

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Curso de Ciências Biológicas – Bacharelado



Trabalho de Conclusão de Curso

**Biologia reprodutiva de *Justicia brasiliensis* Roth (Acanthaceae) no
extremo Sul do Brasil**

Giovanna Boff Padilha

Pelotas, 2017

Giovanna Boff Padilha

Biologia reprodutiva de *Justicia brasiliiana* Roth (Acanthaceae) no extremo Sul do Brasil

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Raquel Lüdtkke

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P123b Padilha, Giovanna Boff

Biologia reprodutiva de *Justicia brasiliana* Roth
(Acanthaceae) no extremo sul do Brasil / Giovanna Boff
Padilha ; Raquel Lüdtke, orientadora. — Pelotas, 2017.

36 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em
Ciências Biológicas) — Instituto de Biologia, Universidade
Federal de Pelotas, 2017.

1. Polinização. 2. Rio Grande do Sul. 3. Sistema de
cruzamento. 4. Reprodução. 5. Bioma pampa. I. Lüdtke,
Raquel, orient. II. Título.

CDD : 577.098165

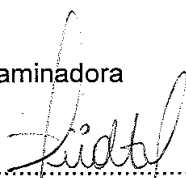
Giovanna Boff Padilha

**Biologia reprodutiva de *Justicia brasiliiana* Roth (Acanthaceae) no
extremo Sul do Brasil**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

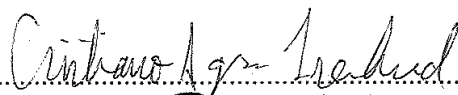
Data da Defesa: 14/02/2017

Banca examinadora

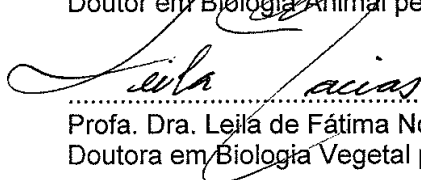


.....
Prof. Dra. Raquel Lüdtkke (Orientadora)
Doutora em Botânica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

.....
Mestre Nathália Susin Streher
Mestre em Biologia Vegetal pela Universidade Estadual de Campinas



.....
Prof. Dr. Cristiano Agra Iserhard
Doutor em Biologia Animal pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul



.....
Prof. Dra. Leila de Fátima Nogueira Macias (Suplente)
Doutora em Biologia Vegetal pela Universidade Estadual de Campinas

Dedico o presente trabalho à *Justicia brasiliiana* e demais espécies que, por tantas vezes, são desmerecidas aos olhos humanos.

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a vida. Suas idas e vindas, altos e baixos, me trouxeram onde eu realmente queria estar: aqui!

Agradeço à minha família por acreditar em mim. Minha mãe que por tantas vezes, mesmo sentindo saudade, me incentivou e nunca me permitiu desistir e voltar para casa. Ao meu pai que nesses anos trabalhou dobrado e me ensinou que tudo que quero deve depender só de mim para ser conquistado. À minha irmã (que mesmo sendo meia, vale mais do que duas) por ser sempre um pouco mãe, um pouco pai. E à Drica, que mesmo sem entender o porquê da minha partida, sempre comemorou o meu retorno.

Aos meus avós, tios, primos e primas que compreenderam minha ausência no dia-a-dia ou naquelas comemorações que, por motivos óbvios, não estive presente, mas sempre fui lembrada. Ou, então, pela motivação que me deram na hora do embarque no final de cada uma das férias e pelo abraço cheio de saudade toda vez que retornei.

Aos meus amigos de Vacaria que sempre deram um jeito de me encaixar na rotina quando viajava para casa ou me deixaram participar das festas através de áudios pelo celular.

Aos amigos que conheci em Pelotas. Com os quais vivi os melhores anos da minha vida, pelo menos até então. Obrigada por todos os momentos, mesmo os de pânico que antecederam provas, como as justas comemorações que abriram e/ou finalizaram semestres.

À Renata (Rê, Rêzi, Renatinha) pela irmandade construída durante esses cinco anos, onde dois seres tão diferentes se completaram de uma forma inexplicável e construíram uma amizade incrível. Agradeço por estarmos juntas em todas nossas conquistas e respectivas comemorações. Obrigada por todo o auxílio, tenha sido ele em campo ou na vida.

À Júlia por toda a parceria que formamos aqui, com discussões bastante produtivas devido ao nosso ponto de vista tão parecido e, ao mesmo tempo, tão diferente. Além das risadas tão longas durante toda a graduação.

Ao Pedro por toda paciência, amizade e sinceridade. Pelas vezes que acreditou que eu conseguiria, pelos momentos de descontração e também pelas

discussões causadas por superproteção.

À Kelli e Alana que durante o período que moramos juntas sempre se mostraram dispostas a me ouvir, rir e trocar os dias de limpeza do apartamento quando era inviável para a responsável da semana dar conta de tudo.

À Margot por compreender meus dias de ausência mesmo estando presente. E ao Renan por ter permitido conhecê-la.

À UFPel por me conceder a oportunidade de ensino e crescimento pessoal.

Aos meus professores, em especial aos pertencentes do Instituto de Biologia, que sempre foram bastante profissionais e, ao mesmo tempo, amigos tão engraçados.

Ao Zefa que abriu as portas do laboratório para realizar etapas do TCC, bem como na minha primeira iniciação científica e me ensinou valores profissionais que levarei para sempre comigo.

À Professora Giselda (Prof. Gi) pelo auxílio e paciência nas análises de dados do trabalho.

À Professora Vera pelo espaço cedido na Sala de Crescimento para germinar as sementes.

Às meninas do laboratório mais feminino (LabFan) pelo espaço de aprendizado e troca de experiências, além de muitas risadas. Em especial à Nathi que foi exemplo, auxílio e inspiração na decisão do tema do TCC.

À professora/mãe/amiga Leila que, antes de eu mesma, já me enxergava com os “olhos de ver”. Minha primeira motivadora botânica.

À Raquel. Professora Raquel. Orientadora Raquel. Amiga Raquel. Mãe Botânica Raquel. Obrigada pelo investimento de tempo em explicações acerca do conteúdo, do acompanhamento no campo, da motivação diária e das cobranças. Te admiro como profissional, mãe, profissional e pessoa, principalmente. Obrigada pelo exemplo. Embora parecidas, ainda tenho muito para crescer e me tornar teu reflexo, ou seja, ótima.

E, por fim, obrigada *Justicia brasiliiana!*

*Quando eu flor
Quando tu flores
E ele flor
Nós flores seremos
E o mundo florescerá!
(BRACONNOT, S.)*

Resumo

PADILHA, Giovanna Boff. **Biologia reprodutiva de *Justicia brasiliana* Roth (Acanthaceae) no extremo Sul do Brasil**. 2017. 36f. Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas – Bacharelado, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

O sistema reprodutivo envolve processos que objetivam a perpetuação de espécies e está associado à história evolutiva das mesmas. Plantas de reprodução sexuada dependem de um vetor, biótico ou abiótico, que transporte os grãos de pólen até a outra flor de maneira eficiente. *Justicia brasiliana* Roth (Acanthaceae) ocupa habitats na região sul da América do Sul. Devido aos escassos trabalhos sobre biologia reprodutiva de espécies de *Justicia*, estudos acerca do sistema reprodutivo são fundamentais para o conhecimento do grupo, o que justifica o presente trabalho. Supõe-se que o sistema de reprodução de *Justicia brasiliana* seja caracterizado pelo sistema misto de cruzamento. Este trabalho objetivou descrever a biologia reprodutiva de *Justicia brasiliana*, bem como determinar a viabilidade polínica, receptividade do estigma, analisar os frutos formados e testar a viabilidade das sementes através da germinação. O estudo foi realizado no Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, localizado no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. Para o estudo do sistema reprodutivo foram realizados seis tratamentos: autopolinização espontânea, autopolinização manual, polinização cruzada entre indivíduos do mesmo agrupamento e de agrupamentos diferentes, agamospermia e tratamento controle. A viabilidade polínica foi estabelecida através da coloração dos grãos com Carmim Acético 2%. Observou-se a receptividade do estigma através da deposição de peróxido de hidrogênio sobre as papilas estigmáticas. Os frutos foram analisados acerca do número de sementes e estas submetidas ao teste de germinação a fim de testar sua viabilidade. Os dados obtidos foram analisados nos programas estatísticos Bioestat e SPSS 20.0. *Justicia brasiliana* apresentou frutificação em todos os tratamentos de autogamia e alogamia realizados, podendo concluir que a planta possui um sistema de reprodução misto. As sementes formadas nos tratamentos apresentaram-se viáveis através do teste de germinação, com exceção do tratamento controle. A taxa de viabilidade polínica não apresentou diferença significativa entre os estágios de botão floral e antese, bem como a receptividade do estigma, a qual foi a mesma em ambas as fases.

Palavras-chave: polinização; Rio Grande do Sul; sistema de cruzamento; reprodução; Bioma Pampa

Abstract

PADILHA, Giovanna Boff. **Reproduct biology *Justicia brasiliiana* Roth (Acanthaceae) on extreme South of Brazil.** 2017 36f. Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas – Bacharelado, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

The reproductive system involves processes aimed at the perpetuation of species and it is associated with the evolutionary history of the same. Plants with sexual reproduction depends on a vector, biotic or abiotic, carrying the pollen to another flower efficiently. *Justicia brasiliiana* Roth (Acanthaceae) occurs in the southern region of South America. Due to the scarce papers about reproductive biology of species of *Justicia*, studies on the reproductive system are the key to the knowledge of the group, which justifies this study. It is assumed that the *Justicia brasiliiana* reproduction system is characterized by a mixed mating system. This study aims to describe the reproductive biology of *Justicia brasiliiana* and determine the pollen viability, stigma receptivity, analyze the fruits formed and test the viability of the seeds by germination. The study was conducted in Horto Botânico Irmão Teodoro Luis, located in the municipal district of Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brazil. To the reproductive system study were performed six treatments: spontaneous self-pollination, manual self-pollination, cross-pollination between individuals of the same group and of different groups as well, agamospermy and control treatment. The pollen viability was established by grain color with Carmine Acetic 2%. It was observed the receptivity of the stigma through deposition of hydrogen peroxide over the stigmatic papillae. The fruits were analyzed on the number of seeds and those submitted to the germination test in order to test its viability. The obtained data were analyzed in the statistical programs Bioestat and SPSS 20.0. *Justicia brasiliiana* presented fructification in all autogamy and allogamy treatments performed, being possible to conclude that the plant has a mixed reproduction system. The seeds formed in the treatments presented to be viable through the germination test, except for control treatment. The pollen viability rate was not significantly different between the stages of floral button and anthesis, as well as the stigma receptivity was the same in both phases.

Key-words: pollination, Rio Grande do Sul, mating system, reproduction, Pampa Biome

Lista de Figuras

Figura 1	Imagem de satélite da área de estudo do Horto Botânico Irmão Teodoro Luis.....	19
Figura 2	Fotos da metodologia utilizada nos tratamentos de determinação do sistema reprodutivo de <i>Justicia brasiliiana</i> . A: emasculação na fase de botão floral. B: flor marcada submetida ao tratamento Controle. C: botão floral ensacado.....	21
Figura 3	Plântula de <i>Justicia brasiliiana</i> considerada viável devido à formação de radícula, hipocótilo e cotilédones.....	23
Figura 4	Fruto formado através do tratamento de agamospermia. Orifícios destacados justificam a ausência de sementes devido ao provável consumo por pequenos animais.....	25
Figura 5	Fotografia da lente ocular do microscópio óptico em aumento de 40 vezes de grãos de pólen de <i>Justicia brasiliiana</i> . Ao lado esquerdo, grão considerado viável e, ao lado direito, inviável...	29
Figura 6	Fotografia realizada através da ocular de estereomicroscópio mostrando o processo de borbulha em estigma, indicando a receptividade do mesmo.....	31

Lista de Tabelas

Tabela 1	Número de frutificações nos diferentes tratamentos do sistema reprodutivo de <i>Justicia brasiliana</i> realizado no agrupamento de borda do HBITL e suas respectivas taxas de frutificação.....	25
Tabela 2	Comparações entre os tratamentos de polinização manual realizados na borda em relação a formação de frutos de <i>Justicia brasiliana</i> e seus respectivos valores de p no Teste Exato de Fischer.....	25
Tabela 3	Número de frutificações nos diferentes tratamentos do sistema reprodutivo de <i>Justicia brasiliana</i> realizado no agrupamento de interior do HBITL e suas respectivas taxas de frutificação.....	26
Tabela 4	Taxa de frutificação e germinação dos tratamentos de polinização realizados em <i>Justicia brasiliana</i> nos agrupamentos de borda e interior do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís. Abreviações: A.E.: autopolinização espontânea, A.M.: autopolinização manual, AG.: agamospermia, P.C. INTRA.: polinização cruzada intra-agrupamento, P.C. INTER.: polinização cruzada interagrupamento e CO.: controle.....	28

Sumário

1 Introdução.....	13
1.1 Objetivos.....	15
1.1.1 Objetivo geral.....	15
1.1.2 Objetivos específicos.....	15
2 Revisão de literatura.....	16
3 Materiais e métodos.....	19
3.1 Área de estudo.....	19
3.2 Floração.....	20
3.3 Sistema de reprodução.....	20
3.4 Viabilidade polínica.....	21
3.5 Receptividade do estigma.....	22
3.6 Quantificação dos frutos.....	22
3.7 Viabilidade das sementes.....	22
3.8 Análises de dados.....	23
4 Resultados e discussão.....	24
4.1 Sistema de reprodução.....	24
4.2 Formação e viabilidade das sementes.....	27
4.3 Viabilidade polínica.....	29
4.4 Receptividade do estigma.....	31
5 Conclusão.....	32
Referências.....	33

1 Introdução

O sistema reprodutivo envolve processos que tem como objetivo a perpetuação de espécies. Esse mecanismo está intimamente associado à história evolutiva e as pressões seletivas que ocorreram sobre a espécie considerada. Dessa forma, o conhecimento do sistema reprodutivo de uma espécie é importante, pois está diretamente relacionado à ocupação de habitats e nas respostas às alterações ambientais (KARASAWA, 2009).

As angiospermas possuem, de maneira geral, duas classificações quanto ao seu modo de reprodução, assexuada e sexuada. As formas assexuadas contemplam os processos que originam clones a partir da planta mãe, tendo como exemplo o crescimento vegetativo e agamospermia. A reprodução sexuada compreende os mecanismos em que há troca de genes entre indivíduos para a formação da prole através de diferentes sistemas de cruzamento, estes podem ser *autógamos* (plantas autocompatíveis que se autofecundam), *alógamos* (plantas que apresentam autoincompatibilidade e, portanto, dependem da fecundação cruzada) e *mistos* (KARASAWA, 2009).

Plantas de reprodução sexuada geralmente dependem de um vetor que transporte os grãos de pólen até a outra flor de maneira eficiente. Estes vetores podem ser abióticos (vento ou água) ou bióticos (aves, insetos ou mamíferos), conhecidos como polinizadores. Estes, por sua vez, desempenham uma função essencial às espécies vegetais dependentes deles. As plantas dependentes de animais precisam investir em diferentes maneiras para atraí-los, sendo a presença de corola com coloração intensa ou oferta de néctar as mais comumente observadas (ENDRESS, 1994).

Acanthaceae é considerada uma família monofilética através de análises sequenciais e está inserida na ordem Lamiales. É composta por cerca de 3.000

espécies distribuídas em aproximadamente 200 gêneros de predominância pantropical. No Brasil, são encontrados cerca de 40 gêneros com 450 espécies, enquanto que no estado do Rio Grande do Sul ocorrem 30 espécies distribuídas em oito gêneros (SOUZA; LORENZI, 2012; JUDD et al., 2008; PROFICE et al., 2015).

As espécies de Acanthaceae possuem flores com corolas coloridas e, na maioria das vezes, são acompanhadas por brácteas bastante atrativas. Essas estruturas podem atuar no processo de polinização através da atração de animais como abelhas, vespas, lepidópteros e aves (JUDD et al., 2008).

Esta família possui plantas de interesse ornamental, como a tumbérgia (*Thunbergia grandiflora* Roxb.) e o camarão-amarelo (*Pachystachys lutea* Nees). Os gêneros nativos *Justicia* e *Ruellia*, com cerca de 400 e 200 espécies, respectivamente, são os mais comumente utilizados na ornamentação (WASSHAUSEN; SMITH, 1969; SOUZA; LORENZI, 2012).

O gênero *Justicia* L. está distribuído em todo o território brasileiro, com o total de 128 espécies, as quais se apresentam, geralmente, como ervas ou arbustos com flores de corola tubular, portadora de dois estames e ovário com quatro óvulos (WASSHAUSEN; SMITH, 1969; PROFICE et al., 2015).

Embora existam espécies autocompatíveis no gênero, a grande maioria possui alogamia devido à protandria, processo pelo qual o androceu amadurece antes do gineceu. Os principais polinizadores deste gênero são beija-flores e abelhas (ENDRESS, 1994).

Justicia brasiliana Roth, descrita em 1821, conhecida popularmente como junta-de-cobra-vermelha, distribui-se desde o norte do Uruguai e sul do Brasil até o nordeste da Argentina e oeste do Paraguai. Possui hábito arbustivo, com altura entre um e dois metros. Geralmente, é encontrada em margens e clareiras de matas, mas também ocorre, porém com menor frequência, no interior destas. Suas flores inodoras, de corola vermelha bilabiada originam um fruto cápsula autocórico. Seu período de floração ocorre de novembro a maio (WASSHAUSEN; SMITH, 1969; EZCURRA, 2002).

Frente à escassez de trabalhos relacionados com a biologia reprodutiva de espécies de *Justicia*, estudos que visem determinar o sistema de reprodução e verificar os visitantes florais são fundamentais para o conhecimento do grupo. Embora existam trabalhos pontuais com visitantes florais em *Justicia brasiliana*, os

mesmos se detêm no comportamento animal e não na biologia reprodutiva da planta, a qual carece de estudos, justificando o presente trabalho.

A partir da bibliografia supracitada, a hipótese do presente trabalho é que o sistema reprodutivo de *Justicia brasiliiana* seja a fecundação cruzada, porém, na falta de polinizadores, é provável que a planta exerça sua reprodução de forma autônoma, constituindo, assim, um sistema reprodutivo misto.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Descrever a biologia reprodutiva na população de *Justicia brasiliiana* no Horto Botânico Irmão Teodoro Luis, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar o sistema de reprodução em dois agrupamentos da mata;
- Determinar a viabilidade polínica;
- Determinar a receptividade do estigma;
- Quantificar e comparar os frutos formados em relação ao número de sementes;
- Testar a viabilidade das sementes formadas nos diferentes tratamentos;
- Relatar o período de floração da espécie.

2 Revisão de literatura

Matias e Consolaro (2015) relatam a ausência de trabalhos realizados no Bioma Pampa que contemplem a biologia reprodutiva de espécies de Acanthaceae. Bem como trabalhos que determinam o sistema reprodutivo de espécies de *Justicia* são extremamente escassos, tanto em escala regional quanto mundial. Geralmente, alguns aspectos reprodutivos são abordados em estudos que visam estabelecer relações entre planta e visitantes florais, porém ainda são poucas as espécies que possuem seu sistema reprodutivo estabelecido.

O estudo realizado por Quintana-Vásquez (2007) no México, que visou relatar aspectos da biologia da polinização de *Justicia candidans* (Nees) L.D. Benson, demonstrou que a espécie apresenta plasticidade em relação ao seu sistema reprodutivo, pois houve frutificação tanto na polinização cruzada como na autopolinização. Além disso, o autor relata que a espécie apresentou concentração de açúcar no néctar próxima de 41%.

McMullen (1994) investigou o sistema reprodutivo e os visitantes de *Justicia galapagana* Lindau em duas ilhas do Arquipélago de Galápagos, Santa Cruz e Pinta. Foi constatado que a taxa de autogamia na ilha de Pinta foi maior e atribui-se à escassez de visitantes florais na região. Nas visitas realizadas em ambas as ilhas por lepidópteros da espécie *Leptotes parrhasioides* (Wallengren, 1860), o contato do animal com as anteras não foi detectado. Já em Santa Cruz, indivíduos de *Toxomerus crockeri* (Curran, 1934) foram os visitantes mais frequentes da espécie, os quais foram descritos como potenciais polinizadores devido aos movimentos exercidos quando em contato com a flor.

No município de Viçosa, Minas Gerais, Braz, Vieira e Carvalho-Okano (2000) realizaram a análise de aspectos reprodutivos em cinco espécies de Acanthaceae, *Geissomeria schottiana* Nees, *Mendoncia velloziana* Mart., *Ruellia brevifolia* (Pohl)

C. Ezcurra, *Ruellia subsessilis* Lindau e *Justicia scheidweileri* V.A.W. Graham. Como resultado do teste de autopolinização espontânea, a maioria das espécies teve como taxas de frutificação valores acima de 85%, chegando a 100% em *J. scheidweileri*, com exceção de *G. schottiana* que não frutificou, fato semelhante ao que foi observado por Buzato (1990) com *Mendoncia velloziana*. Além disso, as espécies *Ruellia breviflora* e *R. subsessilis* apresentaram hercogamia (diferença espacial entre as estruturas reprodutivas), característica ausente em *Justicia scheidweileri*. De maneira geral, foram descritas cinco espécies de troquilídeos como visitantes florais, relatando que as espécies que forragearam *R. subsessilis* e *J. scheidweileri* foram todas de maneira ilegítima.

No estado do Rio de Janeiro, Canela (2006) apontou em seu estudo sobre as interações plantas *versus* beija-flores, que *Justicia sebastianopolitanae* Profice não apresentou protandria. Além disso, *Phaethornis eurynome* (Lesson, 1832), um troquilídeo polinizador da espécie, carregou os grãos de pólen da planta em sua frente e de outras espécies vegetais em locais diversos do corpo, como vértice e garganta, diminuindo a probabilidade de mistura interespecífica dos grãos nos períodos de sobreposição das florações.

Pereira (1998) visou relatar a biologia reprodutiva de duas espécies de Acanthaceae ocorrentes em Campinas (SP), *Justicia carnea* Lindl. e *Geissomeria perbracteosa* Rizzini. Ambas são protândricas e hercogâmicas. Além disso, as duas apresentaram frutificação nos testes de autopolinização, porém em uma taxa menor se comparados aos testes de cruzamento entre indivíduos ou quando expostas em condições naturais. Os visitantes mais frequentes de *G. perbracteosa* foram troquilídeos do gênero *Phaetornis*, enquanto que em *J. carnea* o maior número de visitas foi realizado por indivíduos de *Thalurania glaucopis* (Gmelin, 1788). A produção de néctar foi contínua em ambas, com maior intensidade no primeiro período do dia. A concentração do recurso foi de aproximadamente 20% em *G. perbracteosa* e 25% em *J. carnea*.

Em relação a *Justicia brasiliana*, trabalhos que tratam da relação planta-visitante são escassos e seu sistema reprodutivo ainda não é descrito. No trabalho que tinha por objetivo descrever o comportamento de beija-flores durante a utilização de néctar, bem como analisar a produção deste recurso, Bugoni (2010) constatou em um fragmento florestal no município de Capão do Leão, Rio Grande do

Sul, que a disponibilidade de néctar das flores influencia no comportamento de espécies de beija-flores que coexistem no ambiente. Ainda, na análise de quantificação do néctar, percebeu-se que o volume disponível foi maior durante o primeiro período da manhã, que corresponde a antese floral. Além disso, cinco espécies de troquilídeos exploraram o recurso, sendo elas *Chlorostilbon lucidus* (Shaw, 1912), *Thalurania glaucopis*, *Hylocharis chrysura* (Shaw, 1812), *Stephanoxis lalandi* (Vieillot, 1818) e *Leucochloris albicollis* (Vieillot, 1818).

O último trabalho que envolveu *Justicia brasiliiana* foi realizado por Bueno (2012) em Campo Mourão, Paraná, no qual foi observado que, das espécies ornitófilas estudadas, *J. brasiliiana* foi a que possuiu a menor taxa de produção de néctar. A espécie teve como visitantes florais quatro espécies de Trochilidae: *Amazilia* sp., *Chlorostilbon lucidus*, *Hylocharis chrysura* e *Phaethornis pretrei*.

3 Materiais e métodos

3.1 Área de estudo

O estudo foi realizado no Horto Botânico Irmão Teodoro Luís (HBITL) (31°48'56.16"S, 52°25'54.25"O), localizado no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. O Horto tem como área vizinha o Campus Capão do Leão da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) (Figura 1).

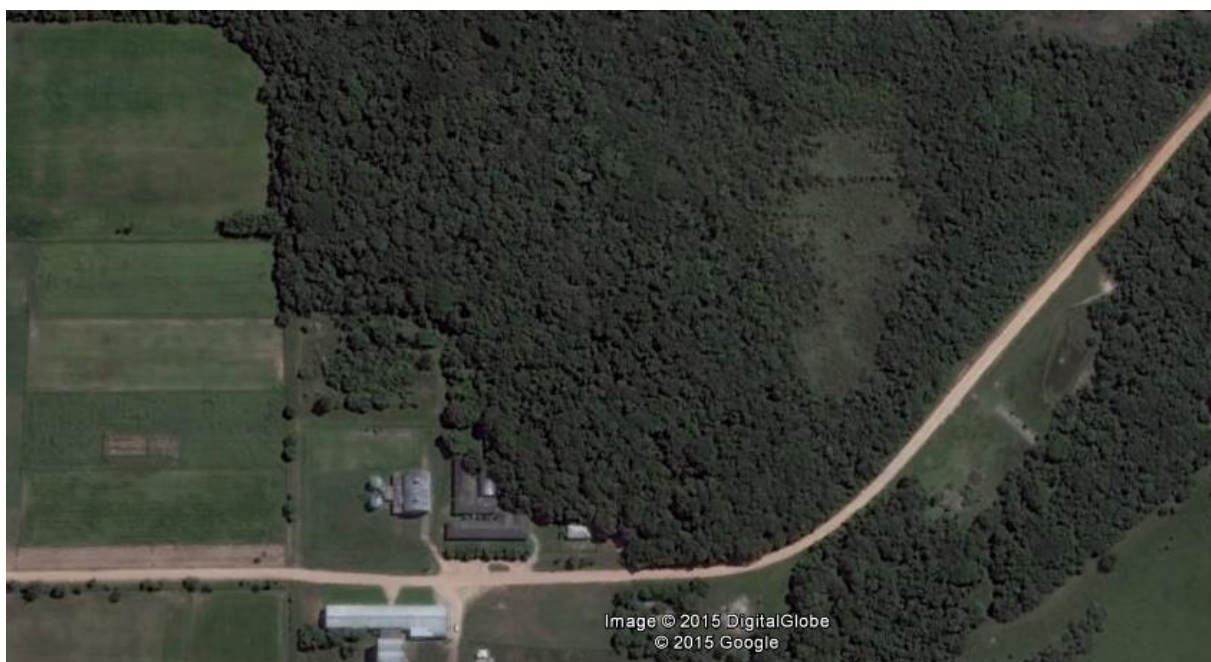


Figura 1 – Imagem de satélite da área de estudo do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís.

Fonte: Google Earth. Acesso em 02 set. 2015.

O solo é do tipo Planossolo Hidromórfico Eutrófico Solódico, típico de áreas planas, normalmente mal drenado. A região está inserida na Planície Costeira do Bioma Pampa, sendo revestida, principalmente, por vegetação de campo em relevo

de planície, com formações pioneiras arbustivo-herbáceas (STRECK et al., 2002; IBGE, 2004).

O clima na região é do tipo Subtropical Úmido ou Cfa, segundo a classificação de Köppen, com estações definidas, verões quentes e chuvas bem distribuídas durante o ano. A temperatura média local é de 17,8 °C, a precipitação média de 1366,9 mm e a umidade relativa do ar é de 80,7% (MORENO, 1961; ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS, 2015).

3.2 Floração

A partir de outubro de 2015 foram realizadas visitas semanais afim de acompanhar a floração da espécie para estabelecer o período ideal para a execução dos tratamentos de cruzamento. Assim, foi possível relatar os períodos de início e final da floração da espécie.

3.3 Sistema de reprodução

O trabalho foi desenvolvido em duas áreas do HBITL, uma na borda (B) e outra no interior (I) da mata. Na borda foram selecionados 26 indivíduos enquanto que no interior apenas 17 plantas puderam ser selecionadas devido ao baixo número de indivíduos que floresceram.

Foram realizados os seguintes tratamentos para estabelecer o padrão reprodutivo de *Justicia brasiliana*: (A) *Autopolinização espontânea* – as flores foram ensacadas em pré-antese e permaneceram intactas até o momento da análise de frutificação; (B) *Autopolinização manual* – as flores em pré-antese foram ensacadas, e após a antese, o pólen foi extraído e transportado à superfície estigmática da própria flor, que, por sua vez, foi ensacada novamente; (C) *Polinização cruzada intra-agrupamento* – grãos de pólen provenientes de flores de outros indivíduos do mesmo agrupamento foram depositados no estigma de flores previamente marcadas, emasculadas (anteras retiradas conforme ilustrado na Figura 2a) e ensacadas. Após a transferência manual do pólen as flores foram reensacadas. Ou seja, o pólen de indivíduos da borda foram depositados em flores de indivíduos da borda (B x B) e o pólen de indivíduos do interior depositado em estigmas de flores

do interior (I x I); (D) *Polinização cruzada interagrupamento* – grãos de pólen provenientes de flores de indivíduos do outro agrupamento foram depositados no estigma de flores previamente emasculadas e ensacadas, após a polinização, as flores polinizadas foram reensacadas. Isto é, o pólen provindo de indivíduos do interior foi depositado no estigma de flores da borda (I x B) e o pólen oriundo de indivíduos da borda foi depositado em flores do interior (B x I); (E) *Agamospermia* – as flores foram emasculadas em pré-antese e ensacadas, permanecendo isoladas até o momento da análise de frutificação; e (F) *Controle* – as flores foram somente marcadas e observadas até a provável formação de frutos, conforme ilustrado na Figura 2b (DAFNI, 1992). Os sacos utilizados no tratamento foram confeccionados com tecido *voile* (Figura 2c). Para fins de identificação dos tratamentos em campo, foi definida uma cor de fita para cada um deles.



Figura 2: Fotos da metodologia utilizada nos tratamentos de determinação do sistema reprodutivo de *Justicia brasiliana*. A: emasculação na fase de botão floral. B: flor marcada submetida ao tratamento Controle. C: botão floral ensacado.

3.4 Viabilidade polínica

Para a análise da viabilidade do pólen coletou-se em campo, no agrupamento de borda, 10 flores no estágio de botão floral e 10 flores no dia da antese, estas haviam sido ensacadas previamente visando excluir a possibilidade de contaminação dos grãos analisados através de pólen externo. Em seguida, estas foram transportadas individualmente em potes de acrílico até o Laboratório de Zoologia de Invertebrados onde tiveram seus grãos de pólen depositados em lâminas e corados com Carmin Acético 2%. Após 10 minutos, foram analisados em

microscópio óptico com aumento de 40 vezes. Consideraram-se viáveis os grãos de coloração vermelha e morfologia regular. Os resultados se basearam na análise dos cem primeiros grãos de pólen observados em cada lâmina (RADFORD et al., 1974; GOLDENBERG; VARASSIN, 2001).

3.5 Receptividade do estigma

Para analisar a receptividade do estigma, foram coletadas em campo, de indivíduos localizados na região de borda da mata, 15 botões florais e 15 flores previamente emasculas e ensacadas, a fim de excluir a probabilidade de contaminação do estigma com o próprio grão de pólen ou grãos externos, respectivamente. Após a coleta, as flores e botões foram individualizados em potes de acrílico e levados até o Laboratório de Sistemática de Fanerógamas, onde foi depositado peróxido de hidrogênio (3%) sobre as papilas estigmáticas. Em seguida, os estigmas foram observados com auxílio de estereomicroscópio devido ao tamanho diminuto da área estigmática e consequente dificuldade de visualização da reação. Foram considerados receptivos os estigmas que apresentaram processo de borbulha (DAFNI, 1992).

3.6 Quantificação dos frutos

No período de frutificação, as flores marcadas tiveram seus frutos coletados e transportados ao Laboratório de Sistemática de Fanerógamas para a contagem de sementes formadas em cada tratamento.

3.7 Viabilidade das sementes

Após terem sido contabilizadas, as sementes formadas nos tratamentos foram submetidas ao teste de viabilidade através de germinação seguindo a metodologia adaptada de Lima e Vieira (2006). Estas foram depositadas em gerbox com papel filtro umedecido com água destilada e submetidas à temperatura de 25° C e 12 horas de luz na Sala de Crescimento do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética da Universidade Federal de Pelotas. Foram consideradas viáveis as

sementes que desenvolveram radícula, hipocótilo e cotilédones, conforme Figura 3.

3.8 Análises de dados

Os dados do sistema de reprodução foram submetidos ao Teste de Qui-quadrado e quando constatada a diferença entre os tratamentos, os mesmos foram comparados através do Teste Exato de Fischer, bem como os dados obtidos no teste de viabilidade de sementes através da germinação. Além disso, para testar se houve diferença nos tratamentos realizados em relação à formação de sementes foi utilizada Anova seguida do Teste de Tukey.

Os dados resultantes do teste de viabilidade polínica foram analisados através do Teste t. Já os resultados da receptividade de estigma não foram submetidos à análise estatística tendo em vista que seus valores foram numericamente iguais.

Os programas utilizados para as análises foram Bioestat e SPSS 20.0.



Figura 3 - Plântula de *Justicia brasiliana* considerada viável devido à formação de radícula, hipocótilo e cotilédones.

4 Resultados e discussão

4.1 Sistema de reprodução

A floração da espécie teve início na terceira semana de novembro de 2015 com três indivíduos férteis na região da borda e após 20 dias todos os indivíduos do agrupamento possuíam flores. O período de floração desta área durou três meses, aproximadamente. Já no agrupamento localizado no interior da mata, os indivíduos iniciaram a floração na última semana de fevereiro, os quais possuíam poucas flores quando comparados aos espécimes da borda. Além disso, quando em estágio de botão floral, muitas flores eram consumidas por formigas nesse agrupamento. A floração desta área teve duração de apenas 40 dias, aproximadamente, diferindo do que foi observado por Bugoni (2010) no mesmo local, o qual relatou que o período floral se deu em meados de dezembro a maio.

Todos os tratamentos realizados em ambos os agrupamentos formaram frutos. Porém, no tratamento de Agamospermia realizado na borda, nenhuma semente foi encontrada. Esta ausência de sementes pode ser atribuída ao consumo das mesmas por pequenos animais, tendo em vista que os quatro frutos formados apresentavam orifícios (Figura 4). O mesmo aconteceu em algumas cápsulas formadas nos tratamentos de Polinização cruzada interagrupamento, Autopolinização manual e Controle. Nestes, alguns frutos possuíam apenas uma semente, ao passo que outros se encontravam vazios.

Na Tabela 1 é possível observar a taxa de frutificação dos diferentes tratamentos realizados. Através do teste de Qui-quadrado foi observada uma diferença significativa nas frutificações obtidas das diferentes polinizações ($p=0,000$). A partir desses dados, comparou-se entre si os tratamentos de polinização artificial, ou seja, Autopolinização manual, Polinização cruzada intra-agrupamento e interagrupamento. Foi significativamente diferente a relação entre os tratamentos

Polinização cruzada interagrupamento *versus* Polinização cruzada intra-agrupamento e Polinização cruzada interagrupamento *versus* Autopolinização manual através do Teste Exato de Fischer (Tabela 2).



Figura 4 – Fruto formado através do tratamento de agamospermia. Orifícios destacados justificam a ausência de sementes devido ao provável consumo por pequenos animais.

Tabela 1 – Número de frutificações nos diferentes tratamentos do sistema reprodutivo de *Justicia brasiliana* realizado no agrupamento de borda do HBITL e suas respectivas taxas de frutificação.

Tratamentos	Total de flores	Total de frutos	Taxa de frutificação (%)
Autopolinização espontânea	26	2	7,7
Autopolinização manual	26	10	38,5
Agamospermia	26	4	15,4
Polinização cruzada intra-agrupamento	26	5	19,2
Polinização cruzada interagrupamento	26	18	69,2
Controle	26	12	46,2

Tabela 2 – Comparações entre os tratamentos de polinização manual realizados na borda em relação a formação de frutos de *Justicia brasiliana* e seus respectivos valores de p no Teste Exato de Fischer.

Cruzamentos	Valor obtido de p
Polinização cruzada interagrupamento X Polinização cruzada intra-agrupamento	0,001*
Polinização cruzada interagrupamento X Autopolinização manual	0,050*
Polinização cruzada intra-agrupamento X Autopolinização manual	0,220

*Significativo pelo Teste de Fischer a 5% de probabilidade.

Dentre os tratamentos realizados na região de borda, pode-se destacar o tratamento de Polinização cruzada interagrupamento com taxa de frutificação próxima de 70%. Atribui-se esse sucesso ao distanciamento dos indivíduos nos agrupamentos e consequente variabilidade genética. Por outro lado, a taxa de frutificação da Autopolinização manual se manteve próxima de 40%, demonstrando que embora em menores taxas, também houve sucesso reprodutivo na autogamia.

No interior da mata, devido ao baixo número de indivíduos e flores formadas, foram realizados apenas quatro tratamentos (Autopolinização manual, Polinização cruzada intra-agrupamento, Polinização cruzada interagrupamento e Controle). Os tratamentos foram realizados utilizando 17 indivíduos, com exceção da Polinização cruzada intra-agrupamento, com apenas 13 flores testadas, uma vez que não havia mais disponibilidade de pólen em outros indivíduos do agrupamento que pudesse ser transferido para as flores marcadas.

No teste de Qui-quadrado não foi constatada diferença significativa entre os tratamentos do interior ($p=0,269$). Portanto, não foi necessária a realização do Teste Exato de Fischer para comparar as diferentes polinizações.

Conforme a Tabela 3, dentre os quatro tratamentos realizados, destaca-se o Controle na formação de frutos. Por outro lado, as sementes formadas nele apresentaram-se inviáveis, pois todas possuíam a testa amolecida ou com partes consumidas através de herbivoria. Ainda, a Polinização cruzada interagrupamento teve a segunda maior taxa de frutificação dos tratamentos, corroborando com os dados obtidos no agrupamento de borda e demonstrando, que assim como as demais espécies do gênero, *Justicia brasiliiana* possui um sistema de reprodução misto, conforme classificação de Karasawa (2009). O sistema de reprodução misto para *Justicia* também foi registrado nos trabalhos de McMullen (1994), Pereira (1998), Braz, Vieira e Carvalho-Okano (2000) e Quintana-Vasquez (2007).

Tabela 3 – Número de frutificações nos diferentes tratamentos do sistema reprodutivo de *Justicia brasiliiana* realizado no agrupamento de interior do HBITL e suas respectivas taxas de frutificação.

Tratamentos	Total de flores	Total de frutos	Taxa de frutificação (%)
Autopolinização manual	17	4	23,5
Polinização cruzada intra-agrupamento	13	4	30,8
Polinização cruzada interagrupamento	17	8	47,1
Controle	17	9	52,9

4.2 Formação e viabilidade das sementes

Conforme discutido anteriormente, todos os tratamentos de polinização apresentaram formação de sementes, salvo o teste de Agamospermia o qual apresentou, em todos seus frutos, orifícios provocados por provável herbivoria, não sendo possível afirmar se realmente houve formação de sementes.

Foi testada através de Anova a diferença entre os tratamentos em relação à formação das sementes nos dois agrupamentos. Como resultado, foi obtido o valor de $p=0,001$ para a borda e $p=0.036$ para o interior, demonstrando que houve diferença no número de sementes formadas entre os tratamentos.

Conforme a Tabela 4, é possível perceber que em ambos os agrupamentos o tratamento que apresentou o maior número de sementes foi a Polinização cruzada interagrupamento, bem como este tratamento foi o que apresentou uma das maiores taxas de frutificação em ambos agrupamentos. Este resultado se atribui à maior variabilidade genética entre os indivíduos, tendo em vista o distanciamento de seus respectivos agrupamentos.

Foi observado um baixo número de sementes formadas no tratamento Controle, o que pode ser atribuído à baixa eficácia dos polinizadores locais, os quais podem estar consumindo o néctar através da pilhagem, além do consumo das mesmas por pequenos animais, o que ainda não foi relatado na literatura do grupo. Este resultado ressalta a importância da autocompatibilidade em espécies vegetais, afim de que estas consigam se manter em ambientes com escassez de polinizadores efetivos (QUINTANA-VÁSQUEZ, 2007).

Com o resultado do Teste de Tukey, foi possível agrupar os tratamentos que não diferiram em 5% de probabilidade (Tabela 4), demonstrando que em ambos os agrupamentos não houve diferença entre as Polinizações cruzadas intra-agrupamento e interagrupamento no que tange o número de sementes formadas. Também foram agrupados os testes de Polinização cruzada e Autopolinização, não havendo diferença entre a autogamia e a alogamia na formação das sementes, resultado também obtido em *Lepidagathis sessifolia* (Pohl) Kameyama ex Wassh. & J.R.I. Wood (SILVA; NOGUEIRA, 2012)

Em relação ao teste de germinação, foi possível constatar através do Teste Exato de Fischer com $p=0,000$, que em ambos os agrupamentos houve diferença significativa na germinação entre os diferentes tratamentos.

Na Tabela 4 é possível perceber que no agrupamento do interior as taxas de germinação dos tratamentos referentes ao processo de alogamia foram mais elevadas. Resultado contrário ao observado no agrupamento da borda, no qual houve maiores taxas de germinação nos tratamentos de Autopolinização, sugerindo que a espécie não apresenta depressão endogâmica, o que também foi observado em espécies de *Ruellia*. Porém, só é possível afirmar o sucesso sobre a endogamia após acompanhar o desenvolvimento de gerações futuras oriundas dos tratamentos de autogamia (LIMA; VIEIRA, 2006).

Em ambos os agrupamentos, todas as sementes formadas no tratamento Controle não geraram plântulas, o que pode ser explicado pelo seu aspecto amolecido no momento da coleta e germinação.

Tabela 4 - Taxa de frutificação e germinação dos tratamentos de polinização realizados em *Justicia brasiliiana* nos agrupamentos de borda e interior do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís. Abreviações: A.E.: autopolinização espontânea, A.M.: autopolinização manual, AG.: agamospermia, P.C. INTRA.: polinização cruzada intra-agrupamento, P.C. INTER.: polinização cruzada interagrupamento e CO.: controle.

Tipos de polinização	Borda			Interior		
	Taxa de frutificação (%)	Total de sementes formadas*	Taxa de germinação (%)	Taxa de frutificação (%)	Total de sementes formadas*	Taxa de germinação (%)
A.E.	7,7	3(AB)	100	-	-	-
A.M.	38,5	19(AB)	89,5	23,5	10(AB)	20
AG.	15,4	- (B)	-	-	-	-
P.C. INTRA.	19,2	16(A)	68,8	30,8	9(AB)	77,8
P.C. INTER.	69,2	46(A)	87	47,1	25(A)	80
CO.	46,2	7(B)	0	52,9	12(B)	0

*Número de sementes seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente entre si no Teste de Tukey a 5% de probabilidade

4.3 Viabilidade polínica

Foram analisados 2000 grãos de pólen e considerados viáveis aqueles que apresentaram morfologia regular e coloração intensa (Figura 5). Destes, 1000 provindos de botões florais e 1000 de flores no dia da antese, sendo que a taxa de viabilidade polínica obtida foi de 71,5 e 70,1%, respectivamente. Por outro lado, mesmo contendo pólen viável, as anteras permaneciam com suas tecas fechadas na pré-antese, sugerindo um mecanismo que objetiva reduzir a autopolinização.

Através do Teste t foi possível comprovar que não houve diferença significativa na viabilidade do pólen entre os dois estágios florais analisados ($p=0.869$). Essa semelhança no valor das taxas pode ser atribuída ao pequeno intervalo de tempo entre as duas fases florais observadas, tendo em vista que os botões selecionados para o teste estavam próximos de seus períodos de antese.

Ainda, foram analisadas as médias entre o número de grãos viáveis e não viáveis nos estágios florais observados, e os valores obtidos no Teste t foram de $p=0,000$ tanto para o teste realizado em botões florais, quanto no teste realizado em flores no período de antese, comprovando que o número de grãos viáveis é superior ao número de grãos inviáveis. Esta característica auxilia no sucesso reprodutivo da espécie estudada, pois quanto maior o número de grãos viáveis, maior a probabilidade de ocorrer a fecundação dos óvulos.



Figura 5 - Fotografia da lente ocular do microscópio óptico em aumento de 40 vezes de grãos de pólen de *Justicia brasiliensis*. Ao lado esquerdo, grão considerado viável e, ao lado direito, inviável.

Devido à inexistência de trabalhos acerca da viabilidade polínica de *Justicia*, não é possível correlacionar resultados com espécies próximas em nível de gênero. Por outro lado, quando comparado com espécies de outros gêneros de Acanthaceae que utilizaram metodologia semelhante à apresentada neste trabalho, a taxa viabilidade polínica de *J. brasiliiana* é a menor observada. Nadia, Menezes e Machado (2012) observaram uma maior taxa na viabilidade de grãos em *Avicennia schaueriana* Moldenke, próxima de 97%. Já, em *Lepidagathis sessifolia* a taxa encontrada por Silva e Nogueira (2012) foi próxima de 92,5%.

Resultados similares aos de *Justicia brasiliiana* foram observados em *Andrographis paniculata* Ness. (Acanthaceae) no trabalho de Valdiani et al. (2012), pois a espécie apresentou uma alta taxa de grãos de pólen viáveis no momento próximo da abertura das anteras e no período da deiscência das mesmas. Além disso, foi observada a queda da taxa devido à exposição dos grãos na luz solar e chuva. Cabe ressaltar que a metodologia de coloração utilizada no trabalho de Valdiani et al. (2012) difere dos demais aqui relatados.

Ainda, Shivanna (2009) constatou em *Adhatoda vasica* Ness. viabilidade polínica de 80% na fase masculina da flor, porém houve uma queda na taxa ao passo que o estigma se tornou receptivo, característica típica de plantas protândricas.

Faria e Araujo (2010) detectaram em *Ruellia angustiflora* (Nees) Lindau ex Rambo, uma queda na viabilidade polínica durante o período de um dia, com taxa de 97% de grãos viáveis pela manhã, chegando a 90% no final do dia. Queda também observada por Sigrist e Sazima (2002) em *Ruellia breviflora* (Pohl) C. Ezcurra. Em suas flores casmógamas houve a redução na taxa de viabilidade polínica de 94,2 para 89,9% entre o momento da antese e o dia seguinte, enquanto que nas flores cleistógamas a taxa se manteve próxima de 81%.

Afim de comparar a variação na taxa de viabilidade polínica durante as estações seca e chuvosa em *Ruellia subsessilis* (Nees) Lindau, Miranda (2010) constatou que em ambos os períodos, os valores são próximos, sendo eles de 99 e 98%, respectivamente. Esses valores demonstram que não houve influência da variação climática ao longo do ano na alta formação de grãos de pólen viáveis na espécie.

4.4 Receptividade do estigma

O resultado obtido nos diferentes estágios foi o mesmo, 12 estigmas encontravam-se receptivos (Figura 6), o que representa uma taxa de 80% dos indivíduos em cada estágio floral. Essa receptividade existente desde o período de pré-antese pode estar associada ao processo de autopolinização da espécie, porém as tecas das anteras observadas nesse período ainda se encontravam fechadas, dificultando o processo de autopolinização (SILVA; NOGUEIRA, 2012).

Análises de receptividade do estigma não são relatadas em espécies de *Justicia*, enquanto que em *Acanthaceae* são extremamente escassos. Silva e Nogueira (2012) obtiveram, no período de antese e pré-antese, em *Lepidagathis sessifolia* resultados semelhantes ao observado no presente estudo, bem como no trabalho de Miranda (2010), que concluiu através de testes realizados com peróxido de hidrogênio a 2% que *Ruellia subsessilis* apresenta estigma receptivo em diferentes fases do desenvolvimento floral.

Afim de descrever a biologia floral das espécies cleistogâmicas *Ruellia breviflora* e *Ruellia menthoides* (Ness) Hiern, Lima et al. (2005) concluíram que ambas as espécies apresentavam o estigma receptivo em suas flores casmógamas algumas horas após a antese. Enquanto que as flores casmógamas de *R. breviflora* analisadas por Sigrist e Sazima (2002) possuíam estigma receptivo desde a antese.



Figura 6 – Fotografia realizada através da ocular de estereomicroscópio mostrando o processo de borbulha em estigma, indicando a receptividade do mesmo.

5 Conclusão

Conclui-se que *Justicia brasiliiana* é uma espécie de sistema reprodução misto como as demais espécies do gênero já estudadas. Sua autocompatibilidade somada às altas taxas de viabilidade polínica, receptividade do estigma e autocoria permitem que a espécie ocupe ambientes de forma bastante autônoma.

Ainda, cabe ressaltar a carência de estudos que visem estabelecer o sistema reprodutivo do grupo, sendo este o primeiro registro para Acanthaceae no Bioma Pampa. Esta escassez de pesquisas pode ser justificada pela falta de interesse em espécies nativas sem interesse econômico imediato.

Ainda, tem-se como perspectiva somar ao presente trabalho contribuições acerca das espécies de visitantes florais e seus respectivos comportamentos para compreender as interações envolvidas neste ambiente.

Referências

BRAZ, D. M.; VIEIRA, M. F., CARVALHO-OKANO, Rita Maria de. Aspectos reprodutivos de espécies de Acanthaceae Juss. de um fragmento florestal do município de Viçosa, Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 270, n. 47, p.229-239, 2000.

BUENO, R. O. **Fatores que influenciam interações entre beija-flores e plantas na Mata Atlântica: disponibilidade de recursos e ajustes morfológicos**. 2012. 107 f. Tese (Doutorado em Ecologia), Universidade Federal do Paraná, 2012.

BUGONI, J. **Floração de *Justicia brasiliana* Roth (Acanthaceae) e a exploração de seus recursos florais por beija-flores no sul do Brasil**. 2010. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2010.

BUZATO, S. **Ecologia da polinização de duas espécies simpátricas de *Mendoncia* (Acanthaceae), na região de Campinas, São Paulo**. 1990. 64 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1990.

CANELA, M. B. F. **Interações entre plantas e beija-flores numa comunidade de Floresta Atlântica Montana em Itatiaia, RJ**. 2006. 75 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal), Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 2006.

DAFNI, A. **Pollination Ecology: A Practical Approach**. New York: Oxford University Press, 1992. 250 p.

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

ESTACAO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS. Disponível em:
<<http://agromet.cpact.embrapa.br/estacao/mensal.html>>. Acesso em: 13 ago. 2015.

EZCURRA, C. El genero *Justicia* (Acanthaceae) en Sudamerica Austral. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.89, n. 2, p. 225-280, 2002.

FARIA, R. R.; ARAUJO, A. C. Pollination ecology of *Ruellia angustiflora* (Ness) Lindau ex Rambo (Acanthaceae) in the Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 205, n. 2, p. 106-111, 2010.

GOLDENBERG, R.; VARASSIN, I. G. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiaí, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 3, p. 283-288, 2001.

IBGE. Mapa de Biomas do Brasil. Disponível em:
<<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm>>. Acesso em: 10 ago. 2015.

JUDD, W. et al. **Sistemática Vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 632p.

KARASAWA, M. M. G. **Diversidade Reprodutiva de Plantas: Uma Perspectiva Evolutiva e Bases Genéticas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2009. 113p.

LIMA, N. A. et al. Cleistogamia em *Ruellia menthoides* (Ness) Hiern e *R. breviflora* (Pohl) C. Ezcurra (Acanthaceae) em fragmento florestal do Sudeste brasileiro. **Acta botanica brasílica**, v. 19, n. 3, p. 443-449, 2005.

LIMA, N. A. S.; VIEIRA, M. F. Fenologia de floração e sistema reprodutivo de três espécies de *Ruellia* (Acanthaceae) em fragmento florestal de Viçosa, Sudeste brasileiro. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 4, p. 681-687, 2006.

MATIAS, R.; CONSOLARO, H. N. Polinização e sistema reprodutivo de Acanthaceae Juss. no Brasil: uma revisão. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 3, P. 890-907, May/June, 2015.

MCMULLEN, C. Pollinator availability: a possible explanation of inter-island floral variation in *Justicia galapagana* (Acanthaceae). **Noticias de Galapagos**, v. 54, p. 22-27, 1994.

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

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

NADIA, T. L.; DE MENEZES, N. L.; MACHADO, I. C. Floral traits and reproduction of *Avicennia schaueriana* Moldenke (Acanthaceae): a generalist pollination system in the Lamiales. **Plant Species Biology**, v. 28, n. 1, p. 70-80, 2013.

PEREIRA, M. F. P. A. **Biologia da polinização de duas espécies simpátricas de Acanthaceae, na região de Campinas, São Paulo**. 1998. 59 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal), Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 1998.

PROFICE, S.R. et al. Acanthaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB33>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

QUINTANA-VÁSQUEZ, M. Notes on the Pollination Biology of *Justicia candidans* (Acanthaceae) in Central Sonora. **The Southwestern Naturalist** v. 52, n. 2, p. 302-305, Jun. 2007.

RADFORD, A. E. et al. **Vascular Plants Systematics**. New York: Harper & How, 1974. 891p.

SHIVANNA, K. R. Pollination biology, breeding system and reproductive success of *Adhatoda vasica*, an important medicinal plant. **Curr Sci**, v. 96, n. 3, p. 408-412, 2009.

SIGRIST, M. R.; SAZIMA, M. *Ruellia brevifolia* (Pohl) Ezcurra (Acanthaceae): fenologia da floração, biologia da polinização e reprodução. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 1, p. 35-42, 2002.

SILVA, C. A.; NOGUEIRA, G. A. Sistema reprodutivo e polinização de *Lepidagathis sessilifolia* (Pohl) Kameyama ex Wassh. & JRI Wood (Acanthaceae), em remanescente florestal da região sudoeste de Mato Grosso, Brasil. **Acta Amazônica, Manaus-AM**, v. 42, n. 3, p. 315-320, 2012.

SOUZA, Vinícius; LORENZI, Harri. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012. 768p.

STRECK, V. E. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2002. 107p.

VALDIANI, A. et al. Intraspecific crossability in *Andrographis paniculata* Nees: a barrier against breeding of the species. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012

WASSHAUSEN, Dieter; SMITH, Lyman. **Flora Ilustrada Catarinense: Acantáceas**. Itajaí, 1969. 134p.