido, quando comparadas a outros estudos realizados com outras espécies de plantas (FRANCISCO; GALETTI, 2002; PASCOTTO, 2006; 2007).

A tática de forrageamento mais utilizada para a remoção dos diásporos foi a tática do tipo colher (*picking*), onde a ave pousava no galho e sem estender o corpo ou assumir posições especiais conseguia alcançar o diásporo. Usando essa tática as aves coletaram 60,2% dos diásporos consumidos. A seguir ficou a tática de coleta do tipo alcançar (*reaching*), onde as aves estendiam o corpo abaixo, acima ou para o lado do poleiro para alcançar o diásporo (Tabela 3; Figuras 3D e 3E). Com essa tática foram coletados 26% dos diásporos consumidos. Além dessas duas táticas, utilizadas por todas as aves, o guaracava realizou investidas com voos curtos e o sabiá-laranjeira em uma ocasião, utilizou-se de saltos a partir do solo para alcançar os diásporos (*stalling*). E, ainda, o sanhaço-cinzento e o sanhaço-papa-laranja, em 12 e 15% das visitas, respectivamente se penduraram nos galhos para alcançar os diásporos (*hanging*) (Figura 3F).

Como a maioria dos ramos frutificados era flexível, e o amadurecimento dos frutos se deu aleatoriamente, raramente formando agregados de frutos maduros,

algumas aves foram mais eficientes na coleta de diásporos por apresentarem maior destreza e agilidade. O sanhaço-cinzeno, o guaracava e o sanhaço-papa-laranja fizeram uso de três táticas de coleta. Estas espécies se destacaram e demonstraram agilidade e destreza utilizando diferentes táticas de forrageamento para alcançar os diásporos. O sanhaço-cinzeno e o sanhaço-papa-laranja, em diversas ocasiões, se penduraram, suspendendo o corpo, ou pousaram em ramos verticais, para alcançar os diásporos, o que não foi observado para as demais espécies. Por sua vez o guaracava realizava voos curtos a partir de um poleiro próximo (ramos da própria planta) para apanhar os diásporos e, após pousar novamente, os engolia. As três espécies se deslocaram rapidamente e com agilidade entre os ramos da planta em busca de frutos abertos. Em contrapartida, as aves maiores, como o bem-te-vi e o sabiá-laranjeira pousavam em um galho, geralmente horizontal, e permaneciam neste tentando alcançar os diásporos.

Tabela 3. Táticas de forrageamento utilizadas por aves dispersoras de sementes na coleta de diásporos em *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) no Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-santa da Embrapa Clima Temperado/Instituto Federal Sul-rio-grandense.

Família	Espécie	Táticas de coleta			
		<i>Picking</i> ^a	<i>Reaching</i> ^b	<i>Hanging</i> ^c	<i>Stalling</i> ^d
Tyrannidae	<i>Elaenia</i> sp.	30	10	0	15
	<i>Empidonomus varius</i>	3	2	0	0
	<i>Pitangus sulphuratus</i>	26	8	0	0
	<i>Tyrannus melancholicus</i>	3	4	0	0
Turdidae	<i>Turdus amaurochalinus</i>	6	1	0	0
	<i>Turdus rufiventris</i>	6	1	0	1
Thraupidae	<i>Pipraeidea bonariensis</i>	41	26	12	0
	<i>Tangara sayaca</i>	83	35	16	0

^aa ave pousada captura o diásporo sem estender o corpo ou assumir posições especiais; ^bquando a ave estende o corpo abaixo, acima ou ao lado do poleiro para alcançar o diásporo; ^cquando a ave fica com todo o corpo abaixo do poleiro, com a região ventral voltada para cima; ^dquando a ave em voo realiza uma investida direta ao diásporo.

As visitas duraram em média 115,9 segundos, e a maioria das aves permaneceu sobre as plantas somente pelo tempo necessário ao forrageamento. O guaracava foi a ave que ficou menos tempo na planta, enquanto o sabiá-laranjeira foi observado no solo ou pousado em ramos basais das plantas de espinheira-santa, por um longo período de tempo, superior a 20 minutos, antes ou após se alimentar. Durante este período, em 65% das visitas, regurgitou sementes sob as plantas de *M.*

ilicifolia após se alimentar. O tempo dispendido pelas aves nas visitas a espinheira-santa foi menor quando comparado ao tanheiro (*Alchornea glandulosa* Poepp. & Endl., Euphorbiaceae), planta que também apresenta frutos encapsulados. Nessa espécie as aves não esperaram a abertura total dos frutos, removendo a cápsula com o bico para a retirada e consumo do diásporo, o que demandou maior tempo na alimentação e conseqüentemente baixo consumo (PASCOTTO, 2006). A duração das visitas foi inferior a 2 minutos para 89% das aves.

Este tempo de permanência é considerado curto por Jordano e Schupp (2000), o que diminui a probabilidade de as sementes ingeridas serem regurgitadas ou defecadas sob a planta mãe (PRATT; STILES, 1983), aumentando a eficiência das aves como dispersoras (SCHUPP, 1993). A única ave que prolongou o tempo de permanência sobre *M. ilicifolia* foi o sabiá-laranjeira, o que levou a regurgitação das sementes. O sanhaço-cinzento e o guaracava, em uma ocasião cada, defecaram sementes de *M. ilicifolia* sob as próprias plantas, no entanto estes foram acontecimentos isolados. Isto sugere que o tempo dispendido pelas aves nas plantas, com exceção do sabiá-laranjeira, é apenas suficiente para a alimentação.

As aves onívoras representaram 55,5% do total de espécies, e foram responsáveis pelo consumo de 83,2% dos diásporos. O sanhaço-papa-laranja foi a única ave frugívora registrada, sendo responsável por 14,6% do total de consumo de diásporos. As duas espécies insetívoras consumiram apenas 2,2% dos diásporos (Tabela 2). As aves onívoras foram responsáveis pela maior porcentagem relativa de consumo de diásporos (Tabela 2). O fato destas aves não se alimentarem exclusivamente de frutos não impede que sejam boas dispersoras de sementes (GALETTI; GUIMARÃES Jr., 2004). Diversos estudos têm apontado aves onívoras e insetívoras como dispersoras de sementes de várias espécies de plantas, sendo que em alguns destes não foram registradas aves exclusivamente frugívoras (ATHIÊ; DIAS, 2011; FRANCISCO; GALETTI, 2001; 2002).

O sanhaço-cinzento é uma ave onívora que consome frutos de diversas espécies vegetais (CAZETTA et al., 2002; FADINI; MARCO JR., 2004; MACHADO; ROSA, 2005), no entanto, em alguns casos, não é considerada potencial dispersora por consumir apenas o mesocarpo e deixar as sementes presas ao fruto, não as engolindo (FADINI; MARCO JR., 2004; MACHADO; ROSA, 2005). No presente estudo esta espécie, em algumas ocasiões, foi observada mandibulando o diásporo, de forma a engolir somente o arilo, deixando as sementes caírem sob a planta. Em

contrapartida a ave apresentou o maior número de visitas, o maior percentual de consumo de diásporos e o maior potencial de dispersão, sendo então considerada dispersora de sementes de *M. ilicifolia*.

O sanhaço-cinzento (n=3), o bem-te-vi (n=2) e o guaracava (n=2) foram observados alimentando filhotes com diásporos de *M. ilicifolia*. Estas aves e a fêmea de sanhaço-papa-laranja também coletaram diásporos e os levaram no bico até seus filhotes que estavam em ramos de árvores próximas ao banco ativo de germoplasma. O registro destas espécies alimentando seus filhotes demonstra a importância dos diásporos de *M. ilicifolia* na dieta dessas aves desde cedo. Na região do estudo o período de maturação dos frutos (novembro, dezembro) corresponde à temporada reprodutiva de diversas espécies de aves (SICK, 1997) e, portanto é uma época de grande demanda por recursos para alimentação de filhotes. O arilo confere ao fruto maior valor nutricional, devido ao alto teor de lipídios na sua composição, tornando-se bastante atrativo à avifauna (PIZO, 1997).

O sanhaço-cinzento geralmente forrageou aos pares ou em grupos de três, provavelmente os pais e o filhote. Devido ao dimorfismo sexual do sanhaço-papa-laranja (Figuras 4C e 4D) foi possível observar que 85% das visitas foi realizada pela fêmea e, apenas em uma ocasião, o casal foi visto forrageando junto.

Não foram observados encontros agonísticos (padrão comportamental ligado a disputas corporais, incluindo posturas de agressão, submissão, subordinação e conciliação) interespecíficos ou intraespecíficos. No entanto, um fato a ser registrado é que nos longos períodos que o sabiá-laranjeira permanecia sob ou no interior das copas da espinheira-santa, pousado ou se alimentando, a visitação das demais espécies diminuía, principalmente do sanhaço-cinzento e de guaracava, aves mais frequentes. Os encontros agonísticos podem interferir negativamente no processo de dispersão (FRANCISCO; GALETTI, 2001). Neste sentido a permanência de sabiá-laranjeira por longo tempo sob as plantas pode ter influenciado na diminuição de visitas das outras espécies neste período. No entanto, como estes episódios foram isolados, não afetaram o processo de dispersão na espécie.

3.4 Conclusões

A espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) é uma espécie generalista quanto ao processo de polinização e dispersão. A polinização dessa espécie é realizada por insetos (polinização entomófila) e a dispersão das sementes é feita por aves (dispersão ornitocórica).

Os polinizadores são as moscas, com destaque para *Lucilia eximia* e *Limnophora* sp., e as vespas, com destaque para *Brachygastra melifica*, *Polistes canadensis* e uma espécie da família Tiphidae.

Dentre as aves, o sanhaço-cinzento (*Tangara sayaca*), o guaracava (*Elaenia* sp.) e o sanhaço-papa-laranja (*Pipraeidea bonariensis*) se destacaram como dispersores de sementes dessa espécie.

4. Considerações finais

O presente trabalho contribui para o avanço do conhecimento sobre a biologia reprodutiva de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*). As características da biologia floral e reprodutiva dessa espécie indicam a ocorrência de um processo evolutivo intermediário, entre o hermafroditismo e a dioicéia. Alguns aspectos podem ser resquícios do hermafroditismo: a presença de flores hermafroditas em plantas funcionalmente masculinas, o longo período de duração das flores, a assincronia na liberação de pólen e receptividade do estigma em algumas flores. Outros aspectos, por sua vez, podem ser relacionados à dioicéia: a redução no número de óvulos nas flores funcionalmente masculinas e a ausência ou redução dos grãos de pólen nas flores funcionalmente femininas, o sistema de cruzamento alógamo, a ocorrência de sincronia no amadurecimento dos órgãos reprodutivos na maioria das flores funcionalmente femininas e masculinas, e a produção de maior número de flores funcionalmente masculinas por inflorescência e por indivíduo.

A espinheira-santa necessita de polinizadores para realizar a transferência de pólen entre flores funcionalmente femininas e funcionalmente masculinas, por ser uma espécie funcionalmente dioica. As moscas e as vespas são os polinizadores dessa espécie. Por possuir flores pequenas, de coloração pouco atrativa, algumas características da biologia floral e da biologia reprodutiva da espinheira-santa atuam na facilitação da atração dos polinizadores e, conseqüentemente, na polinização cruzada e no sucesso reprodutivo: o grande número de flores funcionalmente masculinas e femininas em antese floral ao mesmo tempo e por longo período de tempo garantindo o sucesso reprodutivo, a semelhança das flores femininas e masculinas que possibilita a identificação pelos insetos, e a sincronia na antese floral das plantas funcionalmente femininas e das plantas funcionalmente masculinas.

As sementes da espinheira-santa são dispersas por aves. Se destacam o sanhaço-cinzento (*Tangara sayaca*), o guaracava (*Elaenia* sp.) e o sanhaço-papalaranja (*Pipraeidea bonariensis*) por apresentarem maior potencial de dispersão, maior agilidade, maior número de táticas de coleta e maior consumo de diásporos, realizando visitas rápidas e eficientes.

Embora o trabalho não tenha tido objetivo de fazer comparações entre as áreas onde o Banco Ativo de Germoplasma de Espinheira-Santa está instalado, percebeu-se que a produção de frutos e, conseqüentemente, de sementes foi maior

no Câmpus Pelotas - Visconde da Graça. Este fato revela uma baixa efetividade da polinização, ao menos naquele ano, na Estação Experimental Cascata. Existe uma maior oferta de outras plantas em floração na Estação Experimental Cascata, na mesma época de floração de *M. ilicifolia*. Isto pode ter contribuído para diminuir a atuação dos polinizadores na espinheira-santa, uma vez que estes foram observados em grande número visitando as flores das espécies de plantas nativas próximas ao Banco de Germoplasma. Pensando em critérios mais adequados de conservação e no manejo do germoplasma de espinheira-santa, e considerando que a área do Câmpus Pelotas - Visconde da Graça é de fácil e rápido acesso, propõem-se que as plantas da Estação Experimental Cascata sejam transferidas para a área do Câmpus Pelotas - Visconde da Graça. Desta forma o Banco ficaria instalado em uma única área, facilitando também estudos futuros e a conservação *ex situ*.

Referências

- ALMEIDA, C.; BARBIERI, R. L.; RIBEIRO, M. V.; LOPES, C. V.; HECK, R. M. Espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss.): saber de erveiros e feirantes em Pelotas (RS). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 722-729, 2015.
- ATHIÊ, S.; DIAS M. M. Frugivoria e dispersão de sementes por aves em *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) na região centro-leste do Estado de São Paulo, **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 13, p. 70-86, 2011.
- BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; OTOFUJI, G. M.; CIPRIANI, T. R.; SOUZA, L. M.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M.; MARQUES, M. C.; MESIA-VELA, S. Flavonoid-rich fraction of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek protects the gastric mucosa of rodents through inhibition of both H⁺,K⁺ -ATPase activity and formation of nitric oxide. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 3, p. 433-40, 2007.
- BARBIERI, R. L. Conservação e uso de recursos genéticos vegetais. In: FREITAS, L. B.; BERED, F. (Orgs.). **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre: UFRGS, 2003. p. 403-413.
- BARBIERI, R. L.; GOMES, J. C. C.; ALERCIA, A.; PADULOSI, S. Agricultural Biodiversity in Southern Brazil: Integrating Efforts for Conservation and Use of Neglected and Underutilized Species. **Sustainability**, v. 6, n. 2, p. 741-757, 2014.
- BARRETT, S. C. H.; HOUGH, J. Sexual dimorphism in flowering plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 1, p. 67-82, 2013.
- BARROS, E. C. O.; WEBER, L. C.; MACHADO, I. C. Limitação de polinizadores e mecanismo de autoincompatibilidade de ação tardia como causas da baixa formação de frutos em duas espécies simpátricas de *Inga* (Fabaceae - Mimosoideae) na Amazônia Central. **Rodriguésia**, v. 64, n. 1, p. 37-47, 2013.
- BATTISTI, C.; GARLET, T. M. B.; ESSI, L.; HORBACH, R. K.; ANDRADE, A.; BADKE, M. R. Plantas medicinais utilizadas no município de Palmeira das Missões, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 3, p. 338-348, 2013.
- BAWA, K. S. Evolution of dioecy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 11, p. 15-39, 1980.

BAWA, K. S.; OPLER, P. A. Dioecism in tropical forest trees. **Evolution**, v. 29, n. 1, p. 167-179, 1975.

BELO, R. M.; NEGREIROS, D.; FERNANDES, G. W.; SILVEIRA, F. A. O.; RANIERI, B. D.; MORELLATO, P. C. Fenologia reprodutiva e vegetativa de arbustos endêmicos de campo rupestre na Serra do Cipó, Sudeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 64, n. 4, p. 817-828, 2013.

BENCKE, C. S. C.; MORELLATO, L. P. C. Estudo comparativo da fenologia de nove espécies arbóreas em três tipos de floresta atlântica no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 3, p. 237-248, 2002.

BFG. The Brazil Flora Group. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015.

BIRAL, L.; SMIDT, E. C.; BOLSON, M.; LOMBARDI, J. A. A new species of *Maytenus* (Celastraceae) from the Brazilian Atlantic Forest, with evidence of molecular phylogeny, and two new synonyms for *Maytenus floribunda*. **Phytotaxa**, v. 231, n. 1, p. 053-062, 2015.

BRASIL. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira**. Brasília: ANVISA, 2016b. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/2909630/Memento+Fitoterapico/a80ec477-bb36-4ae0-b1d2-e2461217e06b>>. Acesso em: 12 jun. 2017.

BRASIL. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Notificação de drogas vegetais**. Resolução – RDC Nº 10 de 09 de março de 2010. Brasília: ANVISA, 2010. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/ANVISA/2010/anexo/anexo_res0010-09_03_2010.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2017.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. **Sistema de informação sobre a biodiversidade brasileira**. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações, 2017a. Disponível em: <<http://www.sibbr.gov.br/areas/?area=biodiversidade>>. Acesso em: 05 mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plantas de interesse ao SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/07/renisus.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação de fitoterápicos oferecidos pelo SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2012/11/sus-tem-fitoterapicos-para-doencas-simples/relacao-de-fitoterapicos-oferecidos-pelo-sus/view>>. Acesso em: 12 jun. 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Quarto Relatório Nacional para a Convenção Sobre Diversidade Biológica**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2011. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008_dcbio/_arquivos/quarto_relatorio_147.pdf>. Acesso em: 05 fev. 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Quinto relatório nacional para a Convenção Sobre Diversidade Biológica**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2016a. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/informma/item/10772-quinto-relat%C3%B3rio>>. Acesso em: 05 fev. 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Unidades de conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2017b. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/areas-protegidas/unidades-de-conservacao>>. Acesso em: 10 mar. 2017.

CALVI, G. P.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Fenologia e produção de sementes de *Euterpe edulis* MART em trecho de floresta de altitude o município de Miguel Pereira - RJ. **Revista Universidade Rural**, v. 25, n. 1, p. 22-40, 2005.

CARLINI, E. A. **Estudo da ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras: *Maytenus ilicifolia* (Espinheira-santa) e outras**. Brasília: CEME/AFIP, 1988. 87 p.

CARVALHO, C. J. B.; MOURA, M. O.; RIBEIRO, P. B. Chave para adultos de dípteros (Muscidae, Fanniidae, Anthomyiidae) associados ao ambiente humano no Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 46, n. 2, p. 107-144, 2002.

CARVALHO-OKANO, R. M. **Estudos taxonômicos do gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (Celastraceae) do Brasil extra-amazônico**. 1992. 316 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.

CARVALHO-OKANO, R. M.; LEITÃO FILHO, H. F. G. O gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (Celastraceae) no Brasil extra-amazônico. In: REIS, M. S.; SILVA, S. R. (Orgs.). **Conservação e uso sustentável de plantas medicinais e aromáticas: *Maytenus* spp., espinheira-santa**. Brasília: Ibama, 2004. p. 11-51.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 627p.

CAZETTA, E.; RUBIM, P.; LUNARDI, V. D.; FRANCISCO, M. R.; GALETTI, M. Frugivoria e dispersão de sementes de *Talauma ovata* (Magnoliaceae) no sudeste brasileiro. **Ararajuba**, v. 10, n. 2, p. 199-206, 2002.

CELASTRACEAE in Flora do Brasil 2020 em construção. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB82>>. Acesso em: 12 jun. 2017.

CESÁRIO, L. F.; GAGLIANONE, M. C. Biologia Floral e fenologia reprodutiva de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em Restinga do Norte Fluminense. **Acta Botânica Brasílica**, v. 22, n. 3, p. 828-833, 2008.

CHARLESWORTH, D. Plant sex determination and sex chromosomes. **Heredity**, v. 88, n. 2, p. 94–101, 2002.

CHEN, S. L.; YU, H.; LUO, H. M.; WU, Q.; LI, C. F.; STEINMETZ, A. Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. **Chinese Medicine**, v. 11, n. 37, p. 1-10, 2016.

COPPEDE, J. S.; PINA, E. S.; PAZ, T. A.; FACHIN, A. L.; MARINS, M. A.; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Cell cultures of *Maytenus ilicifolia* Mart. are richer sources of quinone-methide triterpenoids than plant roots in natura. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 118, n. 1, p. 33-43, 2014.

COSTA, R. P. C.; GUIMARÃES, A. L. A.; VIEIRA, A. C. M. Avaliação da qualidade de amostras de plantas medicinais comercializadas no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 35, n. 3, p. 425-433, 2014.

COSTA, T. R.; MOURA, C. C.; MACHADO, E. L. M.; GONZAGA, A. P. D.; TITON, M. Fenologia reprodutiva de *Lychnophora pohlii* Sch. Bip. (Asteraceae) em área de campo rupestre, Diamantina, MG. **Heringeriana**, v. 10, n. 1, p. 23-34, 2017.

CRUDEN, R. W.; HERMANN, S. M.; PETERSON, S. Patterns of néctar production and plant-pollinator coevolution. In: BENTLEY, B.; ELIAS, T. (Eds.). **The biology of nectaries**. New York: Columbia University Press, 1983. p. 80-125.

DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R.; CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4-29, 2016.

EMBRAPA. Plataforma Nacional de Recursos Genéticos. **Bancos Ativos de Germoplasma de Espécies Medicinais, Aromáticas, Corantes e Inseticidas**. 2017. Disponível em: <<http://plataformarg.cenargen.embrapa.br/rede-vegetal/projetos-componentes/pc7-bancos-ativos-de-germoplasma-de-especies-medicinais-aromaticas-corantes-e-inseticidas>>. Acesso em: 10 de fev. de 2017.

ENDRESS, P. K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. 528 p.

FADINI, R. F.; MARCO JR. P. Interações entre aves frugívoras e plantas em um fragmento de mata atlântica de Minas Gerais. **Ararajuba**, v. 12, n. 2, p. 97-103, 2004.

FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. **Principles of pollination ecology**. 3 ed. London: Pergamon Press, 1979. 244 p.

FARIA, R. A. P. G.; COELHO, M. F. B.; FIGUEIREDO, M. C. A.; AZEVEDO, R. A. B. Fenologia de *Brosimum gaudichaudii* Trécul. (Moraceae) no cerrado de Mato Grosso. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 1, p. 67-75, 2015.

FERNANDES, M. M.; VENTURIERI, G. C.; JARDIM, M. A. G. Biologia, visitantes florais e potencial melífero de *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae) na Amazônia Oriental. **Revista de Ciências Agrárias**, n. 55, n. 3, p. 167-175, 2012.

FOURNIER, L. A. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. **Turrialba**, v. 25, n. 4, p. 422-423, 1974.

FRANCESCHINELLI, E. V.; CARMO, R. M.; SILVA NETO, C. M.; MESQUITA NETO, J. N. Functional dioecy and moth pollination in *Cabralea canjerana* subsp. *canjerana* (Meliaceae). **Darwiniana**, v. 3, n. 1, p. 96-107, 2015.

FRANCISCO, M. R.; GALETTI, M. Aves como potenciais dispersoras de sementes de *Ocotea pulchella* Mart. (Lauraceae) numa área de vegetação de cerrado do sudeste brasileiro. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 1, p. 11-17, 2002.

- FRANCISCO, M. R.; GALETTI, M. Frugivoria e dispersão de sementes de *Rapanea lancifolia* (Myrsinaceae) por aves numa área de cerrado do Estado de São Paulo, sudeste do Brasil. **Ararajuba**, v. 9, n. 1, p.13-19, 2001.
- FREEMAN, D. C.; DOUST, J. L.; EL-KEBLAWI, A.; MIGLIA, K. J.; MCARTHUR, E. D. Sexual specialization and inbreeding avoidance in the evolution of dioecy. **The Botanical Review**, v. 63, n. 1, p. 65-92, 1997.
- FUZETO, A. P.; BARBOSA, A. A. A.; LOMÔNOCO, C. *Cabralea canjerana* subsp. *polytricha* (Adri. Juss.) Penn. (Meliaceae), a dioecy specie. **Acta Botânica Brasílica**, v. 15, n. 2, p. 167-175, 2001.
- GALETTI, M.; GUIMARÃES JR, P. R. Seed dispersal of *Attalea phalerata* (Palmae) by Crested caracaras (Caracara plancus) in the Pantanal and a review of frugivory by raptors. **Ararajuba**, v. 12, n. 2, p. 133-135, 2004.
- GENTRY, A. H. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. **Biotropica**, v. 6, n.1, p. 64-68, 1974.
- GONÇALVES, E. G.; LORENZI, H. **Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2007. 416 p.
- GONÇALVES, V. F.; SILVA, A. M.; BAESSE, C. Q.; MELO, C. Frugivory and potential of birds as dispersers of *Siparuna guianensis*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 2, p. 300-304, 2015.
- GUSSON, E.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em populações de *Eschweilera ovata* (Cambess.) Miers. **Revista Árvore**, v. 30, n. 4, p. 491-502, 2006.
- JESUS, W. M. M.; CUNHA, T. N. Estudo das propriedades farmacológicas da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) e de duas espécies adulterantes. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 1, n. 1, p. 20-46, 2012.
- JORDANO, P.; SCHUPP, E. W. Determinants of seed disperser effectiveness: the quantity component and patterns of seed rain for *Prunus mahaleb*. **Ecological Monographs**, v. 70, n. 4, p. 591-615, 2000.

JORGE, R. M.; LEITE, J. P. V.; OLIVEIRA, A. B.; TAGLIATI, C. A. Evaluations of antinociceptive, anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 93-100, 2004.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 612p.

KATI, V.; DEVILLERS, P.; DUFRENE, M.; LEGAKIS, A.; VOKOU, D.; LEBRUN, P. Hotspots, complementarity or representativeness? Designing optimal small-scale reserves for biodiversity conservation. **Biological Conservation**, v.120, p.471-480, 2004.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for Pollination Biologists**. Niwot: University Press of Colorado, 1993. 583 p.

KOCH, R. L. The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: a review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. **Journal of Insect Science**, v.3, p.1-13, 2003.

KORPELAINEN, H. Labile sex expression in plants. **Biological Reviews**, v. 73, n. 2, p. 157-180, 1998.

KOWALSKI, A. P. J.; SIGNOR, D.; MACHADO, E. M.; BIAISI, L. A.; LIMA, D. M. Influência da qualidade da semente e do tipo de substrato na formação de mudas de espinheira-santa. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 1, p. 15-20, 2008.

KUDO, G. Flowering phenologies of animal-pollinated plants: reproductive strategies and agents of selection. In: L. D. HARDER, L. D.; BARRETT, S. C. H. (Eds). **Ecology and Evolution of Flowers**. New York: Oxford University Press, 2006. p. 139-158.

KUJAWSKA, M.; HILGERT, N. I.; KELLER, H. A.; GIL, G. (2017) Medicinal plant diversity and inter-cultural interactions between Indigenous Guarani, *Criollos* and Polish Migrants in the Subtropics of Argentina. **PLOS ONE**, v. 12, n. 1, p. 01-21, 2017.

LEME, T. S. V.; PRANDO, T. B. L.; GASPAROTTO, F. M.; SOUZA, P.; CRESTANI, S.; SOUZA, L. M.; CIPRIANI, T. R.; LOURENÇO, E. L. B.; GASPAROTTO JUNIOR, A. Role of prostaglandin/Camp pathway in the diuretic and hypotensive effects of purified fraction of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (Celastraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 1, p. 154-161, 2013.

LENZA, E.; OLIVEIRA, P. E. Biologia reprodutiva de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anacardiaceae), uma espécie dioica em mata de galeria do Triângulo Mineiro, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n.1, p. 179-190, 2005.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 17, n. 2, p. 67-89, 2004.

LIEBSCH, D.; MIKICH, S. B. Fenologia reprodutiva de espécies vegetais da Floresta Ombrófila Mista do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 2, p. 375-391, 2009.

LIETH, H. Introduction to phenology and the modeling of seasonality. In: H. LIETH (ed.). **Phenology and seasonality modeling**. Berlin: Springer, 1974. p. 3-19.

MACEDO, R. S.; CARRARO, V. M.; ESPINDOLA, C. B.; CABRAL, M. M. O. Ocorrência de Dípteros Muscóides (Calliphoridae) no Município de Vassouras, RJ. **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 4, n. 1, p. 5-16, 2011.

MACHADO, L. O. M.; ROSA, G. A. B. Frugivoria por aves em *Cytherexylum myrianthum* cham (Verbenaceae) em áreas de pastagens de Campinas, SP. **Ararajuba**, v. 13, n. 1, p. 113-115, 2005.

MALYSZ, M.; ZANIN, E. M. Floração, frutificação e biologia floral em *Maytenus muelleri* Swacke. **Perspectiva**, v. 35, n. 129, p. 45-52, 2011.

MARCHIORETTO, M. S.; MAUHS, J.; BUDKE, J. C. Fenologia de espécies arbóreas zoocóricas em uma floresta psamófila no sul do Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 21, n. 1, p. 193-201, 2006.

MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L.; CORRÊA, F.; BENTO, L. H. G. Variabilidade genética para caracteres morfológicos e fisiológicos em espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. e *M. aquifolium* Mart.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 3, p. 310-316, 2009.

MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L. Divergência genética entre acessos de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek e *M. aquifolium* Mart.) com base em caracteres morfológicos e fisiológicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.3, p.243-249, 2010.

MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L. O conhecimento popular associado ao uso da Espinheira-Santa (*Maytenus ilicifolia* e *M. aquifolium*). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl.1, p. 666-668, 2007.

MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L.; SINIGAGLIA, C.; RIBEIRO, M. V. Variabilidade em matrizes de acessos de espinheira-santa. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 351-357, 2008.

MARIOT, M. P. **Recursos genéticos de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*) no Rio Grande do Sul**. 2005. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2005.

MARQUES, M. C. M.; ROPER, J. J.; SALVALAGGIO, A. P. B. Phenological patterns among plant lifeforms in a subtropical forest in southern Brazil. **Plant Ecology**, v. 173, n. 2, p. 203-213, 2004.

MAUÉS, M. M.; COUTURIER, G. Biologia floral e fenologia reprodutiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 4, p. 441-448, 2002.

MAZZA, M. C. M.; SANTOS, J. E.; MAZZA, C. A. S. Fenologia reprodutiva de *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) na Floresta Nacional de Irati, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, n. 4, p. 565-574, 2011.

MCKENNA, M. J.; SIMMONS, M. P.; BACON, C. D.; LOMABARDI, J. A. Delimitation of the segregation genera of *Maytenus*. **Systematic Botany**, v. 36, n. 4, p. 922–933, 2008.

MEIRELES, A. C.; ALMEIDA, D. J.; SILVA, T. R.; QUIRINO, Z. G. M. Fenologia reprodutiva de *Periandra mediterranea* (VELL.) TAUB. (Fabaceae) na Reserva Biológica Guaribas, Paraíba, Brasil. **Gaia Scientia**, v. 9, n. 1, p. 141-145, 2015.

MILLÉO, J.; FARAGO, T. L. B.; SOUZA, J. M. T.; BARBOLA, I. F.; CASTRO, J. P. Entomofauna asociada a flores de berenjena y su papel en la producción de los frutos. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 70, n. 1-2, p. 17-25, 2011.

MOERMOND, T. C.; DENSLOW, J. S. Neotropical avian frugivores: patterns of behavior, morphology, and nutrition, with consequences for fruit selection. **Ornithological Monographs**, v. 36, p. 865-897, 1985.

MORELLATO, L. P. C.; TALORA, D. C.; TAKAHASI, A.; BENCKE, C. C.; ROMERA, E. C.; ZIPPARRO, V. B. Phenology of Atlantic Rain Forest trees: a comparative study. **Biotropica**, v. 32, n. 4b, p. 811-823, 2000.

MORENO, J. A. **Clima do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1961. 42 p.

MOTTA-JÚNIOR, J. C. Estrutura trófica e composição das avifaunas de três habitats terrestres na região central do Estado de São Paulo. **Ararajuba**, v. 1, p. 65-71, 1990.

NADIA, T. L.; MACHADOLL, I. C.; LOPES, A. V. Fenologia reprodutiva e sistema de polinização de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae): atuação de *Apis mellifera* e de visitantes florais autóctones como polinizadores. **Acta Botânica Brasileira**, v. 21, n. 4, p. 835-845, 2007.

NASCIMENTO, V. T.; LACERDA, E. U.; MELO, J. G.; LIMA, C. S. A.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Controle de qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializados na cidade do Recife-PE: erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus* spp.), espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n. 3, p. 56-64, 2005.

NEGRELLE, R. R. B.; DONI, M. E.; OHLSON, O. C.; HERR, S. Tecnologia de produção de sementes de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. - Celastraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 1, p. 76-81, 1999.

NUNES-SILVA, P.; ROSA, J. M.; WITTER, S.; SCHLEMMER, L. M.; HALINSKI, R.; RAMOS, J. D.; ARIOLI, C. J.; BLOCHTEIN, B.; BOTTON, M. **Visitantes florais e potenciais polinizadores da cultura da macieira**. Bento Gonçalves, 2016. 16 p.

OHASHI, K.; YAHARA, T. Behavioral responses of pollinators to variation in floral display size and their influences on the evolution of floral traits. In: CHITTKA, L.; THOMSON, J. D. (Eds). **Cognitive ecology of pollination**. New York: Cambridge University Press, 2001. p. 273-296.

OTÁROLA, M. F.; ROCCA, M. A. Flores no tempo: a floração como uma fase da fenologia reprodutiva. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. (Orgs.). **Biologia da Polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014. p. 113-126.

PASCOTTO, M. C. Avifauna dispersora de sementes de *Alchornea glandulosa* (Euphorbiaceae) em uma área de mata ciliar no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 14, n. 3, p. 291-296, 2006.

PASCOTTO, M. C. *Rapanea ferruginea* (Ruiz & Pav.) Mez. (Myrsinaceae) como uma importante fonte alimentar para as aves em uma mata de galeria no interior do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 3, p. 735-741, 2007.

PEREIRA, R. A. S. Polinização por vespas. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. (Orgs.). **Biologia da Polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014. p. 291-309.

PIACENTINI, V. Q.; ALEIXO, A.; AGNE, C. E.; MAURICIO, G. N.; PACHECO, J. F.; BRAVO, G. A.; BRITO, G. R. R.; NAKA, L. N.; OLMOS, F.; POSSO, S.; SILVEIRA, L. F.; BETINI, G. S.; CARRANO, E.; FRANZ, I.; LEES, A. C.; LIMA, L. M.; PIOLI, D.; SCHUNCK, F.; AMARAL, F. R.; BENCKE, G. A.; COHN-HAFT, M.; FIGUEIREDO, L. F. A.; STRAUBE, F. C.; CESARI, E. Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 23, n.2, p. 91-298, 2015.

PINHEIRO, M.; GAGLIANONE, M. C.; NUNES, C. E. P.; SIGRIST, M. R.; SANTOS, I. A. Polinização por abelhas. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. (Orgs.). **Biologia da Polinização**. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014. p. 205-233.

PIZO, M. A. Seed dispersal and predation in two populations of *Cabralea canjerana* (Meliaceae) in the Atlantic Forest of southeastern Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 13, n. 4, 559-578, 1997.

PRATT, T. K.; STILES, E. W. How long fruit-eating birds stay in the plants where they feed: implications for seed dispersal. **The American Naturalist**, v. 122, n. 6, p. 797-805, 1983.

RADOMSKI, M. I.; BULL, L. T. Caracterização ecológica e fitoquímica de quatro populações naturais de *Maytenus ilicifolia* no Estado do Paraná. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 30, n. 61, p. 01-16, 2010.

RADOMSKI, M. I.; PERECIN, M. B.; STEENBOCK, W. Aspectos ecológicos de espécies de espinheira-santa. In: REIS, M. S.; SILVA, S. R. (Orgs.). **Conservação e uso sustentável de plantas medicinais e aromáticas: *Maytenus* spp.**, espinheira-santa. Brasília: Ibama, 2004. p. 93-114

RAMOS, W. M.; SARTORI, A. L. B. Floristic analysis and dispersal syndromes of woody species of the Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 73, n. 1, p. 67-78, 2013.

RANIERI, B. D.; NEGREIROS, D.; LANA, T. C.; PEZZINI, F. F.; FERNANDES, G. W. Fenologia reprodutiva, sazonalidade e germinação de *Kielmeyera regalis* Saddi (Clusiaceae), espécie endêmica dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 632-641, 2012.

RENNER, S. S.; RICKLEFS, R. E. Dioecy and its correlates in the flowering plants. **American Journal of Botany**, v. 82, n. 5, p.596-606, 1995.

RIBEIRO, M. V.; BIANCHI, V. J.; RODRIGUES, I. C. S.; MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Diversidade genética entre acessos de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss.) coletados no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, n. 4, p. 443-451, 2010.

ROCCA, M. A.; SAZIMA, M. The dioecious, sphingophilous species *Citharexylum myrianthum* (Verbenaceae): Pollination and visitor diversity. **Flora**, v. 201, p. 440-450, 2006.

RODARTE, A. T. A.; SILVA, F. O.; VIANA, B. F. A flora melitófila de uma área de dunas com vegetação de caatinga, Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 301-312, 2008.

ROTTENBERG, A. Sex ratio and gender stability in the dioecious plants of Israel. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 128, n. 2, p. 137-148, 1998.

SCALON, S. P. Q.; RAMOS, M. B. M.; VIEIRA, M. C. Germinação de sementes de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss: armazenamento, embalagens e tratamentos pré-germinativos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 7, n. 2, p. 32-36, 2005.

SCHEFFER, M. C.; CORRÊA JÚNIOR, C.; RADOMSKI, M. I. **Cultivo e beneficiamento da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss – Celastraceae)**. Curitiba: Instituto Emater/MDA, 2009. 40 p.

SCHEFFER, M. C. **Sistema de cruzamento e variação genética entre populações e progênies de espinheira-santa**. 2001. 104 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal - Silvicultura). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

SCHÖFFEL, E. R.; STEINMETZ, S.; LUZ, L. O. F.; SILVA, P. R. G.; MIORI, P. R. B. **Estação agroclimatológica de Pelotas (Capão do Leão)**. Disponível em: <<http://agromet.cpact.embrapa.br/estacao/>>. Acesso em: 20 de agosto de 2016.

SCHUPP, E. W. Quantity, quality and the effectiveness of seed dispersal by animals. **Vegetatio**, v. 107-108, n. 1, p. 15-30, 1993.

SEVERINO, L. S.; SILVA, M. I. L.; FARIAS, V. A.; BELTRÃO, N. E. M.; CARDOSO, G. D. C. Expressão sexual da mamoneira influenciada por adubação e cloreto de mepiquat. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 3, p. 339-344, 2006.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 912 p.

SIEGEL, P.; GASPI, F. O.; SALERNO, V.; LIMA, C. S. P.; STEPHAN, C.; BARROS, N. F. Medicinal herbs for cancer patients undergoing chemotherapy in a Brazilian hospital – An exploratory study. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 8, n. 4, p. 478-483, 2016.

SOBRAL, M.; JARENKOW, J. A.; BRACK, P.; IRGANG, B.; LAROCCA, J.; RODRIGUES, R. S. **Flora arbórea e arborescente do Rio Grande do Sul**. São Carlos: RiMa, 2013. 357 p.

SOMAVILLA, A.; SÜHS, R. B.; KÖHLER, A. Entomofauna associada à floração de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 6, p. 956-965, 2010.

SOUZA-FORMIGONI, M. A. O.; OLIVEIRA, M. G. M.; MONTEIRO, M. G.; SILVEIRA-FILHO, N. G.; BRAZ, S.; CARLINI, E. A. Antiulcerogenic effects of two *Maytenus* species in laboratory animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 34, n. 1, p. 21-27, 1991.

STEENBOCK, W. **Fundamentos para o manejo de populações naturais de espinheira-santa, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. (Celastraceae)**. 2003. 145 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

STEENBOCK, W.; REIS, M. S. Manejo sustentável de populações naturais de espinheira-santa. In: REIS, M. S.; SILVA, S. R. (Orgs.). **Conservação e uso sustentável de plantas medicinais e aromáticas: *Maytenus* spp., espinheira-santa**. Brasília: Ibama, 2004. p. 145-162.

STOLZ, E. D.; MÜLLER, L. G.; TROJAN-RODRIGUES, M.; BAUMHARDT, E.; RITTER, M. R.; RATES, S. M. K. Survey of plants popularly used for pain relief in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p. 185-196, 2014.

SÜHS, R. B.; SOMAVILLA, A.; KÖHLER, A.; PUTZKE, J. Vespídeos (Hymenoptera, Vespidae) vetores de pólen de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), Santa Cruz do Sul, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 2, p. 138-143, 2009.

VILLELA, J. C. B.; BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M.; NEITZKE, R. S.; VASCONCELOS, C. S.; CARBONARI, T.; MISTURA, C. C.; PRIORI, D. Caracterização molecular de pimentas crioulas (*Capsicum baccatum*) com marcadores microssatélites. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 131-137, 2014.

WILLMER, P. **Pollination and floral ecology**. Princeton: Princeton University Press, 2011. 778 p.

WILLSON, M. F.; THOMPSON, J. N. Phenology and ecology of color in bird-dispersed fruits, or why some fruits are red when they are 'green'. **Canadian Journal of Botany**, v. 60, n. 5, p. 701-713, 1982.

YAMAMOTO, L. F.; KINOSHITA, L. S.; MARTINS, F. R. Síndromes de polinização e de dispersão em fragmentos da Floresta Estacional Semidecídua Montana, SP, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 21, n. 3 p. 553-573, 2007.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall, 1999. 663 p.