UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

JUCICLEIDE DE SOUZA MARTINS

Espécies brasileiras de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae): morfoanatomia e estratégias reprodutivas

Piracicaba
2022

JUCICLEIDE DE SOUZA MARTINS

Espécies brasileiras de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae): morfoanatomia e estratégias reprodutivas

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Profª. Drª Adriana Pinheiro Martinelli

Coorientador: Profª. Drª Alice de Moraes Calvente Versieux

Piracicaba

2022

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Martins, Jucicleide de Souza

Espécies brasileiras de Tacinga Britton & Rose (Cactaceae): morfoanatomia e estratégias reprodutivas / Jucicleide de Souza Martins; orientadora Adriana Pinheiro Martinelli; coorientadora Alice de Moraes Calvente Versieux. -- Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2022.
119 p. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2022.

1. Anatomia vegetal 2. Caatinga 3. Cerrado 4. Ecologia vegetal 5. Filogenia 6. Morfologia vegetal 7. Plantas suculentas I. Título.

CDU (582.661.56 + 575.86)

Elaborada por:
Marilia Ribeiro Garcia Henyei
CRB-8/3631
Resolução CFB Nº 184 de 29 de setembro de 2017

AGRADECIMENTOS

Para alcançar um propósito é preciso passar por um processo. Quase sempre esse processo é desafiador, muito mais do que poderíamos imaginar. No entanto, a carga desse processo pode ser amenizada quando é possível contar com o apoio de pessoas queridas. Desse modo, gostaria de agradecer imensamente às pessoas e instituições que tornaram essa jornada possível.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O desenvolvimento da pesquisa contou com o apoio do Programa Nacional de Cooperação Acadêmica – PROCAD (Processo Nº 88881.068513/2014-01) que possibilitou recursos para a coleta do material vegetal em campo e aquisição de material de consumo para o projeto. Também foi realizado um estágio no Laboratório Sistemática Molecular de Plantas do DBEZ, na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), o que me permitiu aprender as técnicas básicas de extração e amplificação de DNA.

Gostaria de agradecer ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) pela oportunidade de cursar o mestrado em Ciências (Biologia na Agricultura e no Ambiente) e por toda estrutura oferecida para o desenvolvimento da pesquisa científica.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), pela estrutura oferecida e pela oferta de disciplinas de grande contribuição para a minha formação.

À minha orientadora, Profª. Drª. Adriana Pinheiro Martinelli, pela oportunidade, orientação e incentivo. Lembro-me bem do incentivo dado desde a participação na seleção de mestrado. Ela não tem noção do quanto contribuiu para a minha formação como profissional e como pessoa.

À minha coorientadora, Profª. Drª. Alice de Moraes Calvente Versieux, pela colaboração na elaboração desse projeto de pesquisa e no seu desenvolvimento. Também sou muito grata a ela por me ajudar a dar os primeiros passos na escrita acadêmica. Se existe mãe de carreira acadêmica, Alice foi a minha.

À técnica do Laboratório de Biologia do Desenvolvimento e Estrutura Vegetal, Mônica Lanzoni Rossi, por sua amizade, ensinamentos e parceria diária. A Mônica sempre esteve disposta a me ajudar, seja no desenvolvimento das análises de microscopia, regando plantas, montando belas pranchas, me aconselhando, ou simplesmente desejando bom dia. Sou muito grata. Seu amor pela microscopia inspira a todos que te rodeiam.

Ao técnico do Laboratório de Biotecnologia Vegetal – CENA/USP, Marcelo Correa, principalmente por suas contribuições nas análises moleculares.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Biotecnologia Vegetal – CENA/USP, por compartilhar momentos, experiências, alegrias e aflições intrínsecas do meio acadêmico. Agradeço à Eveline Tavano, por estar sempre disposta a tirar dúvidas, seja da área molecular ou da cultura de tecidos. Ao Edypol Baptista, pelas caronas na autoclave para minhas ponteiras. Ao Kleber Resende Silva, por sua amizade e pelas inúmeras colaborações, desde um auxílio nas coletas em campo, me ajudando a encontrar as plantas por meio da sua visão de águia, à contribuição nas análises anatômicas, me ensinando novas técnicas de infiltração e coloração de lâminas, por exemplo. Ao Everton Hilo de Souza, por sua amizade e valiosa participação nessa jornada. Sem sua contribuição não teria sido possível coletar as plantas necessárias para o desenvolvimento dessa pesquisa. O Hilo é prestativo e determinado. Essas suas qualidades foram fundamentais para conduzir a missão de campo. À querida Sandra Santa Rosa, por sua amizade, ensinamentos, conversas, passeios e por me guiar em minha primeira vinda a Piracicaba. Obrigada por me incentivar e me ensinar tanto. À Vivi Zambon, por sua amizade, carinho, gentileza, conversas, almoços, carona para rodoviária, livro da biologia da polinização e tantas outras coisas boas. À Tatiana Moraes, pelos conselhos e por ser inspiração.

Ao Laboratório de Melhoramento de Plantas, coordenado pelo Prof. Dr. Antônio Figueira, pelo empréstimo de equipamentos, e ao técnico Felippe Campana pela disponibilidade em auxiliar no uso destes.

Ao Laboratório de Biologia Celular e Molecular, em especial à Profª. Drª. Marli Fiore e à técnica Ana Paula Andreote, pela disponibilidade e tentativa inicial de sequenciar amostras para o estudo da filogenia das espécies em estudo, embora essa tentativa não tenha gerado resultados.

À querida Mariana Ramos Fantinati pela paciência, ensinamentos e acolhimento durante o estágio na UFRN.

À Danielle Scotton pela amizade e por partilhar alegrias e aflições inerentes à vivência em laboratório.

À Helenilda Rodrigues, pela amizade, conversas e companhia na Esalq. Agradeço por me acompanhar nos almoços no restaurante universitário, nas aulas e coletas de frutos pelo Campus.

A todos os funcionários do CENA, pela disposição em ajudar a solucionar diversas questões. Agradeço em especial, à Suzi Manesco, por sua alegria e agilidade em realizar seu trabalho. A toda equipe do serviço de pós-graduação do CENA, em especial, à Cleide Marques, por sua educação e gentileza no atendimento. À Marilia Henyei, pela disponibilidade, dedicação e agilidade para revisar esse trabalho.

Ao senhor Dazizo Moraes, por ter me ajudado a encontrar as primeiras tacingas em João Câmara - RN, por se disponibilizar tantas vezes para idas a campo, por sua cautela, gentileza e ensinamentos.

Ao Irmão Delmar, de Morro do Chapéu - BA, por ter guiado a nossa busca pelas tacingas na referida cidade.

À Amanda Souza, por sua amizade e disponibilidade para ajudar, capturando belíssimas imagens de *T. inamoena* no campo.

À minha família, por acreditar em mim, por me apoiar e por ser a razão da minha motivação para buscar sempre melhorar. Gostaria de agradecer aos meus avós por todo cuidado desde sempre. À minha mãe por sempre sonhar junto comigo e me apoiar nos meus projetos. Ao meu pai, pelo apoio financeiro. Aos meus tios, Edilson França e Emilson Cosme, pelas passagens aéreas SP-RN. Às minhas tias, por todas as palavras de conforto. Aos meus primos e primas, por acreditarem em mim. Ao meu primo, Wendell Alves, por dividir comigo momentos de aflições acadêmicas. Ao meu irmão, Joseph Martins, por ser meu grande parceiro de coletas de campo e monitoramento das plantas no RN, desde o período da iniciação científica. Às minhas primas e comadres, Emiliane Martins e Elaine Martins, por todo amor e apoio.

A todos os meus amigos e amigas, por toda atenção, apoio, motivação e por estarem sempre presentes, mesmo estando longe. Agradeço em especial, à Maiara Santos, Lorayne Kelly Nascimento, Cephas Barreto.

À Escola Estadual Márcia Regina Modesto de Paula da Rocha, em especial à equipe de professores e aos estudantes, que renovaram meu ânimo e esperança diariamente.

Por fim, e não menos importante, agradeço a Deus por me dar força e coragem para ir em busca dos meus objetivos.

RESUMO

MARTINS, J. S. **Espécies brasileiras de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae): morfoanatomia e estratégias reprodutivas.** 2022. 119 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2022.

O gênero *Tacinga*, pertencente à Família Cactaceae, é composto atualmente por dez espécies (*T. inamoena, T. palmadora, T. funalis, T. braunii, T. werneri, T. saxatilis, T. subcylindrica, T. armata, T. gladispina, T. lilae*), duas subespécies (*T. saxatilis* subsp. *saxatilis*, *T. saxatilis* subsp. *estevesii*) e duas notoespécies (*T.* x *quipá*, *T.* x *flammea*). Todas são nativas e endêmicas do Brasil, com exceção de *T. lilae*, que ocorre na Venezuela. O gênero é amplamente distribuído no nordeste brasileiro e está presente em parte do estado de Minas Gerais, nos biomas Caatinga e Cerrado, onde detém grande importância ecológica, ornamental e alimentícia. Todavia, estudos sobre o gênero ainda são necessários, especialmente para caracterização da morfologia, anatomia e estratégias reprodutivas de suas espécies. Visando ampliar o conhecimento científico sobre este gênero, o objetivo desta pesquisa consiste em analisar a morfologia e anatomia de espécies do gênero *Tacinga*, bem como ampliar a compreensão das estratégias reprodutivas no grupo sob uma perspectiva filogenética. A pesquisa compreende uma caracterização de órgãos vegetativos (caule/cladódios) e reprodutivos por microscopia eletrônica de varredura e microscopia de luz, um estudo das características e estratégias reprodutivas e a reconstrução da filogenia do gênero com base em análises Bayesianas. A caracterização do hábito e porte das plantas das espécies deste gênero sugerem a existência de três grupos, considerando as espécies aqui estudadas: grupo 1, formado por arbustos de pequeno porte, constituído das espécies *T. subcylindrica*, *T. inamoena* e *T.* x *flammea*; grupo 2, que inclui arbustos de médio porte, composto por *T. palmadora* e *T. werneri*; e grupo 3, que engloba os arbustos escandentes e abrange *T. braunii* e *T. funalis*. As análises anatômicas revelam semelhanças na anatomia do caule com outras espécies da subfamília Opuntioideae. Em seu aspecto anatômico geral, o caule (cladódio) é constituído por epiderme, camada subepidérmica colenquimática, parênquima clorofiliano, parênquima aquífero, feixes vasculares e medula. Entretanto, importantes diferenças anatômicas corroboram a existência de grupos morfológicos distintos dentro do gênero, como a epiderme do cladódio fortemente ondulada em *T. palmadora* e *T. werneri*, e plana nas demais espécies. Sobre a morfoanatomia floral, as espécies de *Tacinga* apresentam flores morfologicamente distintas. As flores variam na cor das tépalas, formato do pericarpelo, cor dos filetes, formato das escamas basais, entre outros. A reconstrução da filogenia revela que *Tacinga* é um grupo monofilético bem suportado. Por fim, a reconstrução de estado ancestral dos caracteres florais sugere que as flores de *Tacinga* seriam polinizadas por beija-flor e evoluíram para também serem polinizadas por artrópodes. Os resultados obtidos neste estudo auxiliam na compreensão dos aspectos morfoanatômicos de estruturas vegetativas e reprodutivas do gênero *Tacinga*, podendo ser úteis para diferentes áreas do conhecimento, tais quais a taxonomia e ecologia.

Palavras-chave: Anatomia do caule. Anatomia floral. Biologia reprodutiva. Filogenia. Morfologia.

ABSTRACT

MARTINS, J. S. **Brazilian species of *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae): morphoanatomy and reproductive strategies.** 2022. 119 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2022.

The genus Tacinga belongs to the Cactaceae family, is currently composed of ten species, (*T. inamoena, T. palmadora, T. funalis, T. braunii, T. werneri, T. saxatilis, T. subcylindrica, T. armata, T. gladispina, T. lilae*), two subspecies (*T. saxatilis* subsp. *saxatilis*, *T. saxatilis* subsp. *estevesii*), and two nothospecies (*T.* x *quipá, T.* x *flammea*). All species, except *T. lilae*, are native and endemic to Brazil, and *T. lilae* is endemic to Venezuela. The genus is widely distributed in northeastern Brazil and is present in part of the state of Minas Gerais, in the Caatinga and Cerrado biomes, with great ecological, ornamental and food importance. However, studies on the genus are still needed, especially to characterize the morphology, anatomy, and reproductive strategies of its species. Aiming to expand the scientific knowledge of this genus, the objective of this research is to analyze the morphology and anatomy of *Tacinga* species and to broaden the understanding of the reproductive strategies in the group from a phylogenetic perspective. The research comprises a characterization of vegetative (stem/cladodes) and reproductive organs by scanning electron microscopy and light microscopy, a study of reproductive characteristics and strategies and the reconstruction of the phylogeny of the genus based on Bayesian analyses. The characterization of plant size and architecture of the species of this genus suggest the existence of three groups, considering the species studied here: group 1, formed by small shrubs, consisting of the species *T. subcylindrica*, *T. inamoena*, and *T.* x *flammea*; group 2, which includes medium-sized shrubs, composed of *T. palmadora* and *T. werneri*; and group 3, which includes the scandent shrubs, composed of *T. braunii* and *T. funalis*. Anatomical analyzes reveal similarities in the anatomy of vegetative organs with other species of the subfamily Opuntioideae. In its general anatomical appearance, the stem (cladode) consists of the epidermis, subepidermal collenchymatic layer, parenchyma containing chloroplasts, aquifer parenchyma, vascular bundles, and medulla. However, important anatomical differences corroborate the existence of distinct morphological groups within the genus, such as the cladode epidermis with an undulated pattern in *T. palmadora* and *T. werneri* and flat in the other species. Regarding floral morphoanatomy, *Tacinga* species present morphologically distinct flowers. The flowers vary in the color of the tepals, shape of the pericarpel, color of the filaments, shape of the basal scales, among others. Phylogeny reconstruction reveals that *Tacinga* is a well-supported monophyletic group. Finally, the ancestral state reconstruction of floral characters suggests that *Tacinga* flowers would be pollinated by hummingbirds and evolved to be pollinated by arthropods as well. The results obtained in this study help understand the morphoanatomical aspects of vegetative and reproductive structures of the genus *Tacinga*, and may be useful for different areas of knowledge, such as taxonomy and ecology

Keywords: Floral anatomy. Morphology. Phylogeny. Reproductive biology. Stem anatomy.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1 - Plantas de sete espécies de *Tacinga* observadas nos locais de coleta 50

Figura 2 - Plantas e detalhe do cladódio das espécies *Tacinga subcylindrica*, *Tacinga inamoena* e *Tacinga x flammea* 52

Figura 3 - Plantas e detalhe do cladódio das espécies *Tacinga palmadora* e *Tacinga werneri* cultivadas em casa de vegetação 53

Figura 4 - Plantas e detalhe do cladódio das espécies *Tacinga funalis* e *Tacinga braunii* cultivadas em casa de vegetação 54

Figura 5 - Aréolas observadas em cladódios adultos de espécies de *Tacinga* 56

Figura 6 - Anatomia do cladódio de *Tacinga* 58

Capítulo 2

Figura 1 - Posição das flores e morfologia floral em 5 espécies de *Tacinga* 78

Figura 2 - Morfologia floral em 5 espécies de *Tacinga* 79

Figura 3 - Detalhes da morfologia floral em 5 espécies de *Tacinga* 80

Figura 4 - Morfologia do grão de pólen de *Tacinga* 81

Figura 5 - Período de floração de espécies de *Tacinga* 84

Figura 6 - Contagem e estimativas em biologia reprodutiva em espécies de *Tacinga* 86

Figura 7 - Análise comparativa das características e estratégias reprodutivas em espécies de *Tacinga* 87

Figura 8 - Anatomia do pericarpelo floral de *Tacinga* 89

Figura 9 - Anatomia das tépalas florais de *Tacinga* 90

Figura 10 - Anatomia do nectário de *Tacinga* 94

Figura 11 - Anatomia do androceu de *Tacinga* 95

Figura 12 - Anatomia do ovário de *Tacinga* 96

Figura 13 - Anatomia do estilete da flor de *Tacinga* 97

Figura 14 - Anatomia do estigma de *Tacinga* 98

Figura 15 - Reconstrução da filogenia de *Tacinga* 99

Figura 16 - Reconstrução de estados de caráter de *Tacinga*, realizada por análise de parcimônia 101

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1 - Lista de espécies de *Tacinga* coletadas, dados da localidade e número de *voucher* Herbário ESA 48

Capítulo 2

Tabela 1 - Tabela resumida de caracteres morfológicos e reprodutivos em flores de cinco espécies de *Tacinga* 82

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 17

Referências 22

2. OBJETIVOS 25

3. REVISÃO DE LITERATURA 29

3.1. A família Cactaceae 31

3.2. O gênero *Tacinga* 31

3.3. Estudos sobre o gênero 33

3.4. *Tacinga:* importância ambiental, econômica e alimentícia 35

Referências 37

4. CAPÍTULO 1 – Morfoanatomia do caule de espécies de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae) 41

Resumo 43

Abstract 44

4.1. Introdução 45

4.2. Materiais e Métodos 47

4.2.1 Amostragem 47

4.2.2 Caracterização morfoanatômica do caule (cladódio) 48

4.3. Resultados 50

4.3.1 Morfologia do caule (cladódio) 50

4.3.2 Anatomia do caule (cladódio) 57

4.4. Discussão 59

4.5. Conclusões 61

Referências 62

5. CAPÍTULO 2 - Morfologia floral e estratégias reprodutivas de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae) 65

Resumo 67

Abstract 68

5.1. Introdução 69

5.2. Materiais e Métodos 71

5.2.1 Amostragem 71

5.2.2 Análises microscópicas 72

5.2.3 Análises de caracteres e estratégias reprodutivas 73

5.2.4 Análises filogenéticas e de reconstrução dos estados de caráter ancestrais 74

5.3. Resultados 76

5.3.1 Morfologia floral 76

5.3.2 Características e estratégias reprodutivas 84

5.3.3 Anatomia floral 88

5.3.4 Reconstrução da filogenia de *Tacinga* e evolução de caracteres e estratégias reprodutivas 99

5.4. Discussão 105

5.5. Conclusões 115

Referências 116

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS 119

1.INTRODUÇÃO

Tacinga inamoena (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy – Botões florais

Imagem: Jucicleide Martins

1. INTRODUÇÃO

Dentre as famílias botânicas existentes no planeta terra, a família Cactaceae Juss. se destaca por sua afinidade e adaptação à aridez do ambiente (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014). Os ambientes áridos e semiáridos são amplamente distribuídos pelo mundo (PEEL et al., 2007). Estimativas sugerem que espécies de Cactaceae começaram a aparecer nesse tipo de ambiente há cerca de 35 milhões de anos (ARAKAKI et al., 2011).

A família Cactaceae apresenta espécies tipicamente xerófitas, com caules suculentos, que ocorrem em regiões secas do Novo Mundo (ANDERSON, 2001). Plantas suculentas são aquelas que possuem uma considerável capacidade de armazenamento de água (ARAKAKI et al., 2011). A ampla variedade morfológica e de estratégias em cactáceas se traduz em diversos níveis de suculência, formas de crescimento, hábitos, variedade de substrato em que podem crescer, porte das plantas e padrões de variação das características do caule (superfície do caule, folhas, espinhos, aréolas) (ANDERSON, 2001). Todas essas características fazem dos cactos plantas resistentes a condições extremas, com diferentes níveis de plasticidade, adquirindo assim grande importância ambiental. Os cactos podem ocupar desde desertos a florestas tropicais (ANDERSON, 2001).

Além da importância ambiental, as cactáceas também possuem grande importância alimentícia e econômica. Nas Américas, as cactáceas há muito tempo fazem parte da alimentação humana, principalmente por meio do consumo de frutos *in natura* (ANDERSON, 2001). Espécies do gênero *Hylocereus* (A. Berger) Britton & Rose, conhecidas popularmente como pitayas, são amplamente cultivadas para fins comerciais, particularmente para a produção e comercialização de frutos, em diversos países do mundo (NERD et al., 2002). No Brasil, as pitayas vêm ganhando espaço, principalmente nos estados de São Paulo, Santa Catarina, Pará, Bahia, Paraná, Mato Grosso e Rio Grande do Sul (LONE et al., 2020).

Outras cactáceas, endêmicas e nativas do Brasil, tais como *Cereus jamacaru* DC., *Melocactus bahiensis* (Brtitton & Rose) Luetzelb., *Pilosocereus pachycladus* F. Ritter, *Tacinga inamoena* (K. Schum) N.P. Taylor & Stuppy e *Tacinga palmadora* (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy, também têm seus frutos consumidos *in natura*, porém, apenas para uso tradicional das populações, em especial na região do semiárido brasileiro (LUCENA et al., 2013). Embora o enfoque não seja exploração comercial, isto revela o potencial de uso das cactáceas nativas, ainda a ser explorado. Além disso, *Cereus jamacaru*, *Pilosocereus* sp., *Melocactus* sp e *Tacinga* sp. também são comumente usadas na forragem animal (LUCENA et al., 2013).

Cactos introduzidos no Brasil, como *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck., *Opuntia fícus-indica* (L.) Mill, e *Opuntia stricta* (Haw.) Haw também são bastante difundidos no semiárido, especialmente para uso alimentar humano e o uso como forragem (LUCENA et al., 2013). As palmas, *Opuntia fícus-indica* e *Nopalea cochenillifera*, conhecidas popularmente como palma gigante e palma doce, respectivamente, são comumente cultivadas no Nordeste do Brasil (SILVA et al., 2015) e são consideradas boas opções para alimentar o gado no sertão brasileiro (ANDRADE; MARQUES; ZAPPI, 2006).

Outros cactos opuntioides nativos, tais como as tacingas, representam importantes fontes de recursos alimentares, especialmente no nordeste brasileiro. O gênero *Tacinga* Britton & Rose, objeto de estudo desta pesquisa, compreende um importante grupo de cactos palmados, com espécies comumente utilizadas na alimentação humana e animal, bem como para ornamentação, no semiárido brasileiro (LUCENA et al., 2013). No entanto, em termos de conhecimento e uso no país, este gênero é incipiente e pode revelar um potencial ainda a ser explorado, tanto para o uso comercial de frutos, como para obtenção de outros produtos. As espécies *opuntioides* podem constituir importantes meios de subsistência, gerando emprego e reduzindo a pobreza, especialmente em regiões áridas e semiáridas do mundo (MAZRI, 2018).

Diante da diversidade de usos, da importância ambiental, alimentícia e econômica, da morfologia característica bastante diversificada e tolerância à seca, o potencial das cactáceas na agricultura deve ser melhor analisado e possivelmente explorado. No entanto, para que seja possível a ampliação do cultivo dessas suculentas, é preciso conhecer melhor os aspectos morfológicos, fisiológicos e da biologia reprodutiva dessas plantas. As cactáceas possuem diversas adaptações morfológicas, anatômicas e fisiológicas (ANDERSON, 2001). Conhecer melhor a morfologia floral das espécies pode auxiliar na identificação de polinizadores, conhecer a morfologia do fruto pode ser importante para reconhecer os dispersores de sementes, reconhecer a fenologia da planta, suas épocas de floração e frutificação pode facilitar no planejamento de plantio e colheita, consequentemente todos esses aspectos podem contribuir para a obtenção do sucesso de culturas, bem como embasar o melhoramento de plantas dessas espécies. Além disso, pensando nos possíveis desafios globais no fornecimento de alimentos no planeta, e considerando que o alcance e a intensidade da desertificação vêm aumentando ao longo das últimas décadas (MIRZABAEV et al., 2019), as cactáceas, por serem amplamente adaptadas aos ambientes que seriam adversos para diversas culturas, podem se tornar importantes produtos agrícolas no futuro.

Tacinga constitui um grupo de espécies endêmicas do Brasil, com exceção de uma única espécie que ocorre na Venezuela (MACHADO; TAYLOR, 2003; TAYLOR; ZAPPI, 2004;

MAJURE et al., 2013; FREITAS et al., 2021). Além da importância e diferentes usos, *Tacinga* tem diversas particularidades morfológicas ainda pouco estudadas. As plantas são arbustos, marcados pela presença de gloquídeos, espinhos presentes ou ausentes, flores e frutos geralmente solitários (BRITTON; ROSE, 1919). Todas as espécies do gênero possuem aréolas (TAYLOR; ZAPPI, 2004), as quais são características de todas as Cactaceae (ANDERSON, 2001; SÁNCHEZ et al., 2015). Consideradas como regiões com acúmulo de gemas em razão de entrenós curtos (MAUSETH, 2006), as aréolas podem produzir espinhos, folhas ou flores (SÁNCHEZ et al., 2015). Em *Tacinga*, as aréolas são observadas no caule (cladódios), flores e frutos, em todas as espécies do gênero.

Semelhanças e plasticidade fenotípica com sobreposição de caracteres entre as espécies do gênero *Tacinga*, tanto de órgãos vegetativos (caule/cladódio), quanto reprodutivos, dificultam o reconhecimento destas. Além disso, a Família Cactaceae é conhecida por apresentar espécies, ou complexos de espécies, que não são suficientemente compreendidos e necessitam de estudos mais detalhados (KOROTKOVA et al., 2021). Logo, estudos sobre o gênero ainda são necessários, especialmente para ampliar a compreensão da morfologia, anatomia e estratégias reprodutivas dessas espécies com potencial de usos diversos. Desse modo, com o objetivo de expandir o conhecimento a respeito do gênero, essa dissertação aborda aspectos morfo-anatômicos e reprodutivos de *Tacinga*, sendo organizada em dois capítulos.

O Capítulo 1 apresenta resultados da morfoanatomia do caule de espécies de *Tacinga*. Este capítulo inclui estudos da anatomia caulinar (cladódios) de seis espécies de *Tacinga* (*T. funalis, T. braunii, T. subcylindrica, T. palmadora, T. inamoena, T. werneri*) e uma notoespécie, (*T.* x *flammea*). O Capítulo 2 apresenta resultados da morfoanatomia floral e revela características e estratégias reprodutivas do gênero, sob uma perspectiva filogenética. Esse capítulo inclui estudos de cinco espécies de *Tacinga*: *T. funalis, T. braunii, T. subcylindrica, T. palmadora* e *T. inamoena.*

Referências

ANDERSON, E. F. **The cactus family**. Portland: Timber Press, 2001.

ANDRADE, C. T. S.; MARQUES, J. G. W.; ZAPPI, D. C. Utilização de cactáceas por sertanejos baianos: tipos conexivos para definir categorias utilitárias. **Sitientibus - Série Ciências Biológicas**, v. 6, p. 3-12, 2006. N. esp.: Etnobiologia.

ARAKAKI, M. et al. Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 108, n. 20, p. 8379-8384, 2011.

BRITTON, N. L.; ROSE, J. N. **The Cactaceae**. Washington, DC: The Carnegie Institution, 1919. v. 1.

FREITAS, J. G. et al. Novelties in Cactaceae from Eastern Brazil: Adding two new species and one new nothospecies to Tacinga (Opuntioideae). **Phytotaxa**, v. 490, n. 3, p. 239-252, 2021.

HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, T. et al. Beyond aridification: multiple explanations for the elevated diversification of cacti in the New World Succulent Biome. **New Phytologist**, v. 202, n. 4, p. 1382-1397, 2014.

KOROTKOVA, N. et al. Cactaceae at Caryophyllales.org – a dynamic online species-level taxonomic backbone for the family. **Willdenowia**, v. 51, n. 2, p. 251-270, 2021.

LONE, A. B. et al. **Cultivo de pitaia**. Florianópolis: Epagri, 2020. 47 p. (Boletim Técnico, n. 196).

LUCENA, C. M. et al. Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 9, n. 1, p. 62, 2013.

MACHADO, M.; TAYLOR, N. A new subspecies of *Tacinga inamoena* (Cactaceae) from Eastern Bahia, Brazil. **Bradleya**, v. 21, p. 13–16, 2003.

MAJURE, L. C. et al. *Opuntia lilae*, Another *Tacinga* Hidden in *Opuntia s.l.* (Cactaceae). **Systematic Botany**, v. 38, n. 2, p. 444–450, 2013.

MAUSETH, J. D. Structure–function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. **Annals of Botany**, v. 98, n. 5, p. 901-926, 2006.

MAZRI, M. A. Cactus pear (Opuntia spp.) breeding. In: AL-KHAYRI, J.; JAIN, S.; JOHNSON, D. (eds.). **Advances in plant breeding strategies**: Fruits. Cham: Springer, 2018. p. 307-341.

MIRZABAEV, A et al. Desertification. In: SHUKLA, P. R. et al. (eds.). **Climate Change and Land**: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems. Geneva, 2019.

NERD, A.; TEL-ZUR, N.; MIZRAHI, Y. Fruits of vine and columnar cacti. In: NOBEL, P. S. (ed.). **Cacti**: Biology and uses. Berkeley: University Press Scholarship Online, 2002.

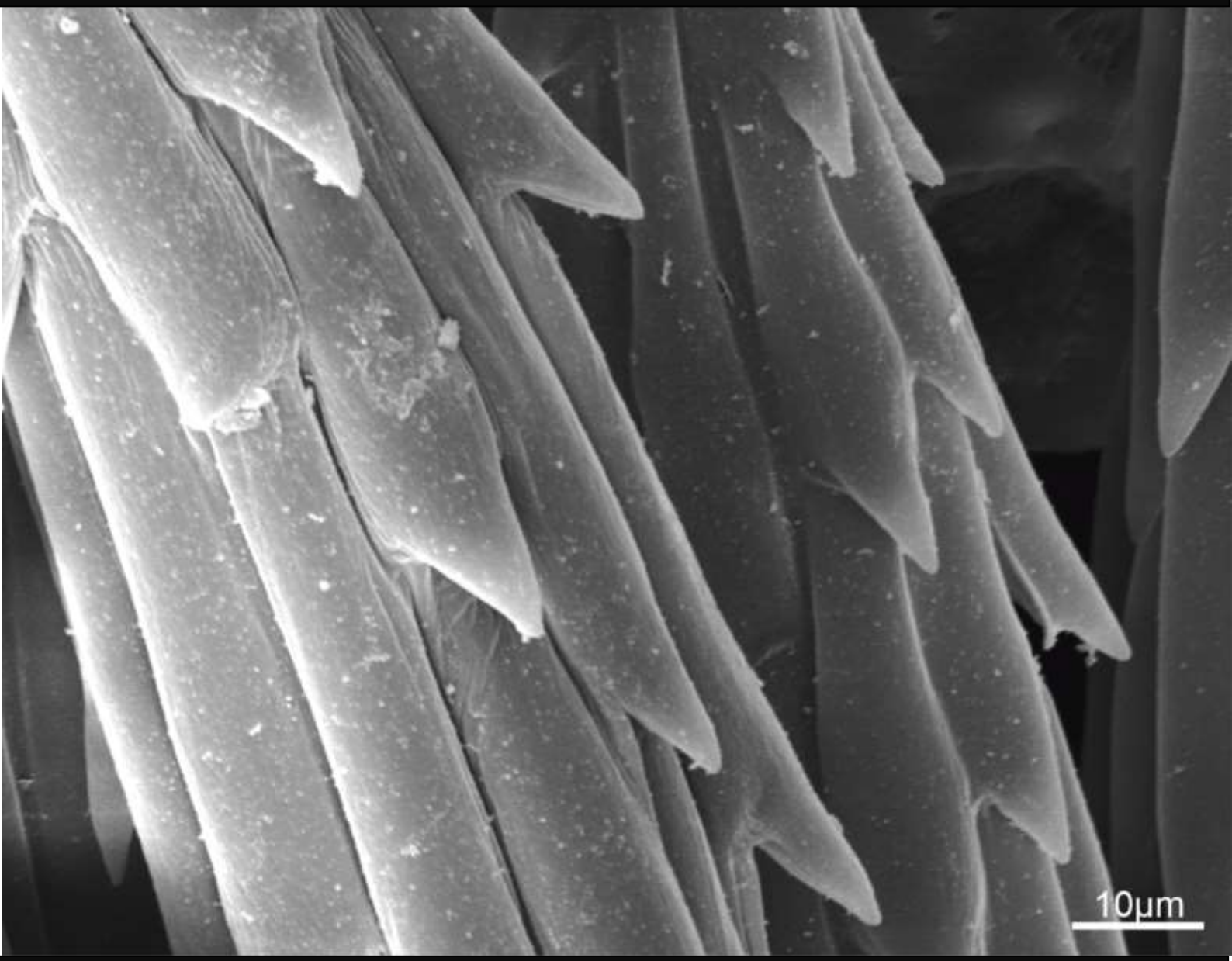
PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; McMAHON, T. A. Updated world map of the K€oppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences**, v. 11, p. 1633–1644, 2007.

SÁNCHEZ, D. et al. How and why does the areole meristem move in Echinocereus (Cactaceae)? **Annals of botany**, v. 115, n. 1, p. 19-26, 2015.

SILVA, R. R.; SAMPAIO, E. V. S. B. Palmas forrageiras *Opuntia fícus-indica* e *Nopalea cochenillifera*: sistemas de produção e usos. **Revista Geama**, v. 1, n. 2, p. 151-161, 2015.

TAYLOR, N. P.; ZAPPI, D. C. **Cacti of eastern Brazil**. Kew, UK: The Royal Botanic Gardens, 2004.

2. OBJETIVOS



Tacinga subcylindrica M. Machado & N.P. Taylor – Gloquídeo observado em microscopia eletrônica de varredura

Imagem: Mônica L. Rossi.

2. OBJETIVOS

- *Objetivo Geral*

O objetivo dessa pesquisa é ampliar o conhecimento sobre a morfologia, anatomia e estratégias reprodutivas do gênero *Tacinga*, sob uma perspectiva filogenética.

- *Objetivos específicos*

- Caracterizar e analisar comparativamente a morfologia e anatomia caulinar das espécies *Tacinga funalis*, *T. braunii*, *T. subcylindrica*, *T. palmadora*, *T. inamoena*, *T. werneri* e *T.* x *flammea*;
- Caracterizar e analisar comparativamente a morfologia e anatomia floral das espécies *Tacinga funalis*, *T. braunii*, *T. subcylindrica*, *T. palmadora, T. inamoena* e ampliar a compreensão de suas estratégias reprodutivas, sob uma perspectiva filogenética.

3. REVISÃO DE LITERATURA

Tacinga subcylindrica M. Machado & N.P. Taylor – Flor em antese

Imagem: Jucicleide Martins

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. A família Cactaceae

A família Cactaceae é composta por aproximadamente 150 gêneros e 1851 espécies (KOROTKOVA et al., 2021). No Brasil, a família é representada por 81 gêneros (ZAPPI; TAYLOR, 2020), dos quais 28 são encontrados na região leste do país (TAYLOR; ZAPPI, 2004). Das 484 espécies encontradas no Brasil, 208 são endêmicas (ZAPPI; TAYLOR, 2020).

Os gêneros da família Cactaceae geralmente encontram-se agrupados em quatro subfamílias: Pereskioideae, Maihuenioideae, Opuntioideae e Cactoideae (ANDERSON, 2001; NYFFELER; EGGLI, 2010), embora alguns estudos, com base em dados moleculares, proponham o reconhecimento de outras subfamílias, como Blossfeldioideae (NYFFELER, 2002; CROZIER, 2005) e Leuebergioideae (KOROTKOVA, 2021; LODÉ, 2013).

Pereskioideae representa o grupo de cactos com as características mais plesiomórficas ou ancestrais dentro de Cactaceae. As plantas desta subfamília são árvores ou arbustos e possuem folhas persistentes e não suculentas. Maihuenioideae é caracterizada por arbustos cespitosos, caule suculento, curto cilíndrico a globoso, com folhas pequenas, cilíndricas, persistentes. Cactoideae é constituída por plantas com hábitos e formas variáveis, com plantas globosas e colunares, além de epífitas. O caule em Cactoideae é segmentado, as aréolas não possuem folhas ou possuem folhas reduzidas a escamas e os gloquídeos estão ausentes. Por outro lado, Opuntioideae engloba as espécies de caule segmentado e aplanado (cladódios), folhas geralmente cilíndricas e efêmeras e gloquídeos (ANDERSON, 2001; GRIFFITH, 2014).

A especialização morfológica em Cactaceae pode estar relacionada com a sua ampla distribuição em regiões áridas e semiáridas no planeta. Porém, Cactaceae pode ocorrer em uma considerável diversidade de habitats (CONDE, 1975), em uma ampla faixa de distribuição geográfica nas Américas. As espécies de Cactaceae, nativas no Novo Mundo, com exceção apenas de *Rhipsalis baccifera* (J.M. Muell.) Stearn, ocorrem desde o Canadá até o extremo sul da América do Sul. Portanto, é possível encontrar cactáceas tanto em desertos secos quanto em florestas tropicais (ANDERSON, 2001).

3.2 O gênero *Tacinga*

O gênero *Tacinga* foi descrito inicialmente por Britton & Rose, em 1919, inicialmente contendo uma única espécie, *Tacinga funalis* Britton & Rose, encontrada na caatinga baiana (BRITTON; ROSE, 1919). Posteriormente, uma segunda espécie, *Tacinga braunii* Esteves,

foi incorporada ao gênero, em 1989 (TAYLOR; STUPPY; BARTHLOTT, 2002; TAYLOR; ZAPPI, 2004). Em 2002, estudos dos caracteres morfológicos das plantas, análises palinológicas e estruturais das sementes, possibilitaram uma ampliação do número de espécies do gênero *Tacinga*. Quatro espécies endêmicas do leste do Brasil, anteriormente pertencentes ao gênero *Opuntia* (*O. inamoena, O. palmadora, O. saxatilis* e *O. werneri*) apresentaram caracteres mais relacionados à *Tacinga* do que às demais espécies de *Opuntia sensu stricto* (TAYLOR; STUPPY; BARTHLOTT, 2002), passando a integrar o gênero *Tacinga*, sendo então renomeadas de *T. inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy*, T. palmadora* (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy*, T. saxatilis* (Ritter) N.P. Taylor & Stuppy e *T. werneri* (Eggli) N.P. Taylor & Stuppy*.*

Duas subespécies (*T. saxatilis* (Ritter) N.P. Taylor & Stuppy subsp. *saxatilis e T. saxatilis* subsp. *estevesii* (P.J. Braun) N.P. Taylor & Stupp) e uma notoespécie (*T.* x *quipa* F.A.C. Weber N.P. Taylor & Stuppy) também são descritas como pertencentes ao gênero *Tacinga* (TAYLOR; ZAPPI, 2004). Em 2003, uma nova subespécie foi descrita para *T. inamoena*, *T. inamoena* subsp. *subcylindrica* M. Machado & N.P. Taylor (MACHADO; TAYLOR, 2003)*.* No entanto, posteriormente, esta subespécie passou a ser reconhecida como espécie, sendo nomeada *T. subcylindrica* M. Machado & N.P. Taylor (TAYLOR; ZAPPI, 2018)*.*

Por um longo período, o gênero *Tacinga* foi considerado exclusivamente brasileiro, dado que as sete espécies (*T. inamoena, T. palmadora, T. funalis, T. braunii, T. werneri, T. saxatilis* e *T. subcylindrica*), as duas subespécies (*T. saxatilis* subsp. *saxatilis* e *T. saxatilis* subsp. *estevesii*) e uma notoespécie (*T.* x *quipa*) de *Tacinga* ocorrem apenas no Brasil (MACHADO; TAYLOR, 2003; TAYLOR; STUPPY; BARTHLOTT, 2002; TAYLOR; ZAPPI, 2004)*.* No entanto, uma investigação morfológica associada à análise filogenética, indicou claramente que a espécie *Opuntia lilae* Trujillo & M. Ponce, que ocorre no nordeste da Venezuela, seria também um membro de *Tacinga.* Com base nesses resultados, a espécie foi então transferida para *Tacinga,* sendo nomeada: *T. lilae* (Trujillo & M. Ponce) Majure & R. Puente (MAJURE et al., 2013), elevando assim o número de integrantes no gênero para oito espécies e uma notoespécie.

Recentemente, duas novas espécies (*T. armata* J. G. Freitas & E. M. Almeida e *T. gladispina* J. G. Freitas & E. M. Almeida) e uma notoespécie (*T.* x *flammea* J. G. Freitas & E. M. Almeida) foram identificadas no nordeste brasileiro (FREITAS et al., 2021). No total, o gênero é composto atualmente por dez espécies (*T. inamoena, T. palmadora, T. funalis, T. braunii, T. werneri, T. saxatilis, T. subcylindrica, T. armata, T. gladispina* e *T. lilae)*,

duas subespécies (*T. saxatilis* subsp*. saxatilis* e *T. saxatilis* subsp. *estevesii)* e duas notoespécies (*T.*x *quipá, T. x flammea)* (TAYLOR; ZAPPI, 2004; FREITAS et al., 2021).

O mesmo estudo que descreve as recentes descobertas botânicas para o gênero, propõe a existência de grupos morfológicos não formais no gênero, são eles: 1) *T. funalis* e *T. braunii*; 2) *T.* x *quipa* (*T. palmadora* x *T. inamoena*) e *T. subcylindrica*; 3) *T. armata*, *T. lilae*, *T. palmadora* e *T. werneri*; 4) *T.* x *flammea, T. gladispina, T. inamoena* e *T. saxatilis.* Cada grupo morfológico formado se baseia em características morfológicas comuns entre as espécies, por exemplo, o primeiro grupo engloba espécies com caules (cladódios) longos, o segundo grupo apresenta espécies com ramos curtos e flores laranja com estaminódios circundando os estames, o terceiro grupo inclui espécies com caule espinhoso e o quarto grupo associa espécies que crescem formando tapetes densos e apresentam cladódios planos oblongos, ovados ou orbiculares (FREITAS et al., 2021).

Com relação à distribuição geográfica de *Tacinga* no Brasil, *T. funalis* ocorre nos estados de Pernambuco e Bahia; *T. braunii* apresenta distribuição restrita ao nordeste de Minas Gerais, no vale do rio Jequitinhonha; *T. palmadora* tem ampla distribuição, ocorrendo nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia; *T. werneri* ocorre na Bahia e nordeste de Minas Gerais, porém, *T. werneri* e *T. palmadora* podem ser encontradas crescendo juntas na região de Morro do Chapéu, na Bahia; *T. saxatilis* ocorre no oeste da Bahia e noroeste de Minas Gerais; *T. inamoena* possui uma ampla distribuição, ocorrendo em todos os estados do nordeste brasileiro e no norte de Minas Gerais, apresentando uma distribuição próxima aos limites do bioma Caatinga (LAMBERT, 2009; TAYLOR; STUPPY; BARTHLOTT, 2002; TAYLOR; ZAPPI, 2004); *T. subcylindrica* ocorre no nordeste de Minas Gerais, no leste da Bahia e de Pernambuco, no Rio Grande do Norte e Ceará, onde é comum, mas é de ocorrência bastante disjunta (TAYLOR; ZAPPI, 2018); *T. armata* ocorre na Paraíba, Pernambuco e Bahia; *T. gladispina* ocorre na Bahia (FREITAS et al., 2021); *T.* x *quipa* ocorre nos estados de Pernambuco, Alagoas e Bahia; *T.* x *flammea* ocorre em Minas Gerais. *Tacinga lilae*, a única espécie com distribuição fora do Brasil, ocorre em regiões áridas e semiáridas do estado de Sucre, na Venezuela (PULIDO, 2018).

3.3. Estudos sobre o gênero *Tacinga*

A morfologia das espécies de *Tacinga* é retratada em descrições e chaves botânicas (TAYLOR; ZAPPI, 2004; FREITAS et al., 2021), abragendo caracteres vegetativos e reprodutivos, incluindo hábito, comprimento das plantas, quantidade de espinhos por aréola, distância entre aréolas, comprimento das flores e frutos. No entanto, estudos da morfologia

comparativa das espécies ainda são necessários para a compreensão da complexidade morfológica do gênero.

Estudos anatômicos também são incipientes para o gênero *Tacinga*. A anatomia floral no gênero ainda não foi investigada. Quanto à anatomia do caule, um estudo envolvendo espécies de Cactaceae da Caatinga Pernambucana inclui duas espécies de *Tacinga* nas investigações, *T. inamoena* (K. Schum.) N. P. Taylor & Stuppy e *T. palmadora* (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy. Os resultados anatômicos obtidos neste estudo indicam que os estômatos presentes no caule de *T. inamoena* e *T. palmadora* são do tipo hexacítico, nivelados com as demais células epidérmicas em *T. inamoena* e acima destas em *T. palmadora*. Além disso, as espécies possuem drusas e amiloplastos na epiderme e hipoderme do caule, e canais secretores na região cortical caulinar, associados aos feixes vasculares externamente ao floema primário (ARRUDA; MELO-DE-PINNA; ALVES, 2005).

Com relação à filogenia de *Tacinga*, um estudo da filogenia do gênero *Opuntia s.s* (Cactaceae) incluiu o sequenciamento (Sanger) de cinco espécies do gênero *Tacinga*: *T. funalis, T. inamoena, T. palmadora* e *T. saxatilis* (MAJURE et al., 2012). Os resultados revelam que *Tacinga* forma um clado bem suportado, com *Opuntia lilae* Trujillo & Ponce, *Brasiliopuntia* (K. Schum.) A. Berger e *Opuntia schickendantzii* F.A.C. Weber formando um clado irmão de *Tacinga* (MAJURE et al., 2012). Outro estudo realizado também com base em dados moleculares revelou que a espécie *Opuntia lilae* Trujillo & Ponce, endêmica da Venezuela e considerada como pertencente a *Opuntia* s.s, é na verdade membro do gênero *Tacinga*, tendo sido renomeada *Tacinga lilae* (Trujillo & M. Ponce) Majure & R. Puente (MAJURE et al., 2013).

Outros estudos sobre o gênero *Tacinga* abrangem a interação entre as tacingas e a fauna na Caatinga brasileira. Foi documentada a interação mutualista entre o beija-flor *Chlorostilbon aureoventris* e a espécie *T. palmadora* (LOCATELLI; MACHADO, 1999), sendo o beija-flor considerado o visitante floral mais frequente nas flores desta tacinga. Outro recente relato descreve a florivoria entre o lagarto *Tropidurus hispidus* e a espécie *T. inamoena*. As flores servem de recurso alimentar para o lagarto e são inteiramente consumidas (PAIXÃO; GOMES; VENTICINQUE, 2021). Embora essa interação revele a importância das tacingas como fonte de alimento para a fauna local, ainda não se sabe as implicações desta interação a longo prazo, especialmente no que se refere ao sucesso reprodutivo de *T. inamoena*, visto que o desenvolvimento do fruto é inviabilizado pela predação. Tanto na interação com o beija-flor quanto com o lagarto, as tacingas revelam a sua importância do ponto de vista ecológico, no entanto, essas interações requerem estudos mais aprofundados, especialmente no que envolve polinização e dispersão de sementes. Além disso, o gênero carece ainda de

informações relativas ao sucesso reprodutivo em *Tacinga*, incluindo estudos sobre sistemas de reprodução sexuada e assexuada das plantas.

Poucos estudos abordam a propagação clonal de espécies do gênero *Tacinga*. Entretanto, Meiado 2013 revelou que a propagação clonal é um evento muito frequente em populações de *T. palmadora*, ocorrendo não apenas através de ramos vegetativos, mas também a partir dos frutos caídos. Brotações se desenvolvem a partir dos tecidos meristemáticos das aréolas presentes no epicarpo dos frutos. Os resultados mostraram que a média de plântulas de origem sexuada por indivíduo foi significativamente menor quando comparada à média de plântulas-clone formadas a partir de aréolas (MEIADO, 2013).

Dada a elevada capacidade de propagação clonal de *T. palmadora* e a importância da aréola nesse processo, investigar melhor a estrutura morfológica e anatômica das aréolas pode ser fundamental para compreender a propagação das espécies deste gênero. Por exemplo, no cultivo *in vitro*, as aréolas, em presença de citocinina combinada a baixas concentrações de auxinas, podem dar origem a novos brotos. Após separados do tecido original, esses brotos podem emitir raízes dando origem a novas plantas, constituindo assim um sistema simples e rápido de propagação de espécies de cactos *in vitro*. Essa via de multiplicação também é chamada de ativação de aréola e é o método mais amplamente utilizado para a propagação massiva de cactos *in vitro* (PÉREZ-MOLPHE-BALCH et al., 2015).

Embora existam trabalhos específicos sobre algumas espécies do gênero, são poucos os estudos direcionados para uma melhor compreensão das estruturas morfoanatômicas e dos aspectos da biologia reprodutiva no gênero, que possam caracterizar de forma ampla a complexidade de cada espécie e diferenciá-las consistentemente. Desse modo, uma análise detalhada da diversidade morfológica destas espécies, identificando caracteres vegetativos e reprodutivos que possibilitem a distinção entre elas, bem como a reconstrução da filogenia das espécies de *Tacinga* configuram-se de suma importância para aumentar a compreensão da diversidade apresentada por este gênero e para esclarecer as relações e a delimitação de espécies (LAMBERT; van der BERG, 2008).

3.4. *Tacinga*: importância ambiental, econômica e alimentícia

Tacinga é composto por um grupo de espécies com importância ambiental, econômica e alimentícia. Dentre a importância desse grupo de espécies e seus diferentes usos, podemos destacar a utilização para alimentação humana, alimentação animal, medicina natural e para a ornamentação. Por exemplo, o fruto de *T. palmadora* é usado tanto na alimentação humana,

como também na alimentação de animais, bem como espécie ornamental em jardins (LUCENA et al., 2013). Já a espécie *T. inamoena* se destaca na medicina tradicional, sendo usada no tratamento de doenças do trato respiratório e inflamações e na alimentação humana (CASTRO; CAVALCANTE, 2010).

Características físicas, químicas e organolépticas de *T. inamoena* se revelaram similares às dos frutos da *Opuntia ficus-indica* (SOUZA et al., 2007), sendo que ambas opuntióides apresentam frutos com uma porção carnosa. Os frutos de *Opuntia ficus-indica* são comumente consumidos *in natura* ou industrializados. Essa principal semelhança entre as espécies constitui um indicador do potencial industrial do fruto de *T. inamoena*, que pode ser explorado como alternativa alimentar e como fonte de renda complementar para a agricultura familiar (SOUZA et al., 2007), podendo também apresentar elevado valor econômico, semelhante a outras espécies brasileiras nativas e endêmicas, como o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) e o açaizeiro (*Euterpe oleracea* Engel), que são amplamente comercializados no Brasil (D'ARACE et al., 2019; GONÇALVES et al., 2013).

É importante destacar que a elucidação de estratégias reprodutivas no gênero *Tacinga* e a compreensão da morfoanatomia das espécies pode embasar o desenvolvimento de estudos subsequentes, especialmente aqueles que considerem o potencial de utilização destes cactos. Por exemplo, conhecer melhor a morfologia e anatomia das espécies pode auxiliar na definição de tecidos ou regiões meristemáticas que sirvam como potenciais explantes para o estabelecimento e sucesso dessas espécies no cultivo *in vitro*. O estabelecimento *in vitro* de espécies do gênero *Tacinga* pode ser feito visando a conservação de genótipos e a micropropagação para fins comerciais, dado seu potencial ornamental, alimentício e medicinal (LUCENA et al., 2013).

Os resultados obtidos neste trabalho podem ainda auxiliar na conservação de espécies ameaçadas de extinção. A família Cactaceae possui muitas espécies ameaçadas de extinção (GOETTSCH et al., 2015; IUCN, 2021). Em *Tacinga*, algumas espécies apresentam populações em declínio, tais como *T. palmadora* e *T. werneri*. Outras espécies apresentam situação ainda mais preocupante, é o caso de *T. braunii*, com estado de conservação vulnerável, e *T. subcylindrica*, ameaçada de extinção (IUCN, 2021). *Tacinga braunii* apresenta uma distribuição geográfica restrita ao estado de Minas Gerais e ainda sofre com a fragmentação de hábitats. Os hábitats de ocorrência dessa espécie encontram-se severamente fragmentados, o que pode levar a uma maior taxa de declínio da população, caracterizando risco de extinção mais acentuado (CNCFLORA, 2022). Deste modo, uma maior compreensão sobre as espécies deste gênero pode auxiliar também na conservação de sua diversidade. Portanto, esse grupo de espécies pode constituir

um objeto de estudo relevante para diversas áreas, tais como a taxonomia, agricultura, cultura de tecidos, ecologia e conservação.

Referências

ANDERSON, E. F. **The cactus family**. Portland: Timber Press, 2001.

ARRUDA, E.; MELO-DE-PINNA, G. F.; ALVES, M. Anatomia dos órgãos vegetativos de Cactaceae da caatinga pernambucana. **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, p. 589-601, 2005.

BRITTON, N. L.; ROSE, J. N. **The Cactaceae**. Washington, DC: The Carnegie Institution, 1919. v. 1.

CASTRO, A. S.; CAVALCANTE, A. **Flores da Caatinga**. Salvador: Instituto Nacional do Semiárido, 2010.

CNCFlora. *Tacinga braunii* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 **Centro Nacional de Conservação da Flora.** Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Tacinga braunii>. Acesso em: 24 jan. 2022.

CONDE, L. F. Anatomical comparisons of five species of Opuntia (Cactaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 62, p. 425-473, 1975.

CROZIER, B. S. **Systematics of Cactaceae Juss**.: Phylogeny, cpDNA evolution, and classification, with emphasis on the genus Mammillaria Haw. 2005. Ph.D. (Dissertation) - The University of Texas, Austin, 2005.

D'ARACE, L. M. B. et al. Produção de açaí na região norte do Brasil. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 5, p. 15-21, 2019.

FREITAS, J. G. et al. Novelties in Cactaceae from Eastern Brazil: Adding two new species and one new nothospecies to Tacinga (Opuntioideae). **Phytotaxa**, v. 490, n. 3, p. 239-252, 2021.

GOETTSCH, B. et al. High proportion of cactus species threatened with extinction. **Nature plants**, v. 1, n. 10, p. 1-7, 2015.

GONÇALVES, M. V. V. A. et al. Caracterização físico-química e reológicas da polpa de cupuaçu congelada (Theobroma grandiflorum Schum). **Perspectivas Online: Exatas e Engenharias**, v. 3, n. 7, p. 46-53, 2013.

GRIFFITH, M. P. The desert ignored: Early cactus evolution and interpretation. In: Symposium on the Natural Resources of the Chihuahuan Desert Region, 6., 2014, Fort Davis. **Proceedings…** Fort Davis, TX: Chihuahuan Desert Research Institute, 2014. p. 86–100. Disponível em: http://cdri.org/publications/proceedings-of-thesymposium-on-the-natural-resources-of-the-chihuahuan-desert-region/

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE – IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2021-3. Cambridge, UK, 2022. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>

KOROTKOVA, N. et al. Cactaceae at Caryophyllales.org – a dynamic online species-level taxonomic backbone for the family. **Willdenowia**, v. 51, n. 2, p. 251-270, 2021.

LAMBERT, S. M. *Tacinga*: The hummingbird-pollinated prickly pear. **Cactus and Succulent Journal**, v. 81, p. 156–161, 2009.

LAMBERT, S. M.; van den BERG, C. Diversidade genética e morfológica, filogeografia e filogenia de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae: Opuntioideae), gênero endêmico do bioma caatinga no leste do Brasil. **Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas**, v. 15, n. 1, p. 4-8, 2008.

LOCATELLI, E; MACHADO, I.C.S. Comparative study of the floral biology in two ornithophilous species of Cactaceae: Melocactus zehntneri and Opuntia palmadora. **Bradleya**, v. 1999, n. 17, p. 75-85, 1999.

LODÉ, J. Leuenbergeria, a new genus in Cactaceae. **Cactus Aventures**, v. 97, p. 25-27, 2013.

LUCENA, C. M. et al. Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 9, n. 1, p. 62, 2013.

MACHADO, M.; TAYLOR, N. A new subspecies of *Tacinga inamoena* (Cactaceae) from Eastern Bahia, Brazil. **Bradleya**, v. 21, p. 13–16, 2003.

MAJURE, L. C. et al. Phylogeny of *Opuntia s.s.* (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 5, p. 847–864, 2012.

MAJURE, L. C. et al. *Opuntia lilae*, Another *Tacinga* Hidden in *Opuntia s.l.* (Cactaceae). **Systematic Botany**, v. 38, n. 2, p. 444–450, 2013.

MEIADO, M. V. Propagação sexual e assexual estruturando populações de *Tacinga palmadora* (Britton & rose) N. P. Taylor & Stuppy, um cacto endêmico da caatinga. **Revista de Biologia Neotropical**, v. 9, n. 2, p. 6–13, 2013.

NYFFELER, R. Phylogenetic relationships in the cactus family (Cactaceae) based on evidence from trnK/matK and trnL-trnF sequences. **American Journal of Botany**, v. 89, p. 312–326, 2002.

NYFFELER, R.; EGGLI, U. A farewell to dated ideas and concepts: molecular phylogenetics and a revised suprageneric classification of the family Cactaceae. **Schumannia**, v. 6, p. 109-149, 2010.

PÉREZ-MOLPHE-BALCH, E. et al. Tissue culture of ornamental cacti. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 6, p. 540-561, 2015.

PULIDO, J. A. B. Plantas vasculares endémicas de zonas áridas y semiáridas en el estado sucre, Venezuela. **Saber**, Universidad de Oriente, v. 30, p. 203-211, 2018.

SOUZA, A. C. M. de et al. Características físicas, químicas e organolépticas de quipá (Tacinga inamoena, Cactaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, p. 292-295, 2007.

TAYLOR, N. P.; STUPPY, W.; BARTHLOTT, W. Realignment and revision of the Opuntioideae of Eastern Brazil. **Succulent Plant Research**, v. 6, p. 99–131, 2002.

TAYLOR, N. P.; ZAPPI, D. C. **Cacti of eastern Brazil**. Kew, UK: The Royal Botanic Gardens, 2004.

TAYLOR, N.; ZAPPI, D. C. Additions and corrections to “Cacti of Eastern Brazil”. **Bradleya**, v. 36, p. 2–21, 2018.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.P. 2020. Cactaceae in Flora do Brasil 2020. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB1750>. Acesso em: 24 jan. 2022.

CAPÍTULO 1

Morfoanatomia do caule de espécies de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae)

Tacinga palmadora (Britton & Rose) N. P. Taylor & Stuppy – Cultivada em casa de vegetação

Imagem: Jucicleide Martins

4. Morfoanatomia do caule de espécies de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae)

RESUMO

As espécies do gênero *Tacinga* são endêmicas e nativas do Brasil, com exceção de uma única espécie que ocorre na Venezuela. Pertencente à família Cactaceae, o gênero é composto por dez espécies, duas subespécies e duas notoespécies. Estas encontram-se distribuídas na região nordeste e em parte do sudeste brasileiro, sendo bem adaptadas à região semiárida do Brasil. As plantas do gênero são arbustos e subarbustos, com gloquídeos abundantes e espinhos presentes ou ausentes. Fortes semelhanças morfológicas entre as espécies do gênero, geram dificuldades no reconhecimento destas. O gênero constitui-se em importante objeto de estudo seja pelo endemismo das espécies, adaptação à região semiárida brasileira, ou pelo importante papel ecológico que desempenha. Desse modo, com o intuito de ampliar a compreensão de características que possam estar associadas à adaptação a ambientes xéricos, este trabalho apresenta a análise morfológica e anatômica comparativa do caule (cladódios) de espécies de *Tacinga*, visando a identificação de possíveis padrões morfoanatômicos no gênero. O trabalho incluiu seis espécies e uma notoespécie de *Tacinga* com ocorrência no Brasil. Para a caracterização morfológica, foram observados e analisados cladódios frescos. Para as análises anatômicas, o material coletado foi dissecado em partes menores, fixado e processado para microscopia de luz. Os resultados revelam importantes diferenças morfoanatômicas entre as espécies de *Tacinga* e fornecem novos caracteres informativos e variáveis no gênero. Entre as diferenças morfológicas, destacam-se diferenças no porte das plantas, diferenciação no formato e coloração dos cladódios, presença ou ausência de espinhos, distância entre aréolas. Embora as espécies apresentem um aspecto anatômico geral relativamente semelhante, tais como a presença de epiderme uniestratificada, cutícula espessa, estômatos do tipo opuntióide e amplas câmaras subestomáticas, importantes diferenças anatômicas foram observadas no gênero. Estômatos situados acima das demais células epidérmicas foram observados em duas espécies do gênero. Essa característica é extremamente importante para a taxonomia e para a elucidação de aspectos evolutivos no gênero. Além disso, este estudo sugere que as características morfoanatômicas observadas no caule das tacingas estão, em grande parte, associadas à adaptação destas plantas a ambientes xéricos. Portanto, este trabalho fornece importantes contribuições do ponto de vista taxonômico, evolutivo, ecológico e ambiental.

Palavras-chave: Anatomia vegetal. Cladódio. Morfologia vegetal. Caule.

4. Morphoanatomy of Organs vegetative of *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae)

ABSTRACT

The species of the genus *Tacinga* are endemic and native to Brazil, except for a single species that occurs in Venezuela. Belonging to the Cactaceae family, the genus is composed of ten species, two subspecies, and two notospecies. These are distributed in the northeast and part of southeastern Brazil, being well adapted to the semiarid region. The plants of this genus are shrubs and subshrubs, with abundant glochids and spines are either present or absent. Strong morphological similarities among the species of the genus generate difficulties in their recognition. The genus constitutes an important object of study either because of the endemism of its species, their adaptation to the Brazilian semiarid region, or their important ecological role. Thus, to broaden the understanding of characteristics that might be associated with adaptation to xeric environments, this work presents a comparative morphological and anatomical analysis of the stem (cladodes) of *Tacinga* species, aiming at the identification of possible morphoanatomical patterns in the genus. The work included six species and one notospecies of *Tacinga* occurring in Brazil. For morphological characterization, fresh cladodes were observed and analyzed. For anatomical analyses, the collected material was dissected into smaller pieces, fixed, and processed for light microscopy. The results reveal important morphoanatomical differences between *Tacinga* species and provide new informative and variable characters in the genus. Among the morphological differences, there are differences in the size of the plants, differentiation in the shape and color of the cladodes, presence or absence of spines, distance between areolas. Although the species present a relatively similar general anatomical appearance, such as the presence of unistratified epidermis, thick cuticle, opuntioid-type stomata and large substomatal chambers, important anatomical differences were observed in the genus. Stomata located above the other epidermal cells were observed in two species of the genus. This feature is extremely important for taxonomy and for the elucidation of evolutionary aspects in the genus. Furthermore, this study suggests that the morphoanatomical characteristics observed in the stem of tacingas are largely associated with the adaptation of these plants to xeric environments. Therefore, this work provides important contributions from a taxonomic, evolutionary, ecological and environmental point of view.

Keywords: Cladodium. Plant anatomy. Plant morphology. Stem.

4.1 Introdução

O gênero *Tacinga,* pertencente à família Cactaceae, é composto por dez espécies [*T. inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy*, T. palmadora* (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy*, T. funalis* Britton & Rose*, T. braunii* Esteves*, T. werneri* (Eggli) N.P. Taylor & Stuppy*, T. saxatilis* (Ritter) N.P. Taylor & Stuppy*, T. subcylindrica* M. Machado & N.P. Taylor*, T. armata* J.G. Freitas & E.M. Almeida*, T. gladispina* J.G. Freitas & E.M. Almeida e *T. lilae* (Trujillo & M. Ponce) Majure & R. Puente)], duas subespécies [*T. saxatilis* (Ritter) N.P. Taylor & Stuppy subsp. *saxatilis* e *T. saxatilis* subsp. *estevesii* (P.J. Braun) N.P. Taylor & Stuppy] e duas notoespécies [*T.* x *quipa* (F.A.C. Weber) N.P. Taylor & Stuppy e *T. x flammea* J.G. Freitas & E.M. Almeida] (TAYLOR; ZAPPI, 2004; TAYLOR; ZAPPI, 2018; FREITAS et al., 2021). As espécies de *Tacinga* são arbustos e subarbustos, medindo até 5 m de altura, gloquídeos abundantes, espinhos presentes ou ausentes, flores e frutos geralmente solitários (BRITTON; ROSE, 1919). Todas as espécies possuem aréolas (TAYLOR; ZAPPI, 2004), estas podem estar presentes no caule (cladódios), botões florais, flores ou frutos.

Durante um longo período, o gênero foi considerado exclusivo do Brasil, até que *T. lilae*, previamente incluída no gênero *Opuntia* e que ocorre no nordeste da Venezuela, foi incorporada ao gênero (MAJURE et al., 2012). No Brasil, as espécies ocorrem no nordeste e sudeste brasileiro, especificamente nos estados nordestinos de Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe e na região sudeste, em Minas Gerais. As tacingas estão distribuídas especialmente nos domínios fitogeográficos da Caatinga e Cerrado (TAYLOR; ZAPPI, 2004; ZAPPI; TAYLOR, 2020).

Fortes semelhanças e plasticidade fenotípica entre as espécies do gênero, com sobreposição de caracteres tanto de órgãos vegetativos quanto dos reprodutivos, geram dificuldades em seu reconhecimento. *Tacinga inamoena* e *T. saxatilis* apresentam semelhanças, principalmente no hábito arbustivo e por possuírem cladódios orbiculares a ovados. No entanto, *T. saxatilis* diferencia-se de *T. inamoena* por apresentar espinhos (LAMBERT, 2009). *Tacinga inamoena* e *T. subcylindrica* são facilmente confundidas como sendo uma única espécie, porém, *T. subcylindrica* diferencia-se de *T. inamoena* pelo menor tamanho dos cladódios, flores e frutos (MACHADO; TAYLOR, 2003), porém, a variação no porte de alguns indivíduos pode dificultar a identificação destas. As espécies *T. funalis* e *T. braunii* apresentam morfologia caulinar relativamente semelhante, porém *T. funalis* é caracterizada por apresentar um caule cilíndrico e mais alongado, enquanto *T. braunii* apresenta caule com formato achatado e menos alongado. Fortes semelhanças ocorrem também entre *T. palmadora* e *T. werneri,* o que dificulta a diferenciação destas em ausência de flores ou frutos (LAMBERT, 2009; TAYLOR; STUPPY; BARTHLOTT, 2002;

TAYLOR; ZAPPI, 2004). A espécie *T. werneri* apresenta menor porte que *T. palmadora*, no entanto, ao encontrar uma planta jovem de *T. palmadora*, estas podem ser facilmente confundidas. As duas espécies em questão apresentam cladódios de formato ligeiramente similar, ambos com aréolas contendo espinhos.

A hibridação entre espécies de *Tacinga* é hipotetizada a partir de dados morfológicos (TAYLOR; STUPPY; BARTHLOTT, 2002; TAYLOR; ZAPPI, 2004) e cromossômicos (FREITAS et al., 2021). Ocasionalmente observadas na natureza, as zonas híbridas geralmente envolvem cruzamentos entre *T. inamoena* com *T. palmadora*, *T. werneri,* ou *T. saxatilis* (TAYLOR; STUPPY; BARTHLOTT, 2002; TAYLOR; ZAPPI, 2004). *Tacinga* x *flammea* é considerada uma notoespécie resultante da hibridação entre *T. inamoena* e *T. werneri*. As espécies *T.* x *flammea* e *T. inamoena* apresentam semelhanças, principalmente no hábito, formato e coloração dos cladódios e na cor das flores. Porém, o que claramente diferencia *T.* x *flammea* de *T. inamoena* são seus cladódios armados com espinhos longos. *T.* x *flammea* também se assemelha a *T. werneri*, dado que ambas possuem cladódios armados, com coloração verde escura e presença de espinhos. No entanto, *T. x flammea* possui espinhos longos e grossos, inclinados para o ápice, enquanto *T. werneri* apresenta espinhos curtos e finos, apontados para baixo (FREITAS et al., 2021). A existência desses híbridos amplia ainda mais as variações morfológicas observadas no gênero. Até o momento, híbridos não foram observados envolvendo *T. funalis* ou *T. braunii*, assim como também não foram observados híbridos entre *T. palmadora* e *T. werneri* (LAMBERT, 2009).

As tacingas, assim como as demais cactáceas, apresentam diversas adaptações morfológicas, anatômicas e fisiológicas, o que permite a ocorrência dessas espécies em diferentes tipos de vegetação, tais como na Caatinga *stricto sensu*, Campos Rupestres, Carrasco, Floresta Estacional Decidual, Floresta Estacional Semidecidual, Vegetação Sobre Afloramentos Rochosos (ZAPPI; TAYLOR, 2020). Estas composições da vegetação são típicas de ambientes xéricos marcados pela sazonalidade, com períodos de seca, e plantas xerófitas, predominantes no nordeste brasileiro (IBGE, 2019).

Algumas espécies de *Tacinga* têm distribuição restrita, sendo *T. funalis, T. werneri, T. palmadora, T. inamoena e T.* x *quipa* consideradas espécies endêmicas do nordeste brasileiro, mas ocorrem amplamente na região, com muitas populações (TAYLOR; ZAPPI, 2004). Outras espécies possuem distribuição mais limitada, a exemplo de *T. braunii*, que ocorre em uma área de afloramento rochoso no entorno do vale do Rio Jequitinhonha, em Minas Gerais, sendo considerada endêmica desta área. No caso de *T. saxatilis* subsp *estevesii* a distribuição é ainda mais limitada, sendo considerada uma espécie endêmica do município de Iuiú, Bahia, na região do Rio São Francisco (TAYLOR; ZAPPI, 2004). Alguns

táxons possuem populações pequenas, com poucos indivíduos. *Tacinga* x *flammea*, recentemente descrita, é conhecida por meio de uma única população com aproximadamente 20 indivíduos, situada no município de Pedra Azul, Minas Gerais (FREITAS et al., 2021). De acordo com os critérios do IUCN 2019, esta espécie é considerada criticamente ameaçada (FREITAS et al., 2021), o que reforça a importância da ampliação de estudos sobre o gênero.

As tacingas constituem-se em um importante objeto de estudo não só pelo seu destaque como plantas endêmicas e características da região semiárida brasileira, inclusive com táxons com risco de extinção iminente, como também pelo papel ecológico que desempenham. Por serem plantas suculentas, com caule especializado no armazenamento de água, que possuem floração em períodos de seca no nordeste brasileiro, as tacingas servem de alimento para diversos animais da fauna local. Estudos recentes revelam forte interação planta-animal na Caatinga brasileira, podendo-se destacar aqui o caso de florivoria por lagartos em *T. inamoena,* onde ocorre a predação da flor pelo animal (PAIXÃO; GOMES; VENTICINQUE, 2021).

Além da importância ecológica, as tacingas também possuem importância alimentícia, ornamental, medicinal, sendo utilizadas na alimentação humana, forragem animal, medicina natural e para a composição de jardins (LUCENA et al., 2013). No interior do Rio Grande do Norte (RN), estado do nordeste brasileiro, a espécie *T. inamoena* se destaca na culinária local, na produção de sorvetes, doces e compotas. Particularmente, no município de Angicos - RN, *T. inamoena* se mostra de grande importância socioeconômica e cultural, com destaque para o fato do brasão do município carregar a ilustração da espécie.

Dada a importância do gênero *Tacinga*, o objetivo deste trabalho foi realizar uma análise morfológica e anatômica comparativa do caule (cladódios) de espécies de *Tacinga*, com o intuito de ampliar a compreensão de características que possam estar associadas à adaptação a ambientes xéricos, bem como identificar possíveis padrões morfoanatômicos nas espécies para subsidiar a taxonomia do grupo.

4.2 Materiais e Métodos

4.2.1 Amostragem

O estudo incluiu seis espécies e uma notoespécie de *Tacinga* que ocorrem no Brasil: *T. funalis, T. braunii, T. werneri, T. subcylindrica, T. palmadora, T. inamoena* e *T.* x *flammea*. Fragmentos do caule (cladódios) de *T. inamoena, T. funalis, T. palmadora* e *T. werneri* foram coletados em área de Floresta Estacional Decidual, enquanto de *T. x flammea* e *T. braunii* em Vegetação sobre afloramentos rochosos (Tabela 1). Aos menos doze indivíduos de cada

espécie foram mantidos em casa de vegetação por cerca de dez meses e, posteriormente, partes de cladódios maduros, da porção mediana e apical das plantas, foram coletados e fixados para os estudos morfológicos.

Tabela 1 – Lista de espécies de *Tacinga* coletadas para o presente trabalho, dados da localidade e número de *voucher* Herbário ESA

Espécie	Dados da localidade	Voucher
Tacinga inamoena (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy	Brasil, Rio Grande do Norte, João Câmara. Propriedade privada, Sítio São Francisco, Matão Joana Batista. Caatinga. 5°32'08.1"S 35°44'53.3"W	ESA 143613
Tacinga subcylindrica M. Machado & N.P. Taylor	Brasil, Rio Grande do Norte, João Câmara. Propriedade privada, Fazenda Passagem de Pedra, RN-120. Caatinga. 5°36'19.64"S 35°49'30.69"W	ESA 143614
Tacinga palmadora (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy	Brasil, Rio Grande do Norte, João Câmara. Propriedade privada, Fazenda Passagem de Pedra, RN-120. Caatinga. 5°36'15.4"S 35°49'09.2"W	ESA 143615
Tacinga palmadora (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy	Brasil, Bahia, Morro do Chapéu. Buraco do Possidônio. Caatinga. 11°38'48.0"S 41°16'11.0"W	ESA 143616
Tacinga inamoena (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy	Brasil, Bahia, Morro do Chapéu. Buraco do Possidônio. Caatinga. 11°38'49.4"S 41°16'12.6"W	ESA 143617
Tacinga funalis (Britton & Rose)	Brasil, Bahia, Morro do Chapéu. Buraco do Possidônio. Caatinga. 11°38'49.7"S 41°16'12.5"W	ESA 143618
Tacinga werneri (Eggli) N.P. Taylor & Stuppy	Brasil, Bahia, Morro do Chapéu. Buraco do Possidônio. Caatinga. 11°38'49.9"S 41°16'12.9"W	ESA 143619
Tacinga inamoena (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy	Brasil, Bahia, Jussiape. Caatinga. 13°30'07.9"S 41°35'13.9"W	ESA 143620
Tacinga x flammea J.G. Freitas & E.M. Almeida	Brasil, Minas Gerais, Pedra Azul. Caatinga. 16°00'30.7"S 41°17'25.6"W	ESA 143621
Tacinga braunii Esteves	Brasil, Minas Gerais, Itaobim. Caatinga. 16°33'00.5"S 41°30'39.1"W	ESA 143622
Tacinga subcylindrica M. Machado & N.P. Taylor	Brasil, Bahia, Milagres. Caatinga. 12°54'28.2"S 39°45'26.5"W	ESA 143623
Tacinga palmadora (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy	Brasil, Bahia, Milagres. Caatinga. 12°54'26.2"S 39°45'28.2"W	ESA 143624

4.2.2 Caracterização morfoanatômica do caule (cladódio)

Para a caracterização morfológica foram observados cinco cladódios frescos e analisados os seguintes caracteres: comprimento médio das plantas, comprimento x largura dos cladódios (C x L), coloração e formato do cladódio, disposição das aréolas nos cladódios (números de espirais), distância entre as aréolas, cor das escamas basais, indumentos da

aréola (presença de tricomas, número médio de espinhos, abundância e coloração dos gloquídeos). Para obteção das medidas do comprimento médio das plantas e dos cladódios foi utilizada uma fita métrica e para a obtenção das distâncias entre aréolas foi utilizado um paquímetro (Universal Metálico, Mtx). As aréolas foram analisadas com o auxílio do microscópio estereoscópio (Leica EZ4E) e imagens de aréolas das sete espécies em estudo foram obtidas utilizando-se câmera digital acoplada ao microscópio.

Para as análises anatômicas, o material coletado foi dissecado em partes menores, obtendo-se secções transversais da região média/central do cladódio contendo aréolas. Quatro amostras, de cladódios distintos, para cada espécie foram imediatamente imersas em fixador (FAA 50) (JOHANSEN, 1940), sob vácuo, por 1h. Em seguida as amostras foram mantidas sob refrigeração (4-8°C), por 24-48h. Posteriormente, foi realizada a desidratação em série etílica (de 35% a 70%) e as amostras foram mantidas em etanol (70%), sob refrigeração, por três dias. Após esse período, a desidratação foi retomada, seguindo a série etílica de 80%, 90% e 100% (3x), com duração de ao menos 1h cada etapa. Posteriormente, as amostras foram transferidas para propanol (100%), durante 8h, e butanol (100%), por 12h, sob refrigeração.

A infiltração foi realizada lentamente, sob refrigeração, usando soluções de butanol: meio de infiltração (glicolmetacrilato, Historesin kit, Leica, Heidelberg, Germany) (3:1, 1:1, 1:3), sendo quinze dias em cada solução. Este longo período de infiltração para cada solução foi necessário para garantir uma infiltração de boa qualidade nos tecidos, visto que testes preliminares com infiltração em curtos períodos não renderam resultados satisfatórios. Após a finalização destas etapas, as amostras foram transferidas para meio de infiltração em historesina pura, por sete dias. A polimerização foi realizada em meio de infiltração acrescido de endurecedor, conforme recomendação do fabricante, em temperatura ambiente, por 48 h. As secções histológicas (5 µm) foram obtidas em micrótomo rotativo RM2155 (Leica RM 2155, Nussloch, Germany). Para observações gerais das estruturas anatômicas as secções histológicas foram coradas em solução de fucsina ácida (1%) em água, seguida de azul de toluidina (0,05%) (FEDER; O'BRIEN, 1968). As secções coradas foram montadas utilizando entelan® (Merck, Darmstadt, Germany) e cobertas com lamínula. As observações foram realizadas através do microscópio de luz (Leica LMD 7000, Wetzlar - Germany), com a captura de imagens digitalizadas.

4.3 Resultados

4.3.1 Morfologia do caule (cladódio)

As plantas possuem cladódios com coloração verde claro em *T. inamoena e T. palmadora*, verde escuro em *T. x flammea* e *T. werneri,* verde acinzentado em *T. subcylindrica, T. funalis, T. braunii,* podendo variar de verde a roxo nessas duas últimas espécies (Figura 1).

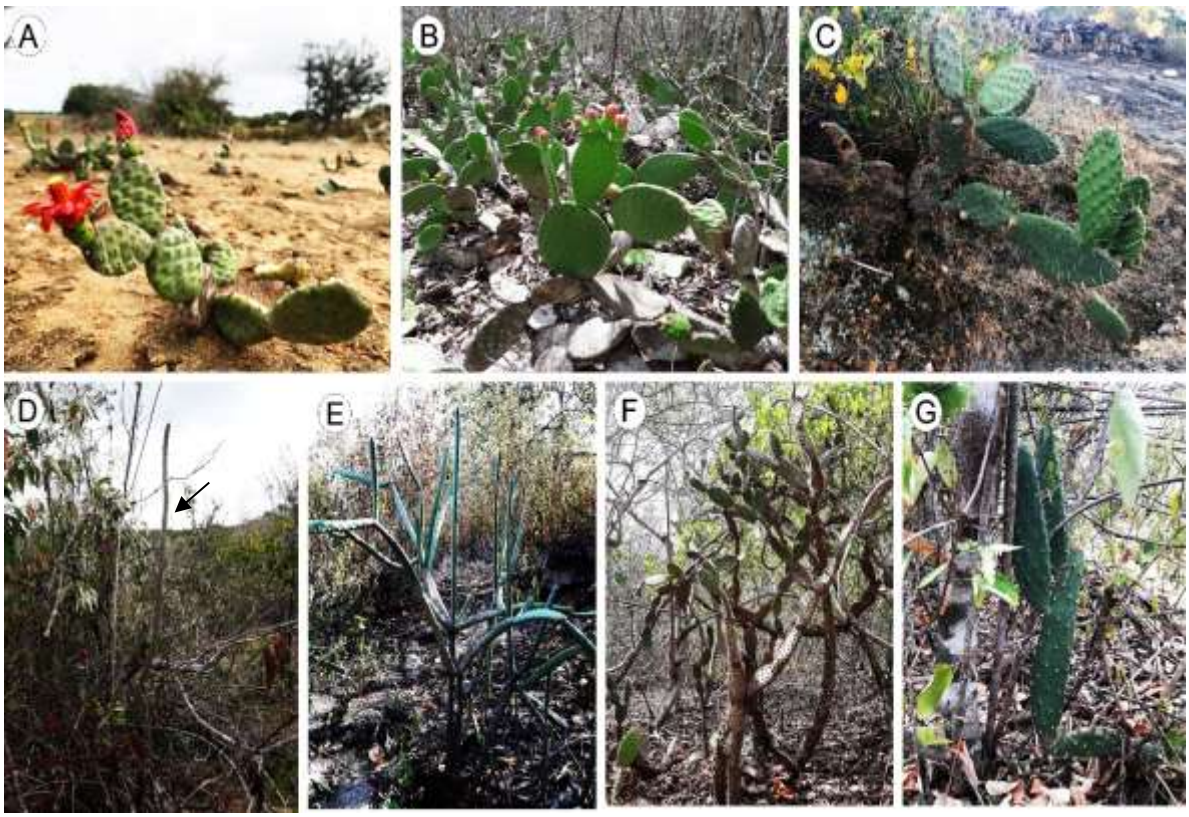


Figura 1 – Plantas de sete espécies de *Tacinga* observadas nos locais de coleta. A. *Tacinga subcylindrica,* Milagres - Bahia, planta prostrada. B. *Tacinga inamoena,* João Câmara - Rio Grande do Norte, plantas formando touceiras. C. *Tacinga x flammea,* Pedra Azul, Minas Gerais, planta com espinhos. D. *Tacinga funalis*, Morro do Chapéu - Bahia, planta crescendo junto a outras espécies. E. *Tacinga braunii,* Itaobim - Minas Gerais, planta similar a uma arvoreta. F. *Tacinga palmadora,* João Câmara - Rio Grande do Norte, planta medindo aproximadamente 1.70 m de comprimento. G. *Tacinga werneri,* Morro do Chapéu - Bahia, cladódios verde-escuros, planta medindo aproximadamente 70 cm de comprimento.

Para uma melhor compreensão da morfologia do caule das tacingas, considerando o hábito e porte das plantas aqui estudadas, foram definidos neste trabalho três grupos morfológicos: grupo 1 – arbustos de pequeno porte, grupo 2 – arbustos de médio porte, grupo 3 – arbustos escandentes. O grupo 1 inclui as espécies arbustivas, menores de 50 cm de comprimento, e que formam touceiras. São elas: *T. subcylindrica*, *T. inamoena* e *T. x flammea* (Figura 2).

As plantas de *T. subcylindrica* medem em média 30 cm de comprimento, podendo até ser consideradas subarbustos, e apresentam crescimento prostrado. As plantas de *T. inamoena* e *T. x flammea* são arbustos medindo em média 50 cm de comprimento. O formato do cladódio é oblongo em *T. subcylindrica*, obovado em *T. inamoena* e estreito ovado em *T. x flammea* (Figura 2). Os cladódios de *T. inamoena* e *T.* x *flammea* são ligeiramente semelhantes, especialmente em relação ao formato. Porém, *T.* x *flammea* apresenta espinhos, o que facilita a diferenciação entre as espécies. Os cladódios de *T.* x *flammea* medem em média 13,0 ± 0,5 x 5, 8 ± 0,6 cm de comprimento x largura (C x L). As aréolas estão dispostas em 5-6 espirais, distantes 1,0 - 1,5 cm umas das outras.

As espécies *T. inamoena* e *T. subcylindrica* são comumente confundidas entre si, pelo formato dos cladódios, porte das plantas e ausência de espinhos (Figura 2). No entanto, os cladódios de *T. subcylindrica* são menores, medindo em média 5,5 ± 0,7 x 3,7 ± 0,2 cm de cm em comprimento e largura (C x L), enquanto *T. inamoena* mede 10,2 ± 0,3 x 7,7 ± 0,6 cm em média (C x L). Quanto à disposição das aréolas nos cladódios estas podem variar, sendo 4-5 fileiras espirais em *T. subcylindrica*, 7-9 fileiras espirais em *T. inamoena*. A distância entre as aréolas é de 0,6 - 0,8 cm em *T. inamoena*, 0,4 - 0,6 cm em *T. subcylindrica*. Outra diferença morfológica são as aréolas levemente elevadas em podários em *T. subcylindrica*, enquanto *T. inamoena* apresenta aréolas em discretas depressões, em uma dimensão macroscópica. Além disso, *T. subcylindrica*, diferentemente de *T. inamoena*, tem crescimento prostrado.

O grupo 2 compreende as espécies arbustivas de médio porte, que medem até 2 m de comprimento. Esse grupo é formado por *T. palmadora* e *T. werneri* (Figura 3). Embora essas espécies sejam ligeiramente semelhantes em seu hábito arbustivo e por apresentarem espinhos, *T. werneri* apresenta em média 80 cm de comprimento, enquanto *T. palmadora* tem em média 160 cm de comprimento (Figura 3). Outra diferença é que as plantas de *T. palmadora* são bastante ramificadas, enquanto *T. werneri* apresenta 0-2 ramos normalmente. O formato do cladódio é elíptico a estreito ovado em *T. palmadora* e estreito elíptico em *T. werneri*. Os cladódios diferem em relação ao comprimento. Cladódios de *T. palmadora* medem em média 11,0 ± 0,9 x 4,3 ± 0,5 cm (C x L), enquanto cladódios de *T. werneri* medem em média 15,0 ± 0, 8 x 4,3 ± 0,6 cm (C x L). As aréolas estão dispostas em 5-8 fileiras espirais em *T. palmadora*, distantes 0,6 – 0,8 cm umas das outras. Em *T. werneri,* as aréolas são menos abundantes, tendo sido observadas aréolas dispostas em 4-5 fileiras espirais, distantes 1,0 – 1,2 cm umas das outras, em *T. werneri*. Logo, as aréolas são menos abundantes e mais espaçadas em *T. werneri* (Figura 3).

O grupo 3 é constituído por espécies arbustivas escandentes, *T. braunii* e *T. funalis* (Figura 4). As espécies *T. braunii* e *T. funalis* são facilmente confundidas pelo hábito similar e pelo formato dos cladódios. No entanto, a aparência de *T. braunii* é similar a uma arvoreta, em média 150 cm de comprimento, com cladódios apicais direcionado para cima ou inclinado para a lateral. Enquanto *T. funalis* apresenta hábito escandente, sendo que os cladódios apicais podem ser decumbentes ou eretos, medindo em média 200 cm de comprimento. A espécie *T. funalis* sempre cresce junto a outras plantas, enquanto *T. braunii* pode ser vista crescendo isoladamente em meio a afloramentos rochosos. Os cladódios dessas espécies constituem-se em longos ramos, de formato completamente cilíndrico em *T. funalis*, cilíndrico na base e achatado conforme se distancia da base em *T. braunii*. Podem medir até em média 35,0 ± 0,5 x 1,5 ± 0,5 (C x L) em *T. braunii* e 40-80 x 1,0 cm (C x L) em *T. funalis*. As aréolas estão dispostas mais próximas umas das outras em *T. funalis*, em média 0,5 cm de distância, enquanto em *T. braunii*, em média 0,8 -1,0 cm de distância entre aréolas (Figura 4).

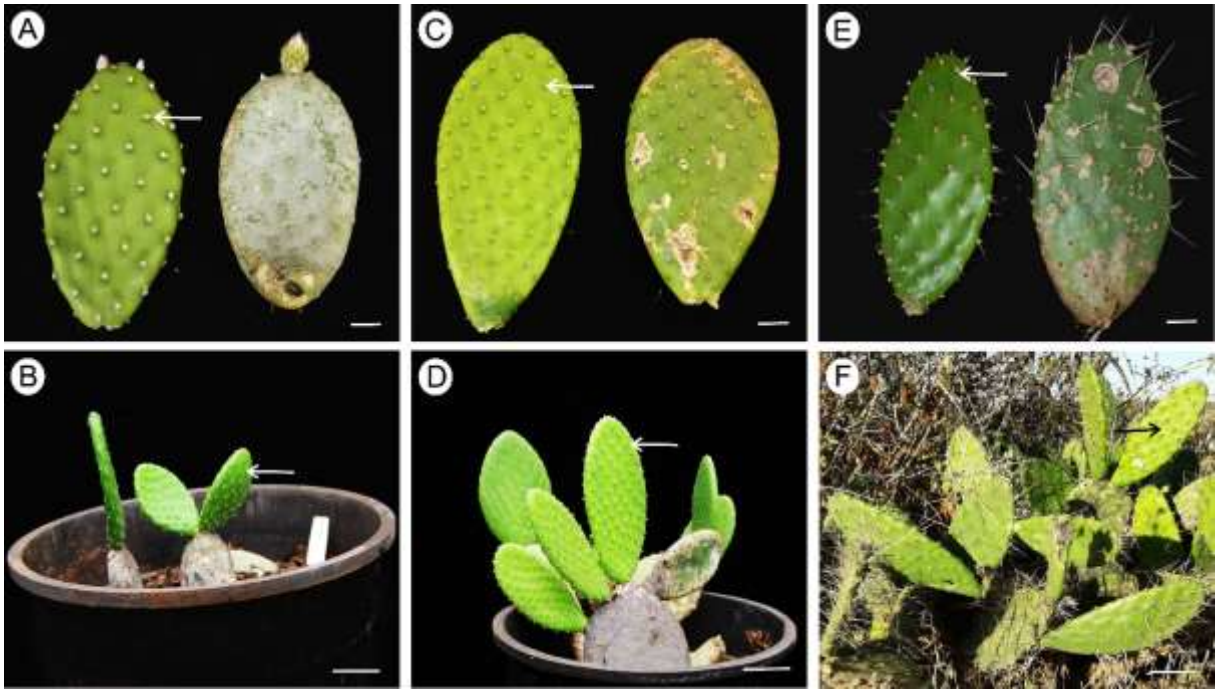


Figura 2 – Plantas e detalhe do cladódio das espécies *Tacinga subcylindrica*, *Tacinga inamoena* e *Tacinga x flammea*. A, C, E. Os cladódios da esquerda são apicais e os cladódios da direita são medianos. A-B. *Tacinga subcylindrica*, aréolas em podários e novo cladódio surgindo (A); hábito subarbustivo (B). C-D. *Tacinga inamoena*, aréolas como discretas depressões, em uma dimensão macroscópica (C); hábito arbustivo, cladódios obovados (D). E-F. *Tacinga x flammea,* espinhos presentes nas aréolas do cladódio, cladódio estreito ovado (E); hábito arbustivo (F). Setas apontam para as aréolas presentes nos cladódios. Barras: A, C, E = 1 cm; B, D, F = 3 cm.

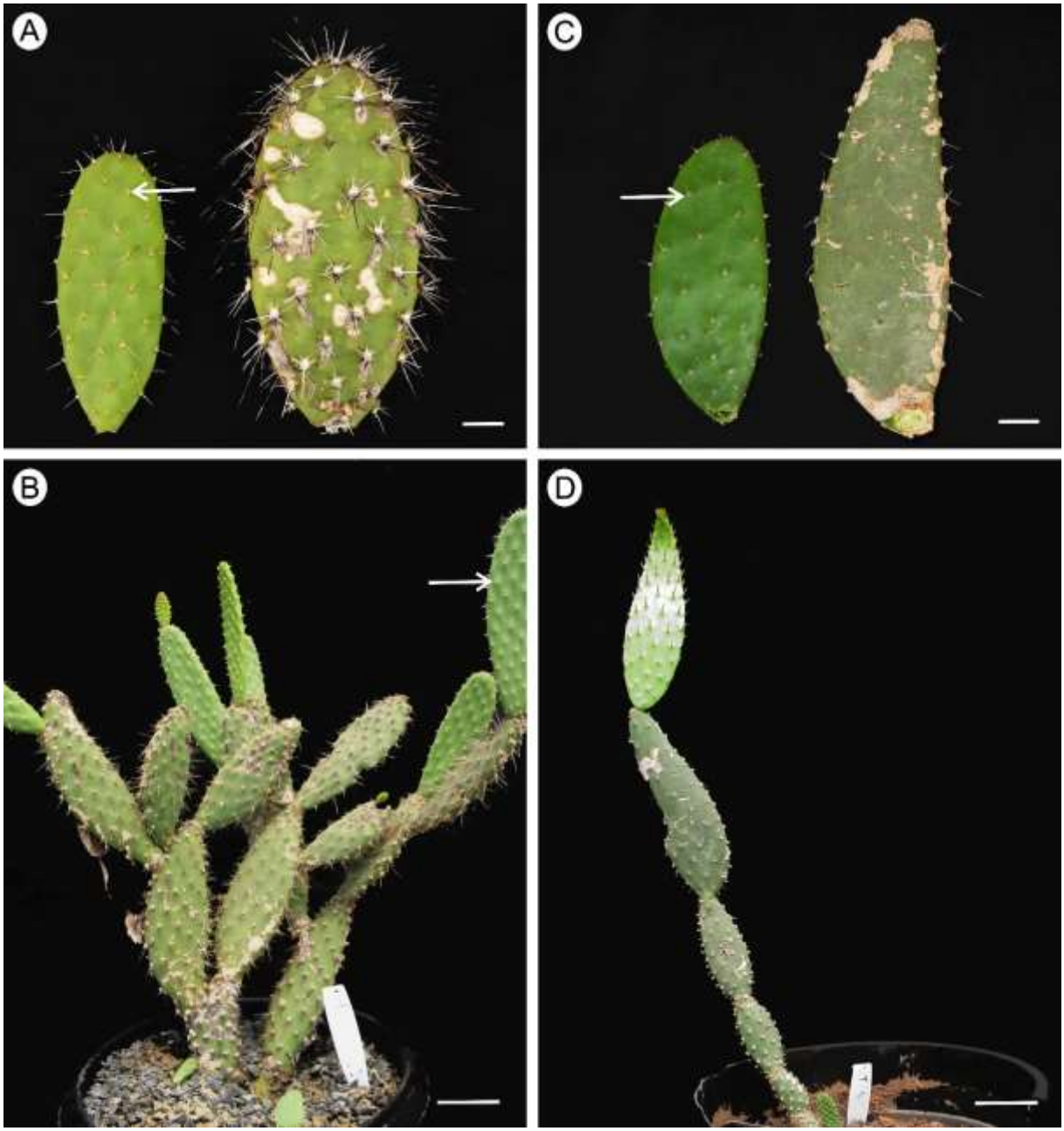


Figura 3 – Plantas e detalhe do cladódio das espécies *Tacinga palmadora* e *Tacinga werneri* cultivadas em casa de vegetação. A, C. Os cladódios da esquerda são apicais e os cladódios da direita são medianos. A-B. *Tacinga palmadora*, cladódios de coloração verde clara e aréolas repletas de espinhos (A); planta arbustiva de médio porte, bastante ramificada (B). C-D. *Tacinga werneri,* cladódio verde escuro, contendo aréolas espaçadas (C); planta arbustiva de médio porte, não ramificada (D). Setas apontam para as aréolas presentes nos cladódios. Barras: A, C = 1 cm; B, D = 3 cm.

Figura 4 – Plantas e detalhe do cladódio das espécies *Tacinga funalis e Tacinga braunii* cultivadas em casa de vegetação. A, C. Os cladódios da esquerda são apicais e os cladódios da direita são medianos. A-B. *Tacinga funalis*, planta com cladódios completamente cilíndricos (A) e longos (B). C-D. *Tacinga braunii,* cladódios achatados (C), com coloração verde e cladódios com coloração roxa (seta) (D). A-B. Setas apontam para as aréolas presentes nos cladódios. Barras: A, C = 1 cm; B, D = 5 cm.

Em relação ao indumento das aréolas em *Tacinga*, este pode ser composto por espinhos, gloquídeos e tricomas. Todas as espécies obrigatoriamente apresentam gloquídeos e tricomas. Os tricomas são esbranquiçados e podem variar em comprimento de espécie para espécie. Além dos indumentos, algumas tacingas podem apresentar escamas basais persistentes na região da aréola (Figura 5).

Tacinga subcylindrica e *T. inamoena* não apresentam espinhos e as aréolas das duas espécies se assemelham por estarem em discretas depressões em relação às demais regiões do cladódio (Figura 5, A-B), no entanto, as depressões em *T. subcylindrica* são menos pronunciadas do que em *T. inamoena*. Os gloquídeos presentes nas aréolas são amarelados em *T. subcylindrica* e acastanhados em *T. inamoena*. Em *T. x flammea*, além de tricomas e gloquídeos, a espécie também apresenta longos espinhos (Figura 5, C). Os gloquídeos são amarelados. Os tricomas são levemente alongados recobrindo os gloquídeos. Os espinhos são de 1-3 por aréola, com aproximadamente 3 cm de comprimento, sendo esbranquiçados quando jovens, acastanhados com a ponta esbranquiçada quando maduros, e marrom escuro quando o cladódio está completamente maduro.

A espécie *T. werneri* também apresenta espinhos, além de tricomas e gloquídeos, embora nem todas as aréolas possuam espinhos (Figura 5, D). Nas aréolas em que há a presença de espinhos, estes podem ser, em média, 1-3 espinhos por aréola, com até 1 cm de comprimento. Os tricomas são enrolados e recobrem quase totalmente os gloquídeos. Os gloquídeos variam de amarelo a dourado. A espécie *T. palmadora,* além dos indumentos espinhos, gloquídeos e tricomas, caracteriza-se pela presença de uma escama basal persistente que cobre a aréola (Figura 5, E-F). A escama basal é rosada ou acastanhada. Os espinhos são pungentes, em média 4-6 por aréola, com diferentes tamanhos, tendo os maiores 2 cm de comprimento em média, com coloração branca ou castanha quando completamente maduro. Quando jovem, os espinhos possuem a base amarelo esverdeada, o centro acastanhado e o ápice esbranquiçado. Em adição, os espinhos de *T. palmadora* são inclinados e direcionados para cima enquanto os espinhos de *T. werneri* são inclinados e direcionados de forma contrária, apontando para o solo.

Em *T. funalis* e *T. braunii*, é possível visualizar gloquídeos de coloração distinta, variando de amarelados, quando jovens, a castanho escuros, quando maduros e lignificados (Figura 5, G-H). Além dos gloquídeos, *T. funalis* e *T. braunii* apresentam longos tricomas, que se projetam para além das aréolas. Em *T. braunii*, a aréola é completamente preenchida por gloquídeos, sendo que os tricomas cobrem parte destes. Essas duas espécies, *T. braunii* e *T. funalis*, são as que apresentam a maior abundância de gloquídeos, e não possuem espinhos.

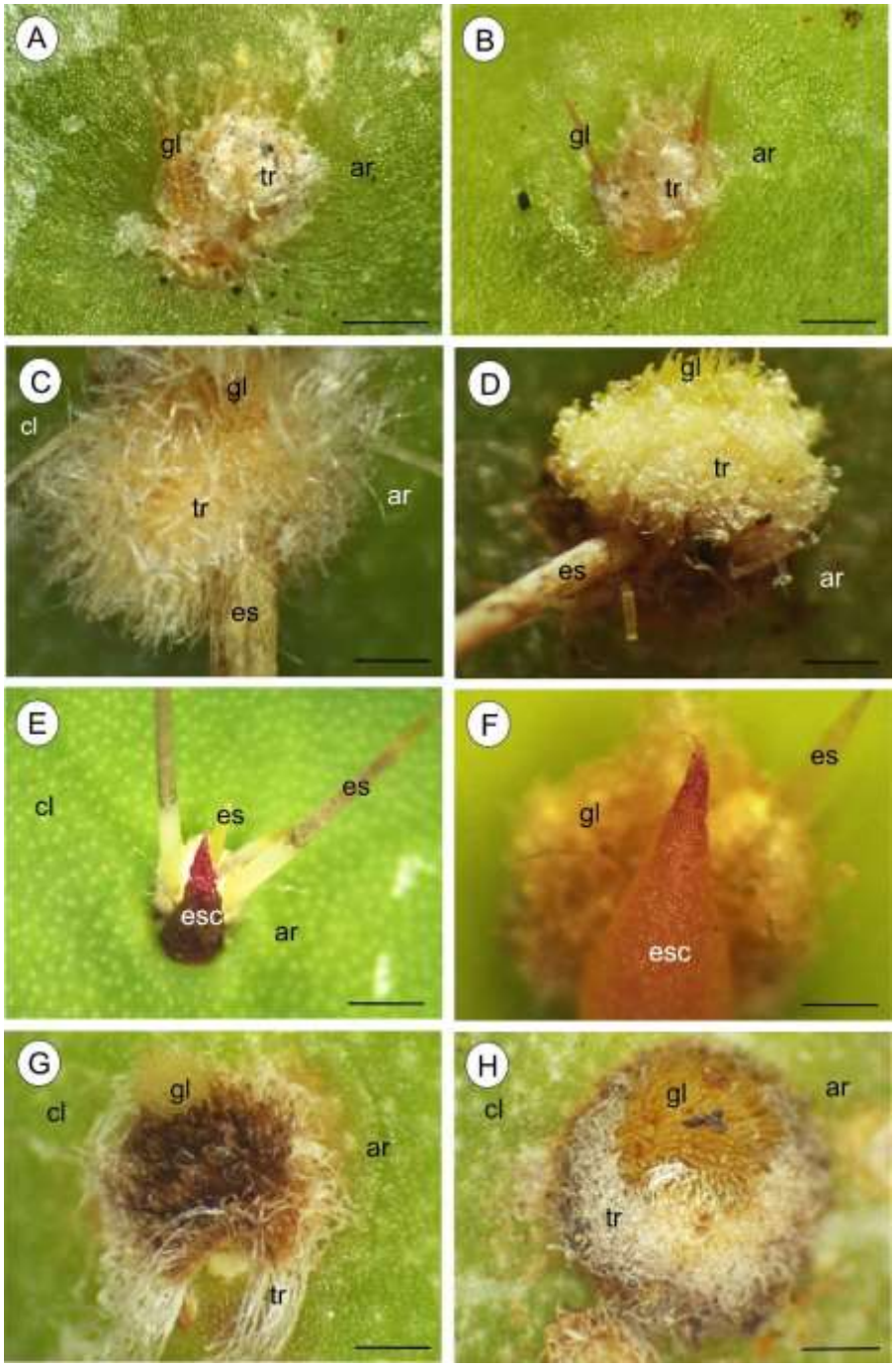


Figura 5 – Aréolas observadas em cladódios adultos de espécies de *Tacinga*. A.*T. subcylindrica,* aréola mostrando tricomas e gloquídeos. B. *T. inamoena,* aréola situada em depressão em relação às demais regiões do cladódio. C. *T.* x *flammea*, tricomas levemente alongados recobrindo os gloquídeos. D. *T. werneri*, tricomas enrolados cobrindo grande parte dos gloquídeos. E-F. *T. palmadora,* aréola mostrando espinhos, em diferentes tamanhos, e uma escama basal persistente (E), detalhe da aréola mostrando escama basal acastanhada, espinho e gloquídeos (F). G. *T. funalis,* aréola apresentando longos tricomas, contendo gloquídeos com coloração distinta, amarelados e castanho escuro. H. *T. braunii*, aréola completamente ocupada por gloquídeos, com tricomas cobrindo parte destes. Legenda: ar = aréola; cl = cladódio; esc = escama basal; gl = gloquídeo; tr = tricomas. Barras = A-D, F-H = 0,5 mm; E = 2 mm.

4.3.2 Anatomia do caule (cladódio)

Em secção transversal, o cladódio é constituído por epiderme, camada subepidérmica colenquimática, parênquima clorofiliano, parênquima aquífero, feixes vasculares e medula (Figura 6, A).

O sistema de revestimento do cladódio, em secção transversal, apresenta epiderme uniestratificada (Figura 6, B), sendo fortemente ondulada em *T. palmadora* e *T. werneri* (Figura 6, C-D) e consideralmente plana nas demais espécies. Em *T. funalis*, foram observadas algumas células epidérmicas com lúmen relativamente maior que as demais (Figura 6, E). Uma cutícula espessa recobre a epiderme (Figura 6, F). Os estômatos são do tipo opuntióide (Figura 6, G), localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas (Figura 6, H-I), em secção transversal, exceto em *T. palmadora* e *T. werneri*, que apresentam os estômatos acima das demais células epidérmicas (Figura 6, C-D). Amplas câmaras subestomáticas estão presentes em todas as espécies e podem ser muito profundas, alcançando as células do parênquima clorofiliano (Figura 6, I-J). As paredes anticlinais das células epidérmicas, observadas em corte paradérmico, são sinuosas em todas as espécies (Figura 6, K).

Na região do córtex, logo abaixo da epiderme, observam-se 4-5 camadas de células colenquimáticas (Figura 6, B, F), seguido de parênquima clorofiliano composto por células grandes, isodiamétricas a retangulares, com paredes finas (Figura 6, B). Mais internamente ao parênquima clorofiliano está o parênquima aquífero, composto por células arredondadas, maiores que as células do parênquima clorofiliano, com paredes delgadas (Figura 6, L). Drusas são observadas em idioblastos no colênquima e no tecido parenquimático, sendo mais frequentes entre as células do colênquima (Figura 6, E-G, L). Estruturas secretoras de mucilagem ocorrem entre as células parenquimáticas do tecido fundamental (Figura 6, L). O cilindro vascular é constituído por feixes colaterais, formados por floema e xilema primários (Figura 6, A).

As aréolas são regiões meristemáticas, constituídas por células pequenas com núcleo proeminente, a partir das quais se desenvolvem tricomas e gloquídeos. O tecido areolar é repleto de idioblastos contendo drusas (Figura 6, M-N).

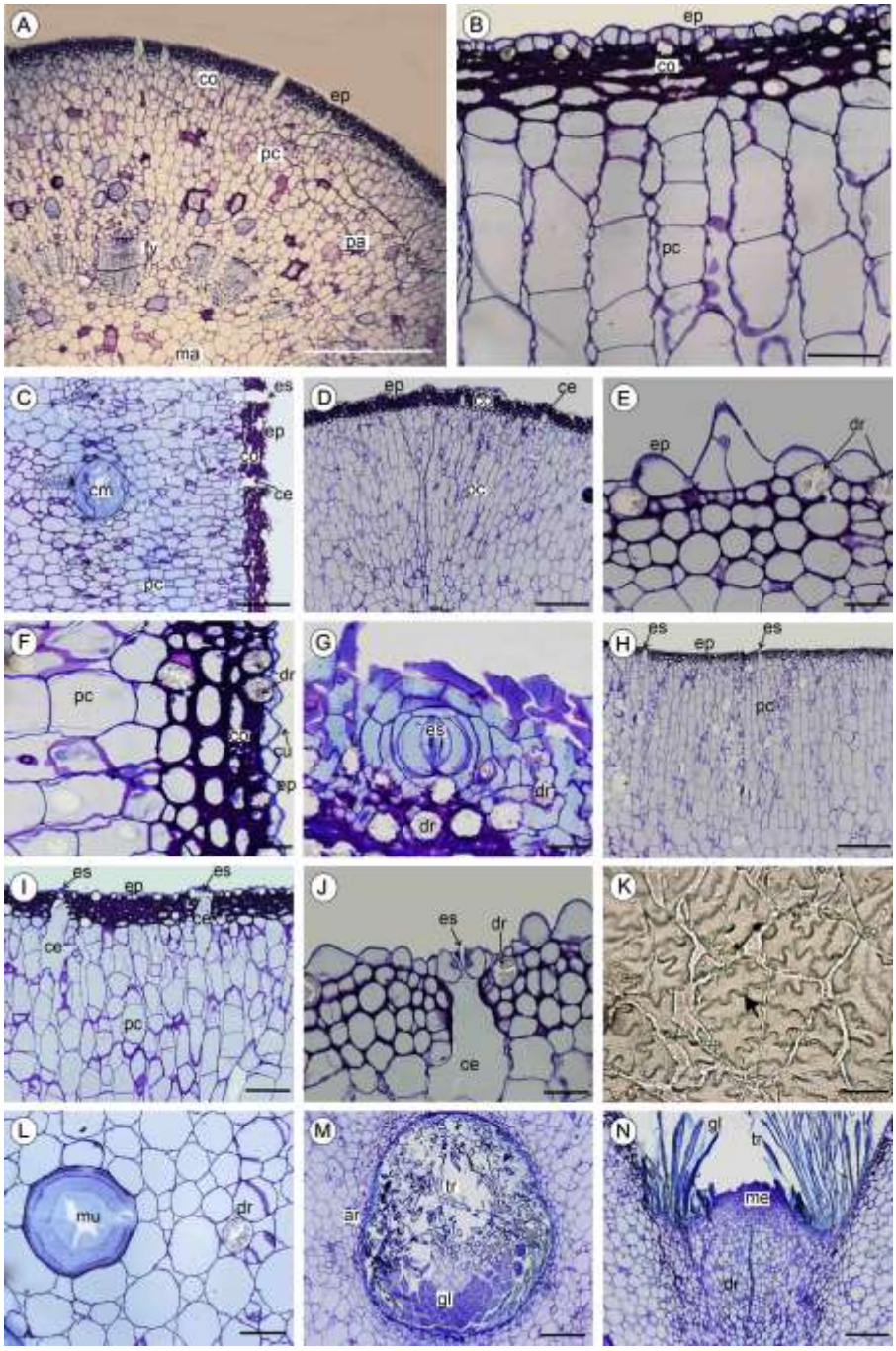


Figura 6 – Anatomia do cladódio de *Tacinga*. A. Organização anatômica do cladódio de *T. braunii*: epiderme, camada colenquimática, parênquima aquífero, sistema vascular e medula. B. Epiderme uniestratificada em *T. inamoena*. C. Epiderme ondulada em *T. palmadora*. D. Epiderme ondulada em *T. werneri.* E. Células epidérmicas projetadas em *T. funalis*. F. Cutícula espessa em *T. subcylindrica*. G. Estômato opuntióide, em *T. inamoena*. H. Estômatos localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas em *T. subcylindrica*. I. Amplas câmaras subestomáticas em *T. x flammea* alcançando o tecido parenquimático. J. Ampla câmara subestomática em *T. funalis*. K. Paredes anticlinais das células epidérmicas sinuosas, observadas em *T. werneri*. L. Células de mucilagem e idioblasto contendo drusa presentes no parênquima aquífero. M. Aréola, em corte transversal, mostrando a distribuição de gloquídeos e tricomas. N. Aréola, em corte longitudinal, mostrando as células que compõem a região meristemática. Legenda: ar = aréola, ce = câmara estomática, co = camada colenquimática, dr = drusa, ep = epiderme, es = estômato, gl = gloquídeo, ma = medula, me = região meristemática areolar, mu = célula de mucilagem, pa = parênquima aquífero, pc = parênquima clorofiliano, fv = feixe vascular, tr = tricoma. Barras = A = 1000 µm; D, H, M = 500 µm; I, N = 200 µm; B-C, L = 100 µm; E-G, J, K = 50 µm.

4.4 Discussão

As espécies de *Tacinga* são morfologicamente distintas entre si. Diferenças morfológicas do caule são identificadas para as espécies do gênero, tais como: porte das plantas, formato e coloração dos cladódios, presença ou ausência de espinhos, distância entre aréolas, aréolas em podários, aréolas situadas em depressões, coloração e abundância dos gloquídeos nas aréolas, diferentes tipos de tricomas (alongados, levemente alongados ou enrolados) e presença ou ausência de escamas basais cobrindo as aréolas.

As principais distinções morfológicas do caule entre *T. subcylindrica* e *T. inamoena* compreendem o porte das plantas, sendo *T. subcylindrica* bem menor que *T. inamoena*, como descrito na literatura (MACHADO; TAYLOR, 2003), no crescimento prostrado e aréolas em podários em *T. subcylindrica.* Além disso, os cladódios de *T. inamoena* medem basicamente o dobro do comprimento dos cladódios de *T. subcylindrica*. Entre *T. inamoena* e *T.* x *flammea* as principais diferenças abrangem a presença de espinhos em *T.* x *flammea* e ausência em *T. inamoena,* a coloração do caule verde claro em *T. inamoena* e verde escuro em *T. x flammea*, bem como a presença de tricomas levemente alongados recobrindo os gloquídeos de *T. x flammea.*

As espécies *T. palmadora* e *T. werneri se* diferenciam no porte das plantas, sendo *T. werneri* menor, não ultrapassando 1 m de comprimento, geralmente, como descrito na literatura (TAYLOR; ZAPPI, 2004). No entanto, os cladódios de *T. werneri* são maiores que os de *T. palmadora*. Além disso, as aréolas presentes nos cladódios de *T. werneri* são mais espaçadas entre si e estão em menor abundância nos cladódios, em comparação com *T. palmadora*. Outra distinção refere-se ao fato da espécie *T. palmadora* apresentar muitos espinhos em todas as aréolas, diferentemente de *T. werneri* que pode ou não apresentar espinhos.

As características morfológicas do caule que diferenciam *T. funalis* e *T. braunii* compreendem o formato do cladódio das espécies, sendo cilíndrico em *T. funalis* e achatado em *T. braunii*; o porte de *T. braun*ii como arvoreta; o crescimento de *T. funalis* sempre junto a outras plantas, enquanto *T. braunii* pode ser vista crescendo isoladamente, e, por fim, a menor distância entre as aréolas em *T. funalis*.

Por outro lado, também foram identificados padrões morfológicos do caule entre as espécies de *Tacinga*. Todas as espécies do gênero possuem tricomas, além de gloquídeos, que são típicos da subfamília Opuntioideae (ANDERSON, 2001; GRIFFITH, 2014). Todos os tricomas observados em *Tacinga* são esbranquiçados. As aréolas, em todas as espécies, estão dispostas em espirais.

Diferentes ferramentas podem ser utilizadas para a identificação de espécies, porém caracteres morfológicos ainda são amplamente utilizados no reconhecimento botânico de espécies. As diferenças e padrões morfológicos identificados em *Tacinga* podem ser úteis para a taxonomia, especialmente para estudos evolutivos no gênero.

Com relação a anatomia do caule de *Tacinga*, todas as espécies, em seu aspecto geral, apresentam a mesma organização anatômica, sendo constituídas por epiderme, camada subepidérmica colenquimática, parênquima clorofiliano, parênquima aquífero, feixes vasculares e medula.

Padrões anatômicos do caule foram observados entre as espécies de *Tacinga*. No sistema de revestimento do caule podemos destacar a presença de epiderme uniestratificada, cutícula espessa, estômatos do tipo opuntióide, amplas câmaras subestomáticas, paredes anticlinais das células epidérmicas sinuosas. No sistema fundamental, temos a camada de células colenquimáticas; o parênquima clorofiliano composto por células grandes, isodiamétricas a retangulares, com paredes finas; o parênquima aquífero, composto por células arredondadas, maiores que as células do parênquima clorofiliano, com paredes delgadas; presença de idioblastos contendo drusas na camada colenquimática e no parênquima; estruturas secretoras em abundância e feixes vasculares colaterais.

Embora as espécies de *Tacinga* apresentem um padrão anatômico do caule, importantes diferenças anatômicas foram observadas. A epiderme do caule é fortemente ondulada em *T. palmadora* e *T. werneri* e consideravelmente plana nas demais espécies. Além disso, os estômatos estão localizados acima das demais células epidérmicas em *T. palmadora* e *T. werneri*. Essas características anatômicas observadas em *T. palmadora* e *T. werneri* corroboram a existência do grupo morfológico formado por estas espécies, proposto por observações morfológicas nesse trabalho. As espécies *T. palmadora* e *T. werneri,* juntamente com *T. armata* J.G. Freitas & E.M. Almeida e *T. lilae* (Trujillo & M. Ponce) Majure & R. Puente também são relatadas como grupo morfológico por Freitas et al. (2021). Outra característica anatômica que diferencia as espécies é a presença de células epidérmicas com lúmen relativamente maior em *T. funalis*. Essa característica não foi observada em nenhuma outra espécie. Todas essas variações anatômicas podem auxiliar na compreensão da filogenia do gênero.

O sistema de revestimento do caule em *Tacinga* é formado por uma cutícula espessa, epiderme uniestratificada e várias camadas colenquimáticas. Esse sistema de revestimento constituído de epiderme e hipoderme colenquimática, bem como a presença de câmaras subestomáticas extensas, é comumente observado em Cactaceae (GIBSON, 1982; DARLING, 1989). Considerando que as cactáceas dispõem de diversos recursos adaptativos

em ambientes áridos e semiáridos, esse sistema de revestimento tem a função de proteger a planta da radiação solar. Em *Cereus giganteus* Engelm., o cacto saguaro, a epiderme e a camada colenquimática, formam uma camada espessa de proteção que reduz a incidência de radiação ultravioleta-alfa e beta, por outro lado, permite a absorção de grande parte da radiação fotossinteticamente útil, além de reduzir a carga de calor na planta (DARLING, 1989). Além disso, é fato que a cutícula espessa e a cera epicuticular dos cactos desempenham um importante papel na conservação da água (CONDE, 1975).

Os estômatos identificados em *Tacinga*, do tipo opuntióide, são também observados em outras espécies da subfamília Opuntioideae (EGGLI, 1984). Esse tipo de estômato apresenta células subsidiárias aleatórias, levando-o a ser facilmente confundido com o tipo hexacítico, inclusive o equívoco já foi alertado na literatura (EGGLI, 1984). Comumente o número de células subsidiárias é bastante elevado em Cactaceae (EGGLI, 1984). Em Opuntioideae e Pereskioideae, muitas vezes não é possível identificar quais são as células subsidiárias das células epidérmicas (EGGLI 1984), o que acaba gerando dúvida na identificação do estômato.

Com relação à posição dos estômatos de *T. palmadora* e *T. werneri,* esta é uma condição anatômica distinta e é considerada uma apomorfia em *Tacinga* (MAJURE et al., 2013). Portanto, faz-se necessário investigar melhor as causas evolutivas e fisiológicas por trás dessa característica anatômica. As demais espécies, *T. subcylindrica*, *T. inamoena*, *T. funalis*, *T. x flammea e T. braunii* possuem estômatos localizados na mesma altura das demais células epidérmicas. Estudos evidenciam que estômatos em depressão possuem um importante valor adaptativo para a conservação da água (DARLING, 1989). No entanto, não existem estudos a respeito da localização de estômatos acima de amplas câmaras estomáticas. Suposições sugerem a existência de rápidas trocas gasosas logo após a abertura do estômato (DARLING, 1989). Porém, os estômatos de cactos geralmente permanecem abertos por muitas horas (NOBEL, 1988). Uma investigação mais aprofundada é necessária para melhor compreensão dessas características morfológicas e funcionais.

4.5 Conclusões

Embora a morfologia do caule de *Tacinga* tenha sido bem descrita e existam estudos anatômicos incluindo a anatomia caulinar de algumas espécies, este trabalho amplia a compreensão das estruturas morfológicas em *Tacinga*, apresenta o padrão anatômico geral do caule de espécies do gênero e revela importantes diferenças anatômicas no gênero. As características morfológicas e anatômicas, em grande parte, estão associadas à adaptação dessas plantas a ambientes xéricos, assim como observado em outras cactáceas. Por fim, os

resultados obtidos nessa pesquisa são relevantes do ponto de vista taxonômico e evolutivo, por apresentar caracteres variáveis informativos do gênero.

Referências

ANDERSON, E. F. **The cactus family**. Portland: Timber Press, 2001.

ARRUDA, E.; MELO-DE-PINNA, G. F.; ALVES, M. Anatomia dos órgãos vegetativos de Cactaceae da caatinga pernambucana. **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, p. 589-601, 2005.

BRITTON, N. L.; ROSE, J. N. **The Cactaceae**. Washington, DC: The Carnegie Institution, 1919. v. 1.

CONDE, L. F. Anatomical comparisons of five species of Opuntia (Cactaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 62, p. 425-473, 1975.

DARLING, M. S. Epidermis and hypodermis of the saguaro cactus (Cereus giganteus): anatomy and spectral properties. **American Journal of Botany**, v. 76, n. 11, p. 1698-1706, 1989.

EGGLI, U. R. S. Stomatal types of Cactaceae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 146, n. 3, p. 197-214, 1984.

FEDER, N. E. D.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v. 55, n. 1, p. 123-142, 1968.

FREITAS, J. G. et al. Novelties in Cactaceae from Eastern Brazil: Adding two new species and one new nothospecies to Tacinga (Opuntioideae). **Phytotaxa**, v. 490, n. 3, p. 239-252, 2021.

GIBSON, A. The anatomy of succulence. In: TING, I. P.; GIBBS, M. (eds.). **Crassulacean acid metabolism**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 1982. p. 1-17.

GRIFFITH, M. P. The desert ignored: Early cactus evolution and interpretation. In: Symposium on the Natural Resources of the Chihuahuan Desert Region, 6., 2014, Fort Davis. **Proceedings…** Fort Davis, TX: Chihuahuan Desert Research Institute, 2014. p. 86–100. Disponível em: http://cdri.org/publications/proceedings-of-thesymposium-on-the-natural-resources-of-the-chihuahuan-desert-region/

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Biomas e sistema costeiro-marinho do Brasil**: compatível com a escala 1:250 000. Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, 2019. p. 151-155. (Relatórios Metodológicos, v. 45).

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940.

LAMBERT, S. M. *Tacinga*: The hummingbird-pollinated prickly pear. **Cactus and Succulent Journal**, v. 81, p. 156–161, 2009.

LUCENA, C. M. et al. Use and knowledge of Cactaceae in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 9, art. 62, 2013.

MACHADO, M.; TAYLOR, N. A new subspecies of *Tacinga inamoena* (Cactaceae) from Eastern Bahia, Brazil. **Bradleya**, v. 21, p. 13–16, 2003.

MAJURE, L. C. et al. *Opuntia lilae*, Another *Tacinga* Hidden in *Opuntia s.l.* (Cactaceae). **Systematic Botany**, v. 38, n. 2, p. 444–450, 2013.

MAJURE, L. C. et al. Phylogeny of *Opuntia s.s.* (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 5, p. 847–864, 2012.

PAIXÃO, V. H. F.; GOMES, V. G. N.; VENTICINQUE, E. M. Florivory by lizards on Tacinga inamoena (K. Schum.) NP Taylor & Stuppy (Cactaceae) in the Brazilian Caatinga. **Biota Neotropica**, v. 21, e20201109, 2021. doi:10.1590/1676-0611-BN-2020-1109

TAYLOR, N. P.; ZAPPI, D. C. **Cacti of eastern Brazil**. Kew: The Royal Botanic Gardens, 2004.

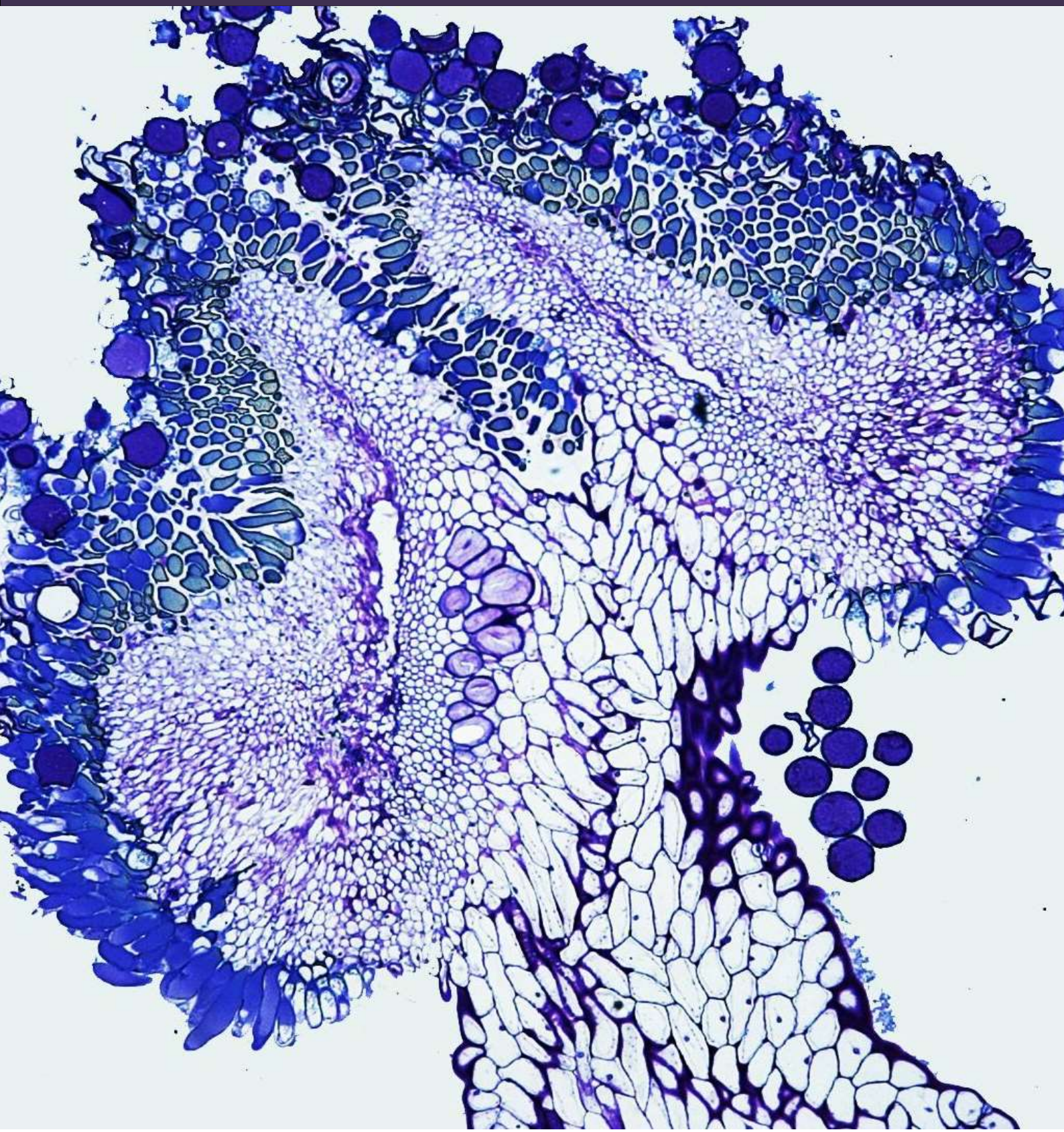
TAYLOR, N.; ZAPPI, D. C. Additions and corrections to “Cacti of Eastern Brazil”. **Bradleya**, v. 36, p. 2–21, 2018.

TAYLOR, N. P.; STUPPY, W.; BARTHLOTT, W. Realignment and revision of the Opuntioideae of Eastern Brazil. **Succulent Plant Research**, v. 6, p. 99–131, 2002.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.P. 2020. *Cactaceae*. In: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Flora do Brasil - 2020.** Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB1750>. Acesso em: 18 jan. 2022

CAPÍTULO 2

Morfologia floral e estratégias reprodutivas de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae)



Tacinga funalis Britton & Rose – estigma

Imagem: Jucicleide Martins

5. Morfologia floral e estratégias reprodutivas de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae)

RESUMO

Tacinga, pertencente à família Cactaceae, compreende um pequeno gênero de cactos com dez espécies, duas subespécies e duas notoespécies, todas endêmicas do Brasil, com exceção de *T. lilae*, que é endêmica da Venezuela. As tacingas brasileiras são características dos ambientes semiáridos da Caatinga. As plantas do gênero são subarbustos e arbustos com flores muito vistosas. Todavia, no que se refere à morfologia, anatomia, biologia reprodutiva e filogenia, o gênero ainda carece de informações, especialmente àquelas que possam contribuir para a compreensão dos processos evolutivos que resultaram na especiação. Deste modo, o objetivo deste estudo foi ampliar a compreensão da morfologia floral e das estratégias reprodutivas de *Tacinga* com base na morfoanatomia analisada sob uma perspectiva filogenética. O estudo envolve análises morfológicas, anatômicas, de biologia reprodutiva e filogenéticas. Os resultados revelam diferenças morfoanatômicas florais entre as espécies de *Tacinga*. Dentre as direfenças morfológicas destacam-se o comprimento das flores, coloração das tépalas e formato do pericarpelo. Além disso, foram reconhecidas novas características morfológicas informativas e variáveis para o gênero, tais como formato do ovário e da câmara nectarífera bem como formato e coloração de escamas basais do pericarpelo. Este trabalho apresenta ainda uma estimativa média de óvulos por flor, estimativa de grão de pólen e razão pólen-óvulo que foram relevantes para a compreensão de estratégias reprodutivas no gênero. Com relação à anatomia floral é possível identificar um padrão anatômico do aspecto geral, por exemplo, todas as espécies possuem pericarpelo constituído por uma epiderme uniestratificada com cutícula espessa e camada subepidérmica colenquimática. No entanto, importantes diferenças anatômicas foram reveladas, tais como estômatos do pericarpelo floral situados acima das demais células epidérmicas em *T. palmadora* e *T. werneri* bem como presença de compostos fenólicos nas papilas do estigma de *T. funalis* e *T. braunii*. Estas diferenças foram extremamente relevantes para a compreensão da evolução de caracteres no gênero, sendo a posição dos estômatos considerada uma sinapormofia em um dos clados de *Tacinga*. Por fim, a reconstrução de estado ancestral dos caracteres florais corrobora a polinização de *Tacinga* por beija-flor e sugere que as flores evoluíram para serem polinizadas também por artrópodes. Os resultados obtidos nesta pesquisa ampliam a compreensão morfoanatômica floral do gênero *Tacinga*, fornecem importantes contribuições a respeito das estratégias reprodutivas e desvendam questões evolutivas no gênero.

Palavras-chave: Colênquima. Filogenia. Opuntióide. Pericarpelo. Sinapormorfia.

5. Floral morphology and reproductive strategies of *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae)

ABSTRACT

Tacinga, belonging to the Cactaceae family, comprises a small genus of cacti with ten species, two subspecies and two notospecies, all endemic to Brazil, except for *T. lilae*, which is endemic to Venezuela. Brazilian tacingas are characteristic of the semi-arid environments of the Caatinga. The plants of the genus are subshrubs and shrubs with very showy flowers. The genus still lacks information about morphology, anatomy, reproductive biology, and phylogeny, especially those that may contribute to the understanding of the evolutionary processes that resulted in the speciation of the species. Thus, the objective of this study was to expand the understanding of the floral morphology and reproductive strategies of *Tacinga* based on the morphoanatomy analyzed from a phylogenetic perspective. The study involves morphological, anatomical, reproductive biology and phylogenetic analyses. The results reveal floral morphoanatomical differences between *Tacinga* species. In addition, new informative and variable morphological characteristics were recognized for the genus, such as the shape of the ovary and the nectariferous chamber as well as the shape and color of the basal scales of the pericarpel. This work also presents an average estimate of ovules per flower, an estimate of pollen grain and pollen-egg ratio that were relevant to the understanding of reproductive strategies in the genus. Regarding the floral anatomy, it is possible to identify an anatomical pattern of the general appearance, for example, all species have a pericarpel consisting of a unistratified epidermis with a thick cuticle and a collenchymatic subepidermal layer. However, important anatomical differences were revealed, such as stomata of the floral pericarpel situated above the other epidermal cells in *T. palmadora* and *T. werneri* as well as the presence of phenolic compounds in the stigma papillae of *T. funalis* and *T. braunii*. These differences were extremely relevant for understanding the evolution of characters in the genus, with the position of the stomata being considered a synapormophy in one of the *Tacinga* clades. Finally, the ancestral state reconstruction of floral characters corroborates the pollination of *Tacinga* flowers by hummingbirds and suggests that they also evolved to be pollinated by arthropods. The results obtained in this research expand the floral morphoanatomical understanding of the genus *Tacinga*, provide important contributions regarding reproductive strategies and reveal evolutionary questions in the genus.

Keywords: Collenchyma. Opuntioids. Pericarpel. Phylogeny. Synapomorphy.

5.1. Introdução

As angiospermas, plantas com flores, estão distribuídas por variados ecossistemas em todo o mundo, servindo de alimento e abrigo para inúmeras outras espécies (SAUQUET; RAMÍREZ-BARAHONA; MAGALLÓN, 2021[1]). A família Cactaceae, conhecida por ter caule suculento e, muitas vezes, repleto de espinhos, faz parte desse bem-sucedido e dominante grupo de plantas, as angiospermas.

Por apresentar flores vistosas e formas variadas, as cactáceas de destacam na paisagem. As plantas desse grande grupo podem ser arborescentes, arbustivas, subarbustivas. Quanto à forma de crescimento, os cactos podem ser colunares, globosos ou palmados. Podem ocorrer solitários ou em touceira, em diferentes substratos, sendo classificados como cactos epifíticos, litofíticos, prostrados, geofíticos, entre outros (ANDERSON, 2001).

As variações morfológicas em Cactaceae são importantes instrumentos na delimitação de espécie, gênero, família e subfamília. Estudos da morfologia externa das plantas ainda são comumente empregados na identificação e classificação botânica de espécies. Porém, frequentemente, barreiras morfológicas tênues ou processos de divergência recentes levam à necessidade de recorrer ao uso de ferramentas adicionais e estudos mais aprofundados para a delimitação entre as espécies. Por exemplo, a existência de variações populacionais pode dificultar em muito a taxonomia de alguns grupos, se considerarmos somente aspectos morfológicos. Desse modo, a associação entre estudos da morfologia, morfometria, anatomia, biologia reprodutiva e filogenia das espécies podem ser essenciais para a compreensão da complexidade taxonômica dessa família botânica.

As tacingas, pertencentes à família Cactaceae e subfamília Opuntioideae (ANDERSON, 2001), formam um pequeno gênero de cactos palmados. O gênero é constituído por dez espécies [*T. inamoena* (K. Schum.) N.P. Taylor & Stuppy, *T. palmadora* (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy, *T. funalis* Britton & Rose, *T. braunii* Esteves, *T. werneri* (Eggli) N.P. Taylor & Stuppy, *T. saxatilis* (Ritter) N.P. Taylor & Stuppy, *T. subcylindrica* M. Machado & N.P. Taylor, *T. armata* J.G. Freitas & E.M. Almeida, *T. gladispina* J.G. Freitas & E.M. Almeida e *T. lilae* (Trujillo & M. Ponce) Majure & R. Puente)], duas subespécies [*T. saxatilis* (Ritter) N.P. Taylor & Stuppy subsp. *saxatilis* e *T. saxatilis* subsp. *estevesii* (P.J. Braun) N.P. Taylor & Stuppy] e duas notoespécies [*T.* x *quipa* (F.A.C.

[1] SAUQUET, H.; RAMÍREZ-BARAHONA, S.; MAGALLÓN, S. **The age of flowering plants is unknown**. 2021. Dados não publicados.

Weber) N.P. Taylor & Stuppy e *T. x flammea* J.G. Freitas & E.M. Almeida] (TAYLOR; ZAPPI, 2004; TAYLOR; ZAPPI, 2018; FREITAS et al., 2021).

Todas as espécies de *Tacinga* são endêmicas do Brasil (ZAPPI; TAYLOR, 2020), com exceção de *T. lilae*, que é endêmica da Venezuela (MAJURE et. al., 2013; NASSAR et al., 2013). Algumas espécies são endêmicas da região central do nordeste do Brasil, tais como *T. funalis* e *T. werneri*. Outras são endêmicas do nordeste brasileiro em sua totalidade, tais como *T. palmadora, T. subcylindrica* e *T. x quipa*. Outras são consideradas endêmicas do leste do Brasil, são elas: *T. inamoena*, *T. saxatilis*, *T. saxatilis* subsp. saxatilis, *T. armata, T. gladispina, T. x flammea.* Já a espécie *T. braunii* tem uma distribuição restrita ao Vale do Rio Jequitinhonha, sendo considerada endêmica dessa região. Assim como *T. saxatilis* subsp. *estevesii*, endêmica do município de Iuiú, Bahia (FREITAS et al., 2021; TAYLOR; ZAPPI, 2004).

As espécies brasileiras do gênero são características dos ambientes semiáridos da Caatinga (FREITAS et al., 2021). As plantas são subarbustos e arbustos, e podem ser prostrados, eretos ou decumbentes. Todas as espécies possuem gloquídeos e tricomas abundantes. Os gloquídeos, bem como o caule segmentado em cladódios, folhas presentes e efêmeras são caracteres típicos da subfamília Opuntioideae (ANDERSON, 2001; GRIFFITH, 2014). Já com outros membros da tribo Opuntieae, *Brasiliopuntia* e *Consolea* (MAJURE et al., 2013), os representantes de *Tacinga* compartilham as sementes com envelope funicular piloso (STUPPY, 2002) e o crescimento indeterminado (TAYLOR; STUPPY; BARTHLOTT, 2002;). Com relação às estruturas reprodutivas, as flores das tacingas variam em cores, podendo ser amarela, verde, laranja ou vermelha e normalmente apresentam estames eretos. Uma característica importante na diferenciação das espécies de *Tacinga* de outras da subfamília Opuntioideae é a evolução de caracteres florais, os quais são compatíveis com a visitação e polinização por beija-flores (LAMBERT, 2009). Um estudo da biologia da polinização apontou o beija-flor como o visitante floral mais frequente nas flores da espécie *T. palmadora* (LOCATELLI; MACHADO, 1999).

As tacingas apresentam diversas adaptações morfológicas, anatômicas e fisiológicas, porém, estas ainda são pouco estudadas. Os caracteres morfológicos em *Tacinga* muitas vezes apresentam sobreposição, o que acaba gerando dificuldade no reconhecimento de espécies. Além disso, é registrada a ocorrência de híbridos no grupo, aumentando a complexidade morfológica do gênero. Dados morfológicos e cromossômicos sugerem a hibridação entre espécies de *Tacinga* (TAYLOR; STUPPY; BARTHLOTT, 2002; TAYLOR; ZAPPI, 2004; FREITAS et al., 2021). São relatados possíveis cruzamentos entre *T. inamoena* com *T. palmadora*, *T. werneri,* ou *T. saxatilis* (TAYLOR; STUPPY; BARTHLOTT, 2002;

TAYLOR; ZAPPI, 2004). A hibridação entre *T. inamoena* e *T. werneri* resultou no surgimento da notoespécie *T.* x *flammea* (FREITAS et al., 2021). As espécies *T. x flammea* e *T. inamoena* são semelhantes em hábito, formato e coloração dos cladódios e na cor das flores. Já *T.* x *flammea* e *T. werneri* se assemelham no posicionamento dos cladódios, na coloração e presença de espinhos (FREITAS et al., 2021).

O gênero *Tacinga* constitui um grupo com diversas questões morfológicas a serem compreendidas, sendo que suas espécies ainda carecem de informações, especialmente no que se refere à morfologia, anatomia, biologia reprodutiva e filogenia. Estudos mais detalhados contribuirão para a compreensão de como caracteres variáveis podem auxiliar significativamente na definição dos limites específicos entre essas espécies e nos processos evolutivos que resultaram na especiação destas. Deste modo, o objetivo deste estudo consiste em ampliar a compreensão da morfologia, anatomia floral e das estratégias reprodutivas de *Tacinga* com base na morfoanatomia analisada sob uma perspectiva filogenética.

5.2. Materiais e Métodos

5.2.1 Amostragem

O estudo incluiu cinco espécies de *Tacinga* que ocorrem no Brasil: *T. funalis, T. braunii, T. subcylindrica, T. palmadora e T. inamoena*. Exemplares das espécies em estudo foram coletados nos estados do Rio Grande do Norte, Bahia e Minas Gerais (ver Tabela 1 – Capítulo 1). As plantas foram mantidas em casa de vegetação, no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP). O material testemunho de cada espécie coletada foi depositado no Herbário ESA - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ.

Para o estudo da morfoanatomia e dos aspectos da biologia reprodutiva, foram observados em campo e coletados doze botões e doze flores das espécies *T. inamoena, T. palmadora e T. subcylindrica*. Já para as espécies *T. funalis* e *T. braunii* seis botões florais e seis flores foram observados e coletados de plantas cultivadas em casa de vegetação.

Para as análises moleculares, necessárias para o estudo da reconstrução da filogenia, cladódios de três indivíduos por espécie foram coletados para extração de DNA, de coleção viva mantida em casa de vegetação no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do CENA-USP. Amostras de DNA das espécies *T. funalis, T. braunii, T. subcylindrica, T. inamoena e T. werneri* foram coletadas para extração de DNA e posterior sequenciamento.

Para as demais espécies do gênero (*T. palmadora*, *T. saxatilis* e *T. lilae*) as sequências foram obtidas através de banco de dados moleculares online (*GenBank*, disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/).

5.2.2 Análises microscópicas

Os caracteres florais analisados compreenderam partes férteis e estéreis da flor: gineceu (estigma, estilete, ovário, óvulos), androceu (antera, filete, grãos de pólen), perianto e pericarpelo. Dentre os caracteres morfológicos analisados, destacam-se: posição das flores nos cladódios, número de flores por cladódio, comprimento da flor, coloração e formato do pericarpelo floral, comprimento x largura do pericarpelo, posição das aréolas (em podários ou não), presença de gloquídeos e tricomas, presença, formato e coloração das escamas basais do pericarpelo, forma do gloquídeo, tipos de tricomas, formato do perianto, coloração das tépalas, comprimento do tubo floral, formato e comprimento da câmara nectarífera, anteras inclusas ou exsertas, posição das anteras em relação ao estigma, coloração das anteras, número de carpelos e lóculos do gineceu, formato do ovário, comprimento do pistilo, número de lóbulos do estigma, largura do tecido entre a parede do ovário e a epiderme do pericarpelo, deiscência da antera, ornamentação do grão de pólen, entre outros. Dentre os caracteres anatômicos analisados estão: anatomia do pericarpelo floral, tépalas, nectário, ovário, anteras, estilete e estigma. Posteriormente, algumas dessas características morfológicas e anatômicas foram utilizadas para propor possíveis cenários evolutivos para *Tacinga* e reconstruir o estado ancestral das espécies.

Para o estudo da morfologia floral, três botões florais e três flores para cada espécie foram analisados com o auxílio do microscópio estereoscópio (Leica EZ4E). Imagens dos órgãos florais das espécies em estudo foram obtidas por câmera acoplada ao microscópio estereoscópico. Além disso, o material foi processado para observações por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para a obtenção das medidas, tais como comprimento da flor e comprimento do pericarpelo, foi utilizado um paquímetro (Universal Metálico, Mtx).

Para análises microscópicas, seis flores foram dissecadas e imediatamente imersas em fixador (paraformaldeído 4% ou FAA 50) (JOHANSEN, 1940), sendo as amostras mantidas em fixador, sob refrigeração por 24-48 h, seguido por desidratação em série etílica (de 35% a 70%) e armazenamento sob refrigeração (4-8°C), até serem processadas para microscopia.

Para análises por MEV, as amostras mantidas em etanol (70%) foram desidratadas até 100 % e em seguida secas ao ponto crítico (Leica EM CPD 300) através de CO_2 líquido. Posteriormente, as amostras foram montadas em suportes metálicos e em seguida metalizadas com ouro, durante 180 segundos (Leica EM ACE 600). As amostras foram observadas ao microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM-IT300 LV Tokyo - Japão) no NAP/MEPA-ESALQ/USP, operando a 20 kV, sendo as imagens digitalizadas.

Para o processamento da microscopia de luz (ML), amostras mantidas em etanol 70% foram desidratadas lentamente seguindo a série etílica de 80%, 90% e 100%, com duração de ao menos 1h cada etapa, sendo a última etapa (etanol 100%) repetida três vezes. Posteriormente, as amostras foram transferidas primeiramente para propanol (100%), durante 8h, e depois para o butanol (100%), durante 12h. A infiltração foi realizada lentamente em soluções de butanol: meio de infiltração (glicolmetacrilato, Historesin kit, Leica, Heidelberg, Germany) (3:1, 1:1, 1:3), permanecendo quinze dias em cada solução, sob refrigeração. O longo período em cada solução garantiu uma melhor infiltração do meio nos tecidos. Ao final, as amostras permaneceram em meio de infiltração puro, por até sete dias. A polimerização foi realizada em meio de infiltração e endurecedor, conforme recomendação do fabricante, em temperatura ambiente, por 48 h. Secções histológicas (5 µm) foram obtidas em micrótomo rotativo (Leica RM 2155, Nussloch, Germany). Para observações gerais as secções histológicas foram coradas em solução de fucsina ácida (1%) em água, seguida por coloração em azul de toluidina (0,05%) (FEDER; O'BRIEN, 1968). Algumas secções histológicas também foram coradas com Reativo de Schiff (PAS) e Azul de Toluidina, para detecção de amido, polissacarídeos e mucilagem (O'BRIEN; MACCULLY, 1981). Todas as secções coradas foram montadas utilizando entelan® (Merck, Darmstadt, Germany) e cobertas com lamínula. As amostras foram observadas sob microscópio de luz (Leica LMD 7000, Wetzlar - Germany) e as imagens digitais capturadas por câmera acoplada ao microscópio.

5.2.3 Análise de caracteres e estratégias reprodutivas

O estudo de caracteres e estratégias reprodutivas foi embasado principalmente na metodologia de Grosse-Veldmann et al. (2016), analisando-se os seguintes parâmetros: tamanho do display floral, quantidade média de óvulos por flor, estimativa de número de grãos de pólen por flor e razão grão de pólen/óvulo. Além disso, foi incluída a avaliação do período de floração das espécies. Flores de *T. subcylindrica*, *T. inamoena* e *T. palmadora* foram observadas em campo. Para *T. funalis* e *T. braunii*, os dados de floração foram obtidos através de informações de coleta obtidos em bancos de dados digitais de coleções de herbários (*splink*, disponível em http://www.splink.org.br/.).

Também foi realizada uma análise comparativa, considerando os valores absolutos, de comprimento do display floral, tubo floral, pistilo, câmara nectarífera e ovário das cinco espécies de *Tacinga*. Também com o objetivo de comparar as estruturas nas diferentes espécies, foi calculada a proporção da largura do ovário em relação à largura do pericarpelo floral, proporção entre o comprimento do tubo floral em relação ao comprimento da flor e proporção entre a largura do display floral em relação ao comprimento da flor.

O tamanho do display floral foi determinado a partir de cinco flores de cada espécie, selecionadas aleatoriamente, com medições das flores em vista lateral. Para contabilizar o número de óvulos por flor, foram avaliadas dez flores por espécie. Os ovários foram cortados e os óvulos cuidadosamente removidos e contados com o uso de um microscópio estereoscópico (Leica EZ4E).

Para determinação do número de grãos pólen foram utilizados dez botões florais para cada espécie, sendo as anteras de cada botão floral inseridas em um tubo. Uma mistura 1:1 de glicerol ($C_3H_5(OH)_3$): água destilada, com um volume total de 100–500 (usualmente 200 µl), foi adicionada às amostras, misturando-se por 2 a 3 min em um vórtex de laboratório (PHOENIX AT-56) para suspender uniformemente os grãos de pólen. Posteriormente, os tubos foram colocados em banho ultrassônico (BRASONIC B-220) por 15 min, para garantir que todos os grãos de pólen fossem removidos das anteras. O número de grãos de pólen por antera foi contado usando uma câmera de *Newbauer* (GRID OPTIK OG-200), que consta de uma lâmina microscópica com uma câmara de profundidade definida. O número de grãos por área foi contado para uma alíquota conhecida e, em seguida, extrapolado para o volume total da amostra. Cinco quadrados foram escolhidos aleatoriamente e todos os grãos de pólen nestes foram contados e o número total de grãos de pólen por botão foi então estimado. Para calcular a razão entre grãos de pólen e óvulos (relação P/O) dividiu-se o número de grãos de pólen por flor e o número de óvulos por flor (GROSSE-VELDMANN et al., 2016).

5.2.4 Análises filogenéticas e de reconstrução dos estados de caráter ancestrais

A metodologia para a análise filogenética do gênero *Tacinga* seguiu a metodologia de Majure et al. (2012). Em linhas gerais, essa análise subdivide-se em três principais processos: obtenção de sequências de DNA (para espécies ainda não sequenciadas), edição de sequências e alinhamento e estimativa da filogenia.A reconstrução da filogenia realizada incluiu oito espécies de *Tacinga* (*T. funalis, T. braunii, T. subcylindrica, T. saxatilis, T. inamoena, T. werneri, T. lilae, e T. palmadora*) e uma espécie de *Brasiliopuntia*, *Brasiliopuntia brasiliensis* (Willd.) A. Berger. Para a extração de DNA das espécies *T. funalis, T. braunii, T. subcylindrica, T. inamoena e T. werneri* foi utilizado Kit NucleoSpin Plant II (Macherey Nagel,

Duren, Alemanha) de acordo com o protocolo de fabricação. Para amplificação, foram usados os espaçadores intergênicos plastidiais (*atp*B-*rbc*L*, ndh*F-*rpl32, psb*J-*pet*A), um gene plastidial (*ycf1*), um gene nuclear (*ppc*) e o espaçador transcrito interno ribossômico nuclear (ITS). As misturas para reações de amplificação de 25 µL foram as seguintes: 1 µL de DNA modelo, 15,8 µL de H_2O, 5 µL de Promega Colorless GoTaq® Flexi Buffer (10 µl, 1x), 0,5 µL de 50 mmol/L MgCl2, 0,5 µL de 10 mmol/L de DNTPs, 1 µL de cada primer de 10 mM, e 0,2 µL de Promega GoTaq VR Flexi DNA Polymerase 5u/ml (0.25 ml, 1.25 u).

As condições de amplificação de ITS e *ppc* foram: para ITS, a desnaturação inicial a 94°C por 2 min; seguido de 30 ciclos de 94°C por 1 min, 54°C por 1 min e 72°C por 3 min; com uma etapa de extensão final a 72°C por 7 min. Para ppc, as condições foram 95°C por 5 min; seguido de 44 ciclos de 94°C por 1 min, 55°C por 1 min e 72°C por 2,5 min; com extensão final de 72°C por 10 min. Para *ycf1*: 94°C por 3 min; seguido de 8 ciclos de 94°C por 0,5 min, com temperatura de anelamento inicial de 63° reduzindo 1° por ciclo por 1 min, e 72°C por 3 min; seguidos de 35 ciclos de 94°C por 0,5 min, 50°C por 1 min e 72°C por 3 min; com uma etapa de extensão final a 72°C por 3 min. As condições de amplificação para os espaçadores intergênicos plastidiais foram: desnaturação inicial a 80°C por 5 min; seguido de 35 ciclos de 95°C por 1 min, 55°C por 1 min e 65°C por 0,5 min; com uma etapa de extensão final a 65°C por 4 min. A purificação de produtos de PCR e o sequenciamento foram realizadas pela Macrogen Inc (Seul, Coréia do Sul). Para as análises finais de reconstrução da filogenia utilizou-se apenas as regiões *atp*B-*rbc*L, *ndh*F-*rpl*32, *psb*J-*pet*A, *ycf*1 e *ppc*.

As sequências brutas foram editadas e posteriormente alinhadas usando o software Geneious Prime 2021 (https://www.geneious.com). O alinhamento foi manualmente checado com o auxílio dos Software Mesquite 3.6 (MADDISON; MADDISON, 2018). Por último, a matriz de dados alinhados foi avaliada por análise Bayesiana implementada no Mr. Bayes, versão 3.2.6 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003). Os modelos evolutivos foram selecionados com o auxílio do programa Jmodeltest (POSADA, 2008) para duas partições de dados: 1) com os dados das regiões de DNA do cloroplasto combinadas, para a qual o modelo HKI+I foi selecionado e; 2) apenas com os dados obtidos para o gene nuclear PPC, para a qual o modelo F81 foi selecionado.

Por fim, para a análise da reconstrução do estado ancestral dessas espécies, quatro parâmetros florais foram analisados para cada espécie: tamanho do display floral, quantidade média de óvulos por flor, número estimado de grãos de pólen por flor e razão pólen/óvulo, juntamente com características morfológicas e anatômicas, utilizando o programa Mesquite 3.6, utilizando-se o princípio da parcimônia (MADDISON; MADDISON, 2018). As características morfológicas usadas na reconstrução do estado ancestral, para cada espécie,

compreendem: a proporção das larguras do ovário e pericarpelo floral, proporção entre o comprimento do tubo floral em relação ao comprimento da flor, proporção entre a largura do display floral em relação ao comprimento da flor. Com relação às características anatômicas, foram utilizadas a localização dos estômatos em relação às demais células epidérmicas do pericarpelo floral, presença ou ausência de compostos fenólicos nas papilas do estigma e tipo da superfície adaxial da tépala (ondulada ou linear).

5.3 Resultados

5.3.1 Morfologia floral

As tacingas apresentam flores vistosas, desenvolvendo-se na região apical dos cladódios distais em *T. subcylindrica* (1-3 flores) e *T. inamoena* (1-5 flores), no ápice e próximo ao ápice dos cladódios subdistais em *T. funalis (1 flor)* e *T. braunii (1 flor)*, e no ápice, próximo ao ápice e nas margens dos cladódios distais em *T. palmadora* (1-5 ou mais flores*)* (Figura 1, A-F). As flores são sésseis, cíclicas, assimétricas, homoclamídeas, hermafroditas e epíginas (Figura 1, G-P). Estas podem variar consideravelmente em comprimento, podendo ter entre 15 e 90 mm, bem como apresentar diferentes tamanhos de display floral (Tabela 1).

As flores possuem pericarpelo verde, com duas exceções, podendo ser verde claro em *T. palmadora*, ou variando entre verde ou castanho/roxo em *T. funalis* (Figura 1, A-B). O formato do pericarpelo é cilíndrico em *T. braunii*, estreito turbinado em *T. funalis*, turbinado em *T. inamoena* e *T. palmadora*, e subcilíndrico em *T. subcylindrica* (Figura 1, A-F; Figura 2, A-E), apresentando comprimento e largura distintos entre as espécies (Tabela 1). A epiderme do pericarpelo floral é repleta de estômatos (Figura 2, F-G). As aréolas presentes no pericarpelo possuem gloquídeos e tricomas abundantes. Escamas basais levemente suculentas, persistentes ou decíduas, recobrem as aréolas (Figura 2, H). As escamas basais apresentam diferentes formatos, sendo estreito triangular em *T. funalis*, ovado acuminado em *T. braunii e T. palmadora*, estreito triangular a estreito ovado atenuado em *T. subcylindrica* e *T. inamoena*. As escamas basais também diferem em relação à coloração, sendo castanho claras em *T. inamoena*, verde em *T. funalis*, verde escuras em *T. braunii*, róseas em *T. palmadora*, verde amareladas na porção mediana e arroxeadas na porção inferior e no ápice em *T. subcylindrica* (Figura 2, A-E). Os gloquideos, observados em *T. palmadora*, *T. subcylindrica* e *T. inamoena,* possuem formato acicular com escamas retrorsas (Figura 2, I). Em *T. palmadora*, aréolas em podários elevados, apresentam gloquídeos cobertos por tricomas (Figura 2, D). Nas demais espécies em estudo, são observados tricomas circundando a base dos gloquídeos (Figura 2, C). Particularmente, em *T. braunii* os tricomas são longos expandindo-se para além da aréola (Figura 2, B). As aréolas apresentam ainda

duas cerdas laterais em *T. subcylindrica* e *T. inamoena*, de coloração dourada a castanha (Figura 2, C, E).

O perianto floral é multisseriado, do tipo tubular em *T. palmadora* e infundibuliforme em *T. inamoena*, *T. subcylindrica*, *T. funalis* e *T. braunii* (Figura 1, G-K, M-P; Figura 2, J-N). O comprimento do tubo floral difere entre as espécies (Tabela 1). As tépalas apresentam cores distintas, sendo amarelo-esverdeadas, às vezes tingidas de marrom, em T*. funalis*, verde pálidas em *T. braunii*, laranja claro brilhoso, às vezes laranja escuro, em *T. subcylindrica*, vermelha a laranja com margens amareladas em *T. palmadora,* e vermelho-alaranjadas em *T. inamoena* (Figura 1, G-K; Figura 2, J-N). As tépalas internas são um pouco mais largas que as externas, patentes, com ápice enrolado para fora em *T. funalis* e *T. braunii*, patente com ápice recurvado em *T. inamoena* e *T. subcylindrica*, e ereto em *T. palmadora* (Figura 2, J-N). A base das tépalas é fusionada à base dos estames formando o tubo floral. Na base desse tubo está localizada a região nectarífera (Figura 1, M-P).

A região nectarífera compreende uma câmara, situada logo abaixo da região de inserção dos filetes, circundando a base do estilete (Figura 1, M-P). A câmara apresenta formato de “U” em *T. inamoena*, *T. subcylindrica* e *T. palmadora*. Devido ao afunilamento da base do tubo floral em *T. funalis* e *T. braunii* e consequentemente maior proximidade da região de inserção dos filetes, a câmara nectarífera ganha um aspecto relativamente fechado nessas duas espécies, assemelhando-se a uma forma orbicular em *T. braunii* e cilíndrica em *T. funalis* (Figura 3, A-E). Na base e nas paredes da câmara nectarífera estão distribuídos os poros secretores, semelhantes a estômatos, observados em *T. palmadora*, *T. subcylindrica e T. funalis.* (Figura 3, K-L).

O androceu é multiestaminado, circundando o pistilo da flor, dialistêmone, inclusos em *T. palmadora*, inclusos ou exsertos em *T. funalis*, exsertos em *T. braunii* e *T. subcylindrica*, parcialmente exsertos em *T. inamoena* (estames externos exsertos e internos inclusos) (Figura 1, G-K, M-P). As anteras são livres, basifixas, com deiscência longitudinal e diteca (Figura 3, N-O). As anteras podem ser amarelas, como em *T. funalis*, ou creme/bege, como nas demais espécies. As anteras estão posicionadas abaixo do estigma em *T. funalis*, *T. braunii* e *T. palmadora*, e na mesma altura ou levemente acima do estigma em *T. inamoena* e *T. subcylindrica* (Figura 1, G-K). Os filetes são simples e possuem coloração distinta, branco em *T. braunii*, amarelo esverdeado em *T. funalis*, vermelho alaranjado em *T. inamoena*, laranja em *T. subcylindrica*, e laranja pálido em *T. palmadora* (Figura 1, A, H-I, K, M-P). O grão de pólen apresenta contorno circular, exceto em *T. palmadora* que é poligonal. *Tacinga funalis*, *T. subcylindrica* e *T. inamoena* apresentam grão de pólen pantoporado e *T. palmadora* possui grão de pólen pantocolpado. Não foi

possível observar, por MEV, o grão de pólen de *T. braunii*. A ornamentação do grão de pólen é tectada perfurada em todas as espécies analisadas. Em *T. funalis,* as perfurações do tetum são extremamente pequenas (Figura 4).

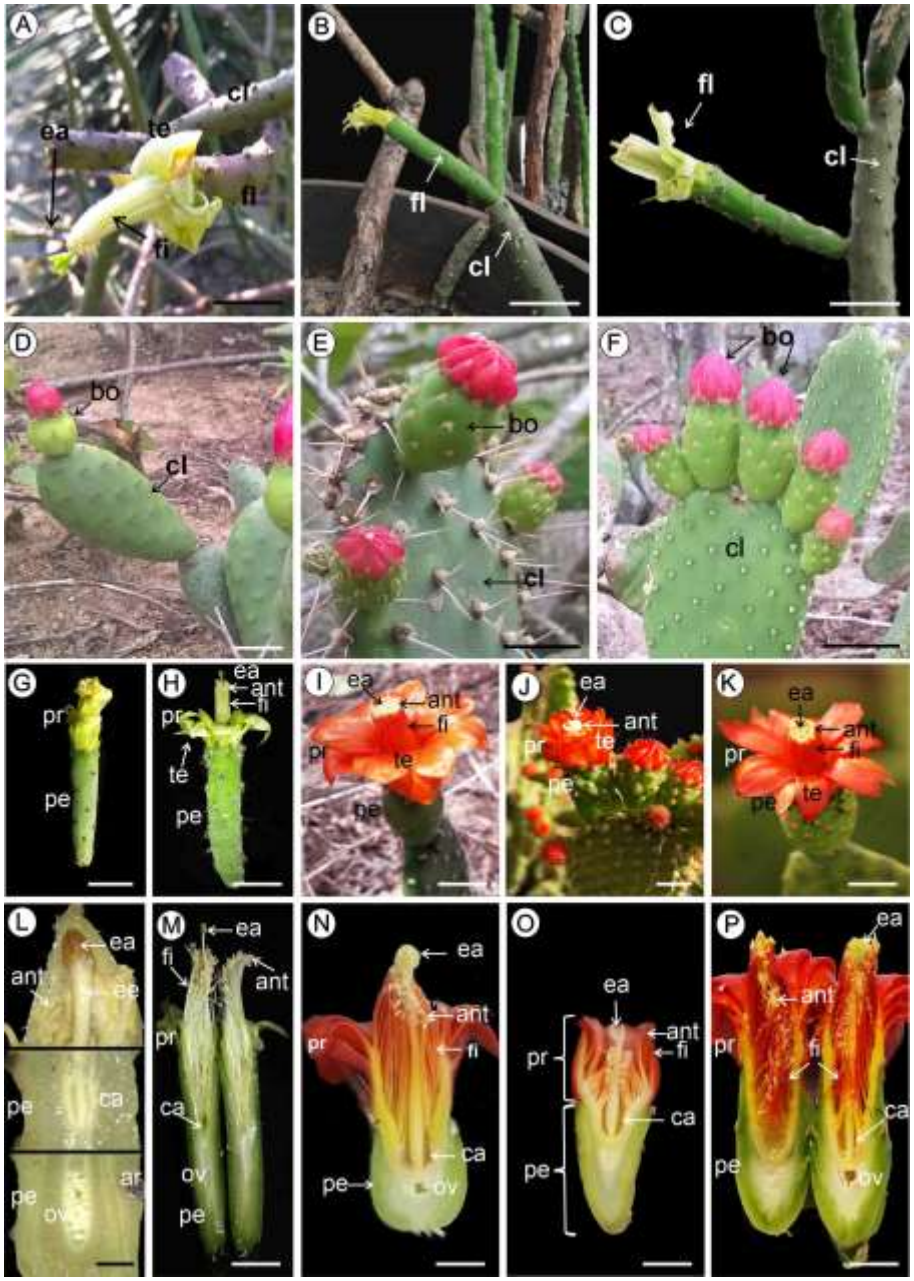


Figura 1 – Posição das flores e morfologia floral em 5 espécies de *Tacinga*. A. *T. funalis*, flor solitária surgindo próximo ao ápice dos cladódios subdistais, pericarpelo arroxeado, estames excertos. B. *T. funalis,* flor solitária surgindo no ápice do cladódio subdistal, pericarpelo verde, estames inclusos. C. *T. braunii*, flor solitária surgindo próximo ao ápice dos cladódios subdistais. D. *T. subcylindrica*, botão floral solitário surgindo no ápice do cladódio distal. E. *T. palmadora*, botões florais surgindo próximo ao ápice e nas margens do cladódio distal. F. *T. inamoena*, cinco botões florais surgindo do ápice do cladódio distal. G-K. Vista lateral da flor em antese de *T. funalis* (G), *T. braunii* (H)*, T. subcylindrica* (I), *T. palmadora* (J)*, T. inamoena* (K). L-P. Corte longitudinal da flor em antese mostrando a localização do ovário, fusão das tépalas e região da câmara nectarífera em *T. funalis* (L)*, T. braunii* (M)*, T. subcylindrica* (N)*, T. palmadora* (O)*, T. inamoena* (P). Legenda: ant=antera, ar = aréola, bo = botão floral, cl = cladódio, ea = estigma, fi = filete, fl = flor, ca = câmara nectarífera, ov = ovário, pe =

pericarpelo, pr = perianto, te = tépala. Barras: A-E, G, K = 2 cm; F, I-J, N-P = 1 cm; L = 2 mm; H = 3 cm; M = 4 cm. Figura K, P = imagem fornecida por Amanda Cristina Dantas de Souza & Leonardo de França Almeida.

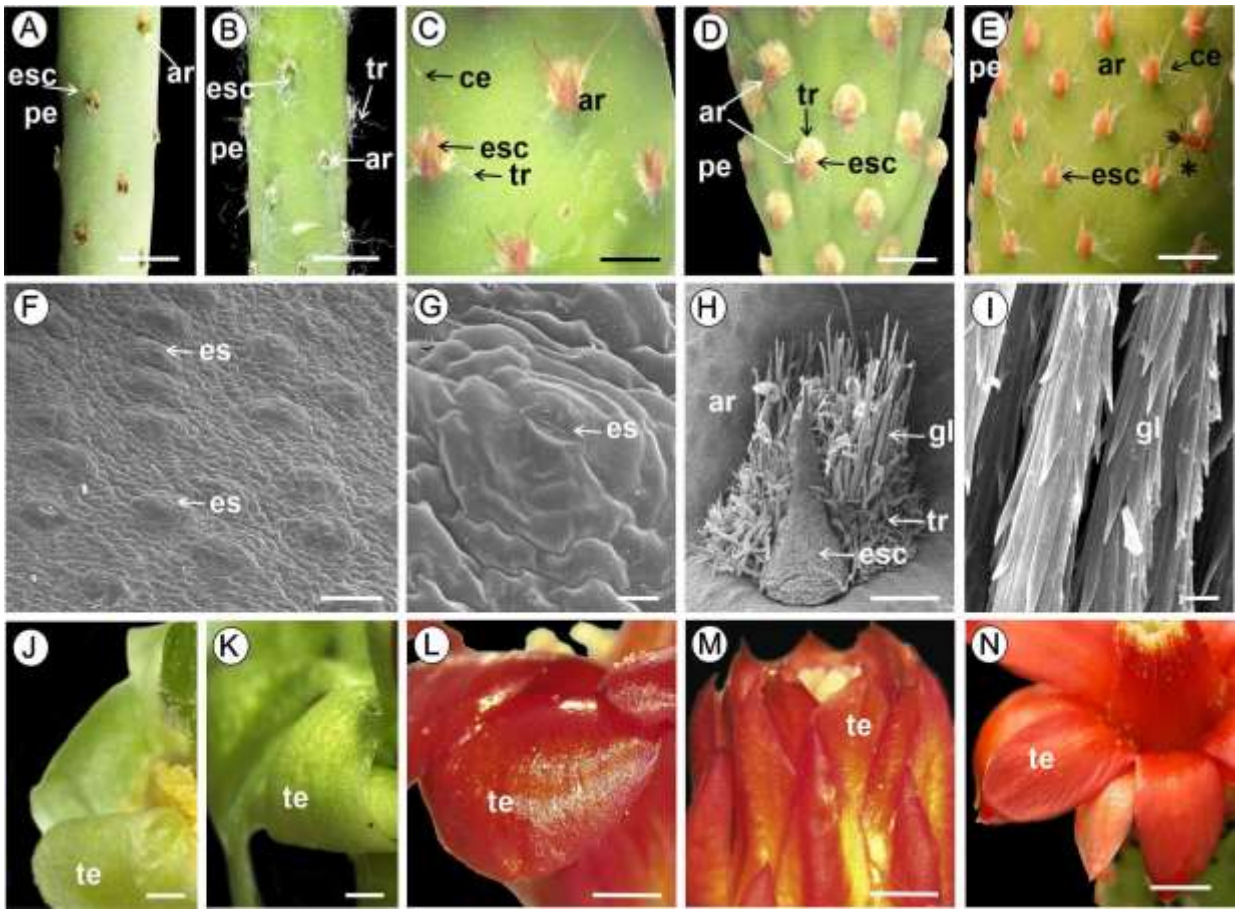


Figura 2 – Morfologia floral em 5 espécies de *Tacinga*. A-E. Detalhe do pericarpelo floral, mostrando aréolas, escamas basais e indumentos da aréola em *T. funalis (A), T. braunii (B), T. subcylindrica (C), T. palmadora (D), T. inamoena (E)*. F-G. Epiderme do pericarpelo floral repleta de estômatos, situados acima das demais células epidérmicas em *T. palmadora* (F), estômato em detalhe (G). H. Aréola coberta por uma escama basal, contendo gloquídeos e tricomas abundantes. I. Detalhe do gloquídeo, do tipo acicular com escamas retrorsas. J-N. Detalhe da tépala, patente, com ápice enrolado para fora em *T. funalis* (J) e *T. braunii (K),* patente com ápice recurvado em *T. subcylindrica*(L) *e T. inamoena(N)*, ereto em *T. palmadora*(M). A-E, J-N: microscópio estereoscópio, F-I: microscopia eletrônica de varredura. Legenda: ar = aréola, ce = cerdas, es = estômato, esc = escama basal, gl = gloquídeo, pe = pericarpelo, te = tépala, tr = tricoma. Barras =. A = 3cm; B-E, N = 2 cm; L-M = 2 mm; J-K = 1 mm; H = 500 µm; F= 200 µm; G, I = 20 µm. Figura N = imagem fornecida por Amanda Cristina Dantas de Souza & Leonardo de França Almeida.

O gineceu é pluricarpelar, unilocular, formado por um ovário ínfero envolto pelo pericarpelo. O ovário apresenta diferentes formatos, sendo estreitamente oblanceolado em *T. funalis* e *T. braunii*, largo-obovado em *T. palmadora* e *T. inamoena*, e estreito-elíptico transversal em *T. subcylindrica* (Figura 3, F-J). Os óvulos são circinótropos (Figura 3, M), com placentação parietal. Todas as espécies apresentam estilete com inserção terminal. Quanto

à forma, o estilete é cilíndrico e alongado, com porção inferior suavemente mais larga em *T. palmadora*. O estigma é indiviso, lobado (Figura 3, P-T), com 6-8 lóbulos em *T. inamoena*, 6 em *T. palmadora*, 5 em *T. subcylindrica*, 4 em *T. funalis* e *T. braunii.*

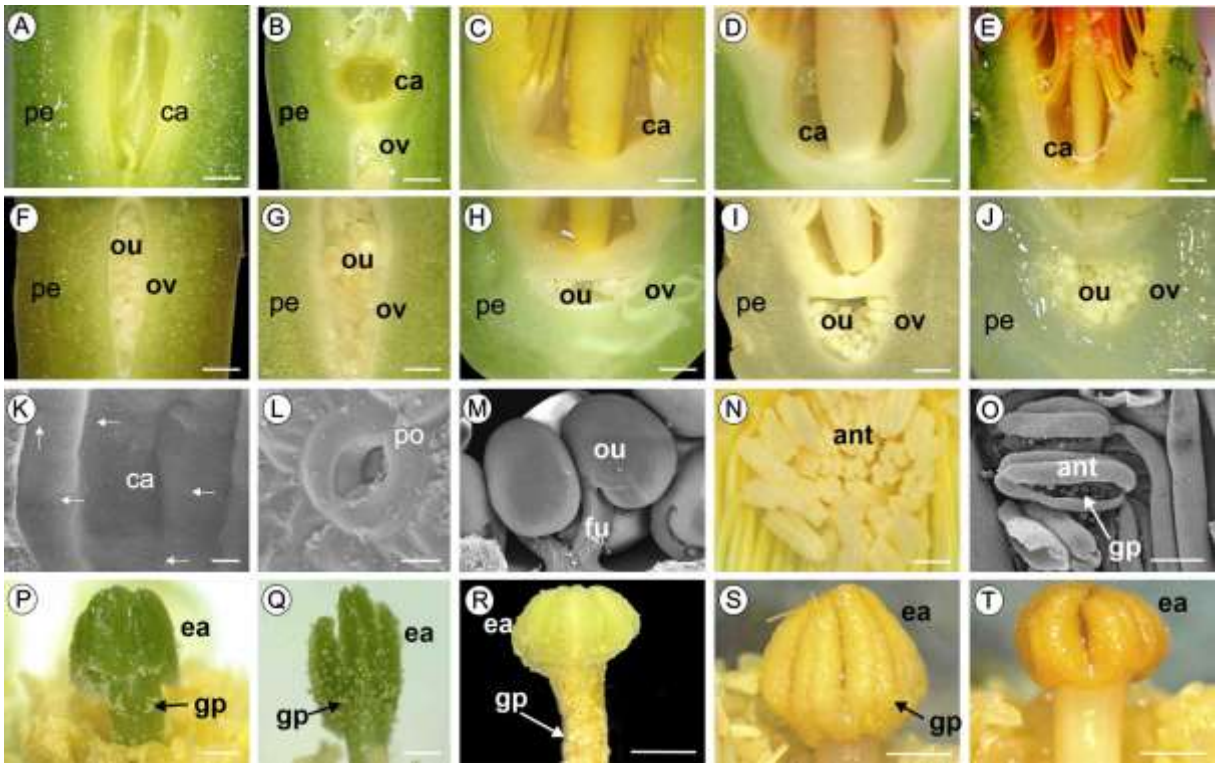


Figura 3 – Detalhes da morfologia floral em 5 espécies de *Tacinga*. A-E: Nectário floral em formato oblongo em *T. funalis* (A), aspecto circular em *T. braunii* (B), formato em "U" em *T. subcylindrica* (C), *T. palmadora* (D) e *T. inamoena* (E). F-J: Ovário, estreito-oblanceolado em *T. funalis* (F) e *T. braunii* (G), estreito-elíptico transversal em *T. subcylindrica* (H), largo-obovado em *T. palmadora* (I) e *T. inamoena* (J). K-L: câmara nectarífera de *T. palmadora* (K) e o poro secretor, que se assemelham a um estômato (L). Óvulo circinótropo, em *T. subcylindrica* (M). Antera diteca (N), com deiscência rimosa ou longitudinal (O). P-T: Estigma indiviso, lobado, 4 lóbulos em *T. funalis* (P) e *T. braunii*. (Q), 5 em *T. subcylindrica* (R), 6 em *T. palmadora* (S), 6-8 em *T. inamoena* (T). A-J, N, P-T: microscópio estereoscópio, K-M, O: microscopia eletrônica de varredura. Legenda: ant = antera, ca = câmara nectarífera, ea=estigma, gp = grão de pólen, po = poro secretor, ou = óvulo, ov = ovário, pe = pericarpelo. Barras = A-C, F, H-J, R= 2 mm; D-E, G, N, P-Q, S-T= 1 mm; O = 500 µm; K, M = 200 µm; L = 10 µm

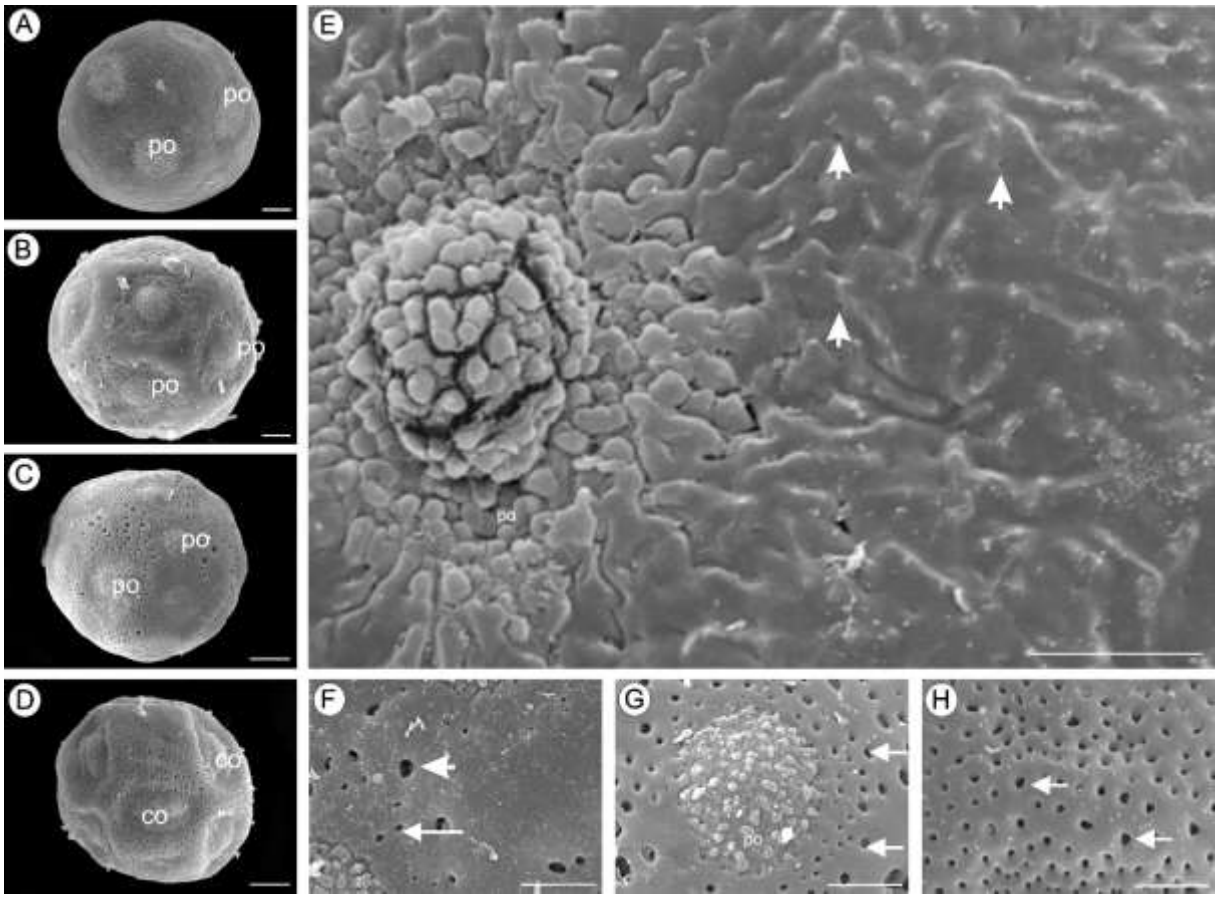


Figura 4 - Morfologia do grão de pólen de *Tacinga*. Grão de pólen observado em microscopia eletrônica de varredura. Grão de pólen com contorno circular (A-C), exceto em *T. palmadora* que é poligonal(D). Grão de pólen pantoporado em *T. funalis* (A), *T. subcylindrica*(B) e *T. inamoena* (C). Grão de pólen pantocolpado em *T. palmadora* (D). Ornamentação tectada perfurada, *T. funalis* (E), *T. subcylindrica* (F), *T. inamoena* (G), *T. palmadora* (H). Legenda: co = colpo, po = poro. Setas apontando para perfurações do tetum. Barras = C-D = 20 µm; A-B = 10 µm; E = 5 µm; F-H = 2 µm.

Tabela 1 – Tabela resumida de caracteres morfológicos e reprodutivos em flores de cinco espécies de *Tacinga*

Caracteres	***T. funalis***	***T. braunii***	***T. subcylindrica***	***T. palmadora***	***T. inamoena***
Posição de flores nos cladódios	subdistais	subdistais	distais	distais	distais
Flores por cladódio	1	1	1-3	>5	1-5
Comprimento da flor (mm)	69±7	80±9	35±4	26±8	35±9
Display floral (mm)	12±3	18±2	25±3	7±2	22±3
Cor do pericarpelo	verde (às vezes arroxeado/acastanhado)	verde	verde	verde claro	verde
Formato do pericarpelo	estreito turbinado	cilíndrico	subcilindrico	turbinado	turbinado
Comprimento x largura do pericarpelo (mm)	30±5 x 12±4	50±10 x 12±2	15±5 x 25±5	12±8 x 12±8	20±3 x 25±7
Aréolas elevadas em podários	ausente	ausente	ausente	presente	ausente
Gloquídeos e tricomas	sim	sim	sim	sim	sim
Escama basal	sim	sim	sim	sim	sim
Gloquídeos	acicular com escamas retrorsas	-	acicular com escamas retrorsas	acicular com escamas retrorsas	acicular com escamas retrorsas
Tricomas longos	ausente	presente	ausente	ausente	ausente
Formato da escama basal	estreito triangular	ovado acuminado	estreito triangular a estreito ovado atenuado	ovado acuminado	estreito triangular a estreito ovado atenuado
Formato do perianto	infundibuliforme	infundibuliforme	infundibuliforme	tubular	infundibuliforme
Comprimento do tubo (mm)	21±1	23±1	24±2	15±2	17±1

Caracteres	*T. funalis*	*T. braunii*	*T. subcylindrica*	*T. palmadora*	*T. inamoena*
Anteras	inclusas ou exsertas	exsertas	exsertas	inclusas	parcialmente exsertas
Cor da tépala	amarelo esverdeado	verde pálido	laranja	vermelho a laranja com margens amareladas	vermelho alaranjado
Comprimento da câmara nectarífera (mm)	9±0.2	3±1	2±1	2±1	3±1
Posição do estigma em relação as anteras	acima	acima	mesma altura	acima	mesma altura ou abaixo
Comprimento do pistilo (mm)	34±1	41±1	23±1	10±2	25±2
Comprimento do ovário (mm)	9±0.2	9±0.2	1±1	1±1	2±1
Largura do tecido entre parede do ovário e a epiderme do percicarpelo (mm)	4±0.3	4±0.2	3±1	1±0.5	3±1
Média de óvulos/ovário	33	20	35	37	80
Estimativa grãos de pólen por botão floral	80.000	-	40.000	1.405.000	165.000
Razão pólen-ovulo	2.424	-	1.143	37.973	2.063
Sistema reprodutivo	xenogamia facultativa	-	xenogamia facultativa	xenogamia obrigatória	xenogamia facultativa

Observação: (-) ausência de dados

5.3.2 Características e estratégias reprodutivas

As flores apresentam antese diurna. Todas as espécies foram encontradas em antese no período da manhã, por volta das 10h. Foi observada a antese floral de *T. subcylindrica* e *T. inamoena* logo nas primeiras horas da manhã, se encerrando no período da tarde, por volta das 13h.

As espécies *T. subcylindrica*, *T. palmadora* e *T. inamoena* apresentam sobreposição do período de floração (Figura 5). Particularmente, *T. subcylindrica*, apresenta três ou mais períodos de floração no ano e foram observadas abelhas, formigas e gafanhotos visitando suas flores.

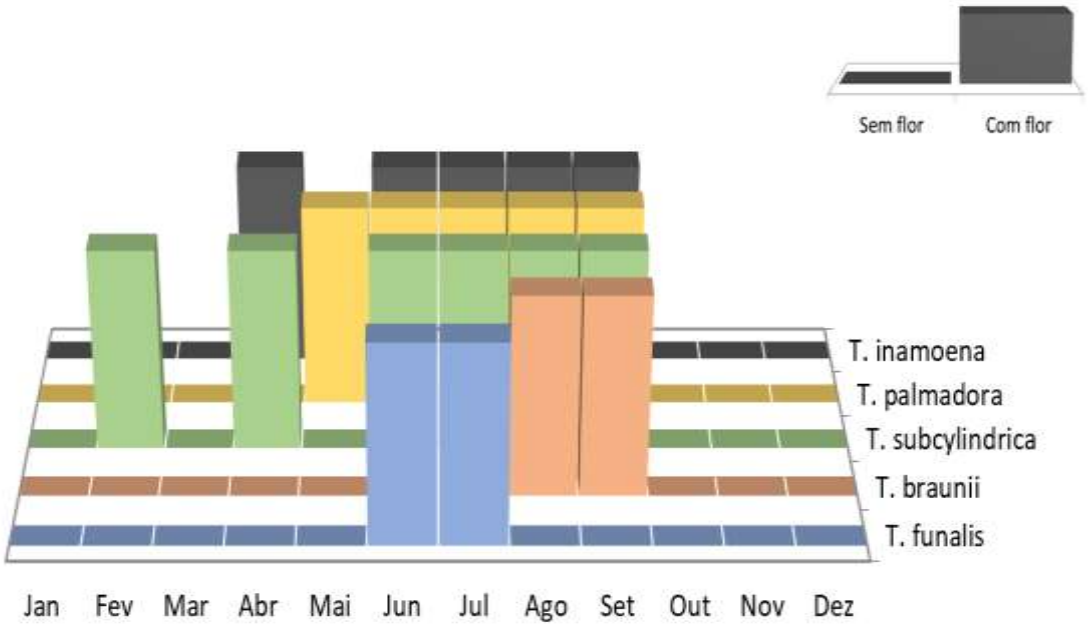


Figura 5 - Período de floração de espécies de *Tacinga*. Flores em antese. Fonte: registro em campo e registros em bancos de dados digitais de coleções de herbários (*splink*, disponível em http://www.splink.org.br/.)

A comparação das medidas em valores absolutos de comprimento do display floral, tubo floral, pistilo, câmara nectarífera e ovário revela que as espécies de *Tacinga* possuem diferenças de comprimento nas referidas estruturas.

Tacinga subcylindrica é a espécie que apresenta maior display floral, seguida de *T. inamoena, T. braunii, T. funalis* e *T. palmadora.* O mesmo padrão de comprimento é observado para comprimento do tubo floral, onde *T. subcylindrica* apresenta maior comprimento do tubo e *T. palmadora* o menor. Com relação ao comprimento do pistilo, *T.*

braunii possui o maior pistilo, seguido de *T. funalis*, *T. inamoena*, *T. subcylindrica* e *T. palmadora.* A maior câmara nectarífera, em termos de comprimento, foi observada em *T. funalis*, seguida de *T. braunii*, *T. inamoena*, *T. subcylindrica* e *T. palmadora*. O mesmo padrão de comprimento é observado também para o ovário das tacingas, sendo *T. funalis* a flor com maior comprimento do ovário.

A quantidade de óvulos varia entre espécies, sendo *T. inamoena* a espécie que apresenta maior número de óvulos, seguida de *T. palmadora*, *T. subcylindrica*, *T. funalis* e *T. braunii.* O número estimado de grãos de pólen é o maior em *T. palmadora*, seguido de *T. inamoena, T. funalis*, *T. subcylindrica*. A razão pólen-óvulo é maior em *T. palmadora*, seguida de *T. funalis*, *T. inamoena*, *T. subcylindrica* (Figura 6). Não foi possível estimar para *T. braunii* o número de grãos de pólen por flor e consequentemente razão pólen-óvulo, devido à escassez de material vegetal. Evidências de sistema reprodutivo do tipo xenogamia facultativa foram encontradas para *T. funalis, T. subcylindrica* e *T. inamoena*. Em *T. palmadora* as evidências são de xenogamia obrigatória (Tabela 1).

A análise das proporções revela que as flores de *Tacinga* apresentam diferentes proporções entre o comprimento do tubo floral em relação ao comprimento da flor, entre a largura do ovário e a largura do pericarpelo floral e entre o comprimento do display floral em relação ao comprimento da flor. *Tacinga subcylindrica* se destaca entre as espécies em relação à proporção entre o comprimento do tubo floral e do display floral. *Tacinga funalis* apresenta a maior largura, em termos de proporção, entre as larguras do ovário e pericarpelo (Figura 7).

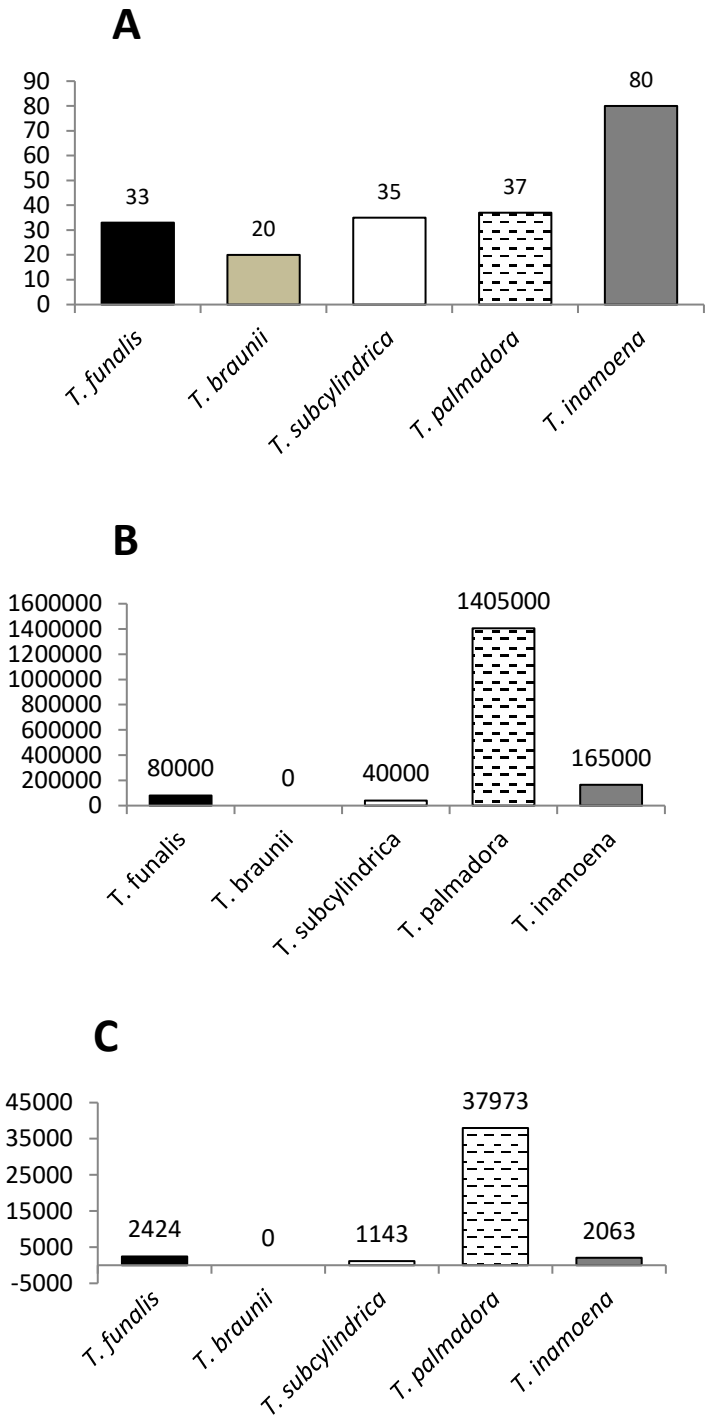


Figura 6 - Contagem e estimativas em biologia reprodutiva em espécies de *Tacinga*. A. Quantidade média de óvulos por flor. B. Estimativa da quantidade de grão de pólen por botão floral. C. Razão entre a quantidade estimada de grão de pólen e a quantidade média de óvulos por botão floral.

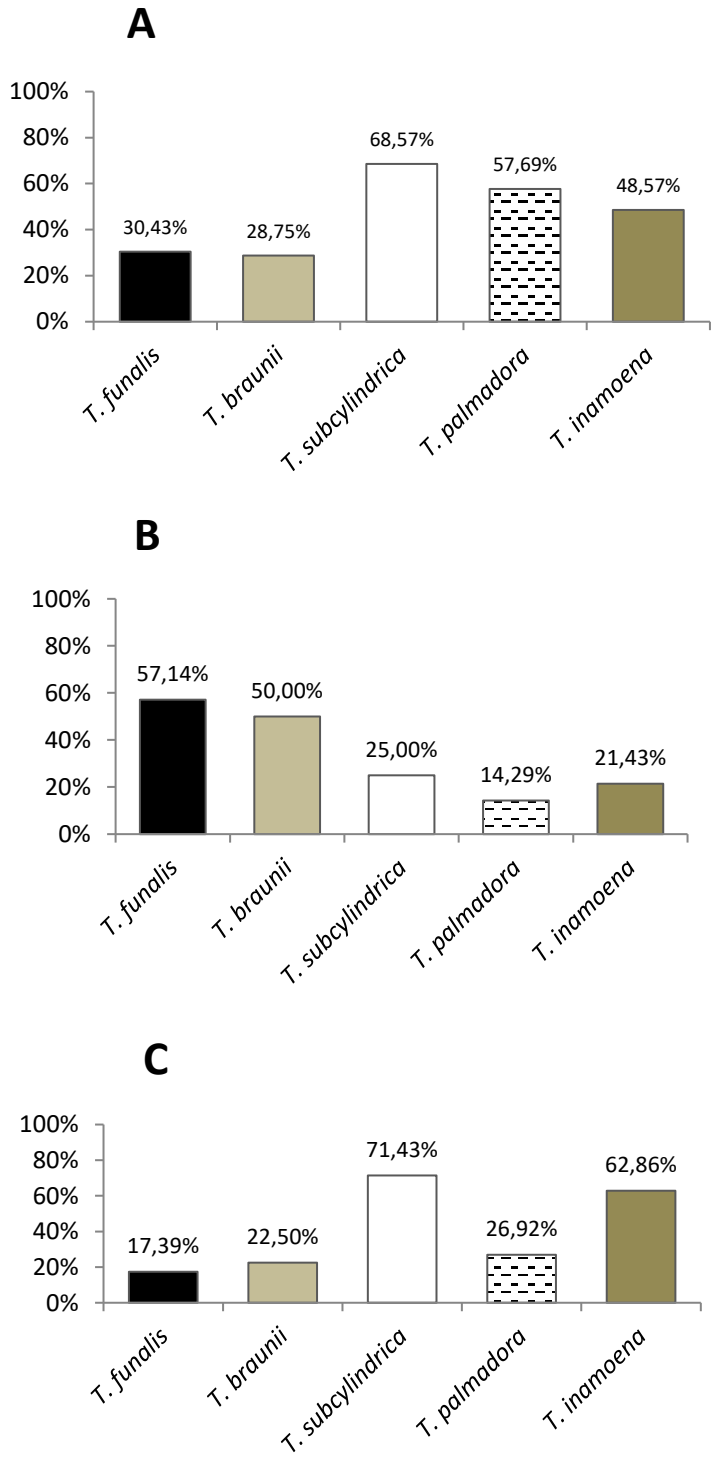


Figura 7 - Análise comparativa das características e estratégias reprodutivas em espécies de *Tacinga*. A. Proporção entre o comprimento do tubo floral em relação ao comprimento da flor. B. Proporção da largura do ovário e a largura do pericarpelo floral. C. Proporção entre o comprimento do display floral em relação ao comprimento da flor.

5.3.3 Anatomia floral

Pericarpelo - Em secção transversal, o pericarpelo apresenta contorno circular em *T. funalis* e *T. braunii*, contorno levemente ondulado em *T. subcylindrica* e *T. inamoena*, contorno fortemente ondulado em *T. palmadora*. O pericarpelo é constituído de epiderme, parênquima clorofiliano, parênquima aquífero, feixes vasculares e medula (Figura 8, A).

A epiderme do pericarpelo é uniestratificada (Figura 8, B). Em *T. funalis*, observam-se células com lúmen relativamente maior em relação as demais células epidérmicas (Figura 8, C). A cutícula recobre a epiderme, sendo moderadamente espessa (Figura 8, D). Os estômatos estão localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas (Figura 8, E), em secção transversal, exceto em *T. palmadora*, que apresenta os estômatos acima das demais células epidérmicas (Figura 8, F). Amplas câmaras subestomáticas estão presentes em todas as espécies e podem ser muito profundas, expandindo-se até as células do parênquima clorofiliano (Figura 8, E-F).

Na região do córtex, logo abaixo da epiderme, observam-se 4-5 camadas de células colenquimáticas, que são interrompidas pelas câmaras subestomáticas (Figura 8, F-G). Abaixo do colênquima está presente o parênquima clorofiliano, composto por células grandes, quadradas a retangulares, alongadas e com paredes finas, contendo cloroplastos (Figura 8, H-I). Adjacente ao parênquima clorofiliano está o parênquima aquífero, composto por células arredondadas, maiores que aquelas clorofilianas, com paredes delgadas (Figura 8, A, J, L). Idioblastos contendo drusas ocorrem no colênquima e nos parênquimas clorofiliano e aquífero, porém em maior intensidade entre as células do colênquima (Figura 8, D, H). Estruturas secretoras de mucilagem ocorrem entre as células parenquimáticas do tecido fundamental (Figura 8, K-O). O cilindro vascular é composto por feixes vasculares colaterais, formados por floema e xilema primários (Figura 8 - A, P).

Tépalas – As tépalas, em secção transversal, são alargadas no centro e estreitas nas margens. A superfície adaxial é ondulada em *T. funalis* e *T. braunii* (Figura 9, A-B), e linear em *T. subcylindrica*, *T. palmadora* e *T. inamoena* (Figura 9, C). A epiderme é uniestratificada, contendo células quadradas a retangulares (Figura 9, D), exceto em *T. funalis* na qual as células da epiderme abaxial são arredondadas (Figura 9, E). As células epidérmicas apresentam espessamento da parede periclinal externa, principalmente na epiderme adaxial (Figura 9, D-E, I). Os estômatos ocorrem apenas na superfície abaxial (Figura 9, E-F). O mesofilo é homogêneo, com células arredondadas de paredes finas, algumas com cloroplastos, apresentando numerosas estruturas secretoras de mucilagem (Figura 9, E-H). Os feixes são colaterais, com xilema voltado para a face adaxial da tépala (Figura 9, I).

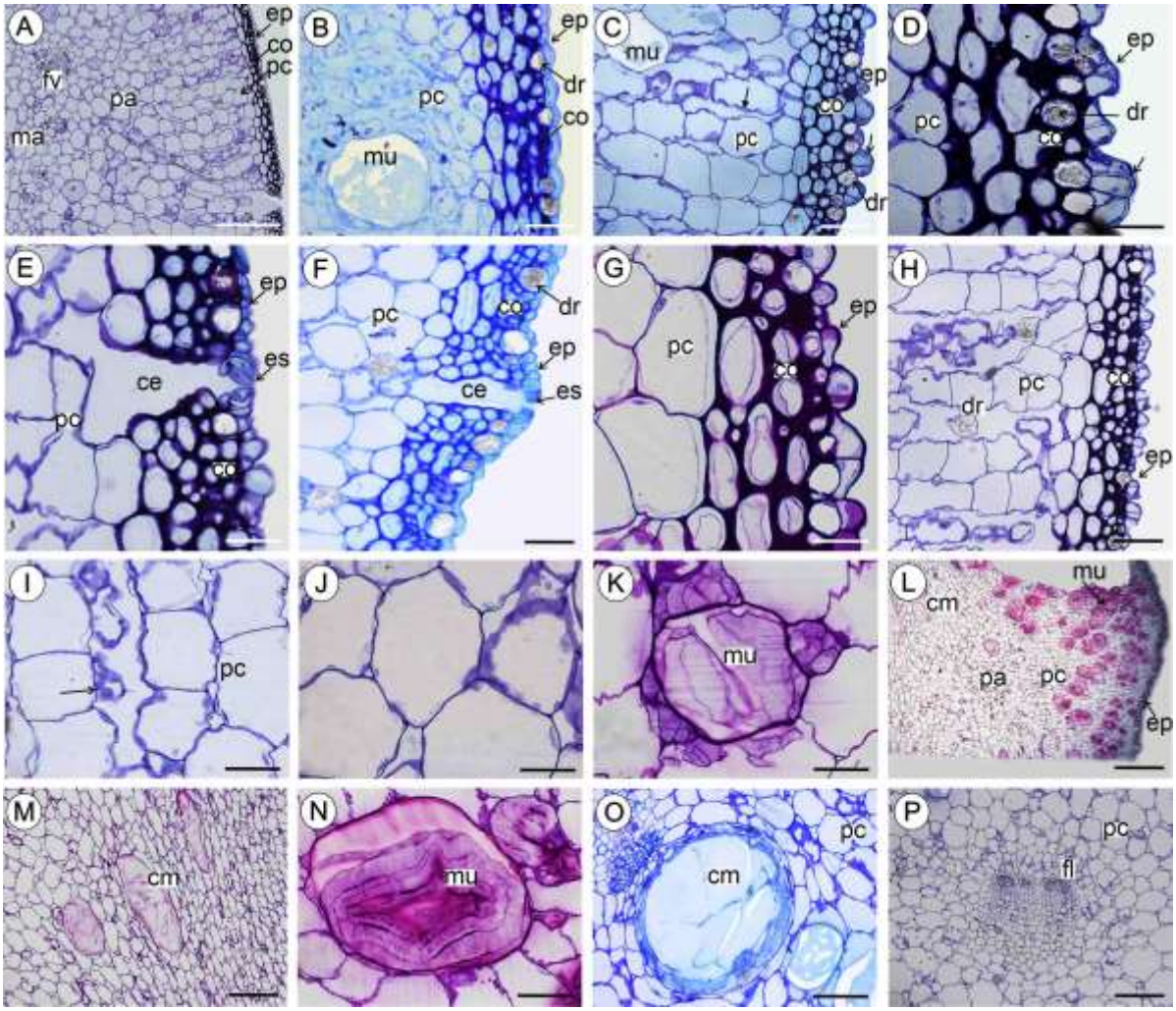


Figura 8 - Anatomia do pericarpelo floral de *Tacinga*. Aspecto geral do pericarpelo floral de *T. braunii*, constituído de epiderme, parênquima clorofiliano, parênquima aquífero, feixes vasculares e medula (A). Epiderme uniestratificada, *T. subcylindrica* (B). Células da epiderme com lúmen relativamente maior, em *T. funalis* (C). Cutícula moderadamente espessa (ver seta), observada em *T. funalis* (D). Estômatos localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas (E), exceto em *T. palmadora* que apresenta os estômatos acima das demais células epidérmicas (F). Amplas câmaras subestomáticas, *T. braunii* e *T. palmadora* (E-F). Camada de células colenquimáticas, *T. braunii* (G). Parênquima clorofiliano, composto por células grandes, alongadas e com paredes finas, contendo cloroplastos (H-I). Parênquima aquífero, composto por células arredondadas (A, J, L). Idioblastos contendo drusas presente nos parênquimas clorofiliano e aquífero (D, F, H). Estruturas secretoras de mucilagem ocorrem entre as células parenquimáticas do tecido fundamental (K-O). Feixes vasculares colaterais, dispostos cilindricamente, formados por floema e xilema primários (A, P). Legenda: ce = câmara estomática, cm = canal de mucilagem, co = camada colenquimática, dr = drusa, ep = epiderme, es = estômato, fl = floema, ma = medula, mu = mucilagem, pa = parênquima aquífero, pc = parênquima clorofiliano, fv = feixe vascular. Barras: A = 500 µm; B, C, F, H, M = 100 µm; D, E, G, I, J, K, N, O = 50 µm; L = 1 mm; P= 200 µm.

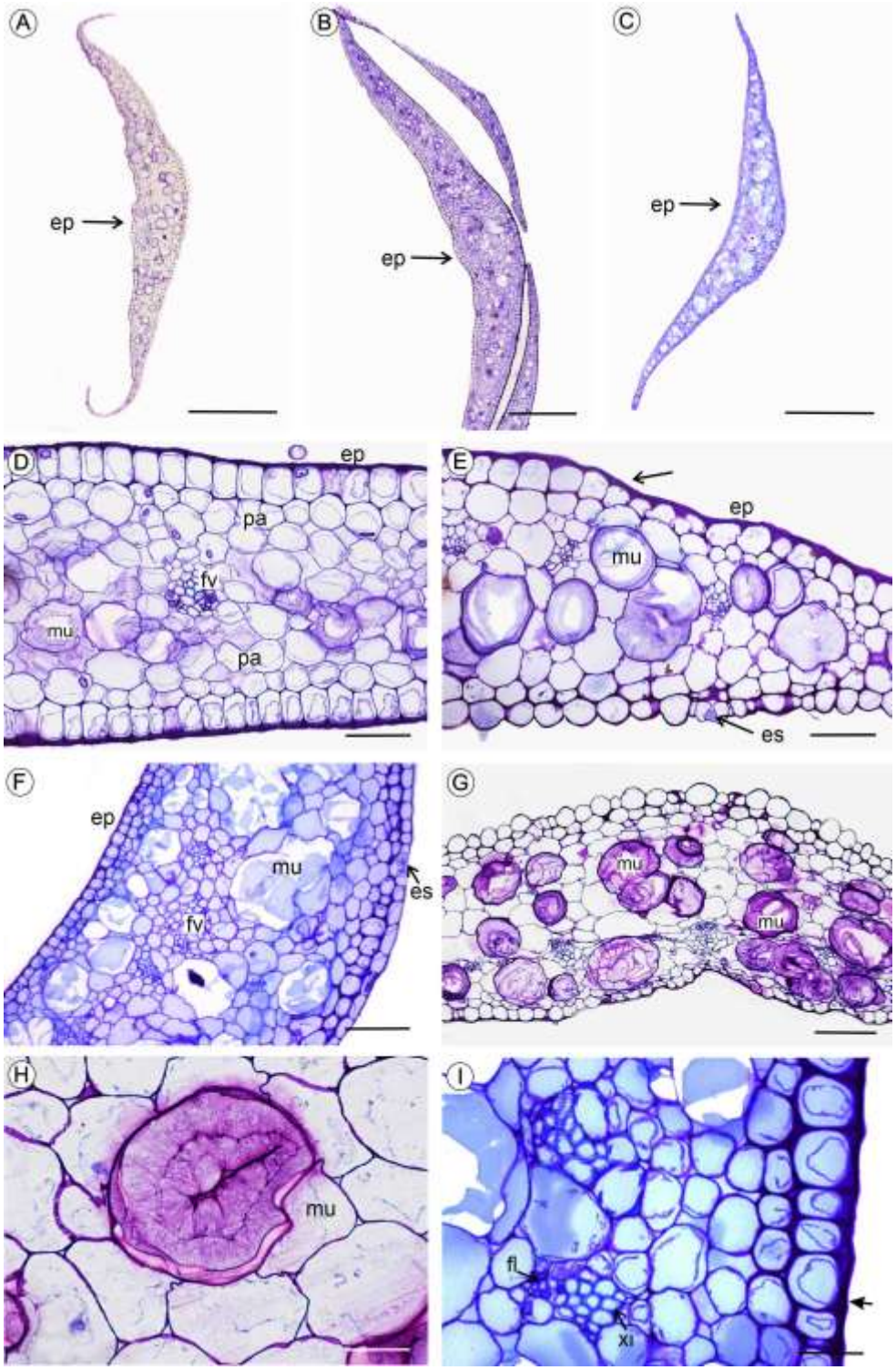


Figura 9 – Anatomia das tépalas florais de *Tacinga*. Aspecto geral da tépala, *T. funalis* (A), *T. braunii* (A), *T. inamoena* (C), mostrando a superfície adaxial ondulada em *T. funalis* e *T. braunii*, e linear em *T. inamoena*. Epiderme uniestratificada apresentando espessamento da parede periclinal externa (D). Tépala hipoestomática; em *T. funalis, as* células da epiderme abaxial arredondadas (E). Mesofilo homogêneo, com células arredondadas de paredes finas, apresentando numerosas estruturas secretoras de mucilagem (F-G). Célula de mucilagem (H). Feixes colaterais, com xilema voltado para a face adaxial da tépala (I). Legenda: ep = epiderme, fl = floema, mu = mucilagem, pa = parênquima aquífero, fv = feixe vascular, xi = xilema. Barras = A, C = 1 mm; B = 500 µm; D-F = 100 µm; G= 200 µm; H-I = 50 µm

Câmara nectarífera – A câmara nectarífera constitui um extenso tecido secretor. É formada por epiderme, uma camada de células com citoplasma denso e um tecido parenquimatoso (Figura 10 A-D). A epiderme é uniestratificada, constituída por células arredondadas, de lúmen relativamente de mesmo tamanho (Figura 10, E). Em *T. braunii* foi observada a presença de compostos fenólicos nas células epidérmicas (Figura 10, F). Em *T. subcyindrica*, *T. palmadora* e *T. inamoena*, foi observado a presença do poro secretor, estrutura similar a um estômato. O poro secretor é constituído por uma abertura entre duas células pequenas arredondadas (Figura 10, G-I), situadas na mesma altura da epiderme em *T. subcylindrica* (Figura 10, G), acima das células epidérmicas em *T. palmadora* (Figura 10, H), e abaixo das células epidérmicas em *T. inamoena* (Figura 10, I). A camada subepidérmica é composta por células pequenas, vacuoladas, com núcleo grande e citoplasma denso (Figura 10, C-F). Há presença de idioblastos contendo drusas na camada subepidérmica e no tecido parenquimatoso (Figura 10 C-D, H). Tanto a camada subepidérmica quanto o tecido parenquimatoso contêm mucilagem, sendo a camada subepidérmica basicamente um tecido mucilaginoso (Figura 10, J-K) e o tecido parenquimático contendo estruturas secretoras de mucilagem (Figura 10, L). As células parenquimáticas apresentam lúmen maior à medida que se distanciam da epiderme (Figura 10, D), e apresentam grãos de amido (Figura 10, L). A região do nectário é fortemente vascularizada. Feixes vasculares anficrivais podem estar presentes tanto camada subepidérmica quanto no tecido parenquimatoso adjacente (Figura 10, M-N), exceto em *T. braunii*, na qual apresenta feixes vasculares anficrivais na camada subepidérmica e feixes colaterais no tecido parenquimatoso (Figura 10, D).

Androceu - O filete, visto em secção transversal, é formado por uma epiderme uniestratificada, contendo células arredondadas a quadradas, com lúmen relativamente do mesmo tamanho (Figura 11, A-E), exceto em *T. inamoena,* na qual foram observadas células epidérmicas um pouco mais alongadas e projetadas para além das demais células epidérmicas (Figura 11, E). Um espessamento da parede periclinal externa foi observado em *T. funalis*, *T. braunii* e *T. inamoena* (Figura 11, A, B, E). Em *T. funalis* foram observadas células epidérmicas com núcleo proeminente (Figura 11, A). O tecido parenquimatoso contém células arredondadas, com paredes delgadas (Figura 11, A-C), exceto em *T. palmadora* e *T. inamoena,* nas quais as paredes são levemente espessadas (Figura 11, D-E). Células de mucilagem são observadas em *T. funalis, T. braunii, T. palmadora* e *T. inamoena* (Figura 11, A-B, D-E). Espaços intercelulares foram observados no parênquima em *T. subcylindrica* (Figura 11, C). Um feixe vascular anficrival está situado no centro do tecido parenquimatoso (Figura 11, B-C, E).

A antera, em corte transversal, é tetrasporangiada (Figura 11, F-G). A epiderme da antera é constituída por pequenas células alongadas e por células projetadas. O endotécio apresenta espessamento secundário em tiras sobre as paredes externas periclinais e anticlinais (Figura 11, H-I). A região conectiva da antera é constituída por células parenquimáticas e um feixe vascular central (Figura 11, J). Drusas estão presentes na região conectiva e na epiderme da antera (Figura 11, F-G, I-J). Grãos de pólen abortados foram observados, principalmente em *T. subcylindrica* e *T. palmadora* (Figura 11, G).

Gineceu – O ovário está situado no centro de um extenso tecido parenquimático aquífero, que constitui o pericarpelo (Figura 12, A-B). A parede ovariana é multiestratificada (Figura 12, C-D), composta por células pequenas, levemente alongada em *T. subcylindrica*, *T. funalis* e *T. braunii* (Figura 12, E-F), arredondadas em *T. inamoena* e *T. palmadora* (Figura 12, H-I). Em *T. funalis* e *T. braunii,* as células da parede ovariana apresentam grandes núcleos (Figura 12, F-G). A região ovariana é vascularizada, apresentando feixes vasculares colaterais distribuídos circularmente em volta do ovário (Figura 12, C-D). Tricomas abundantes são observados na parede ovariana em *T. funalis, T. subcylindrica e T. palmadora* (Figura 12, D-E, J).

Os óvulos são crassinucelados, bitegumentados (Figura 12, J-K). O funículo é fortemente alongado em *T. subcylindrica*. Foram observados tricomas na epiderme do funículo, desde a base até a região que se aproxima da micrópila, em *T. subcylindrica* e *T. palmadora* (Figura 12, E, J).

O estilete, em secção transversal, é cilíndrico (Figura 13, A-E). Apresenta epiderme uniestratificada, com células quadradas a retangulares em *T. funalis* e *T. braunii* (Figura 13, F), e células arredondadas em *T. subcylindrica*, *T. palmadora* e *T. inamoena* (Figura 13, G). As células da epiderme apresentam espessamento da parede periclinal externa (Figura 13, F-G, I). O tecido parenquimatoso apresenta cavidades secretoras, idioblastos contendo drusas, feixes vasculares e um tecido transmissor central (Figura 13, H, K-L). Feixes vasculares concêntricos anficrivais (Figura 13, H-I, K-L) estão dispostos circularmente ao redor do tecido transmissor, sendo seis feixes em *T. palmadora* e *T. inamoena*, cinco feixes em *T. funalis*, *T. subcylindrica* e quatro feixes em *T. braunii* (Figura 13, A-E).

O tecido transmissor apresenta um tecido epidérmico e subepidérmico. As células epidérmicas do tecido transmissor são quadradas, com presença de compostos fenólicos, em *T. funalis* e *T. braunii* (Figura 13, J-K), arredondadas em *T. subcylindrica*, *T. palmadora* e *T. inamoena* (Figura 13, L). O tecido subepidérmico do tecido transmissor possui células pequenas, com citoplasma denso (Figura 13, M). Apresenta contorno sinuoso, exceto

em *T. subcylindrica*, a qual apresenta formato circular (Figura 13, K), além de ser menor em comparação com as demais espécies.

O estigma é constituído por uma epiderme papilosa e lóbulos formados por um tecido parenquimático (Figura 14, A-E). As papilas compreendem células alongadas, em formato de garrafa/pino de boliche (Figura 14, G), com presença de compostos fenólicos em *T. funalis* e *T. brauni* (Figura 14, H, K). Os lóbulos do estigma são constituídos por pequenas células arredondadas, particularmente em *T. funalis* e *T. inamoena* (Figura 14, I-J), ou alongadas, como observado em *T. braunii*, *T. subcylindrica* e *T. palmadora* (Figura 14, K-M). Logo abaixo da região dos lóbulos está o tecido parenquimatoso, contendo células alongadas, que conecta o estigma ao estilete. Cavidades secretoras foram observadas no tecido parenquimatoso adjacente aos lóbulos em *T. funalis* (Figura 14, F, N). Todas as espécies apresentam células contendo mucilagem distribuídas no estilete, observado longitudinalmente (Figura 14, A-E).

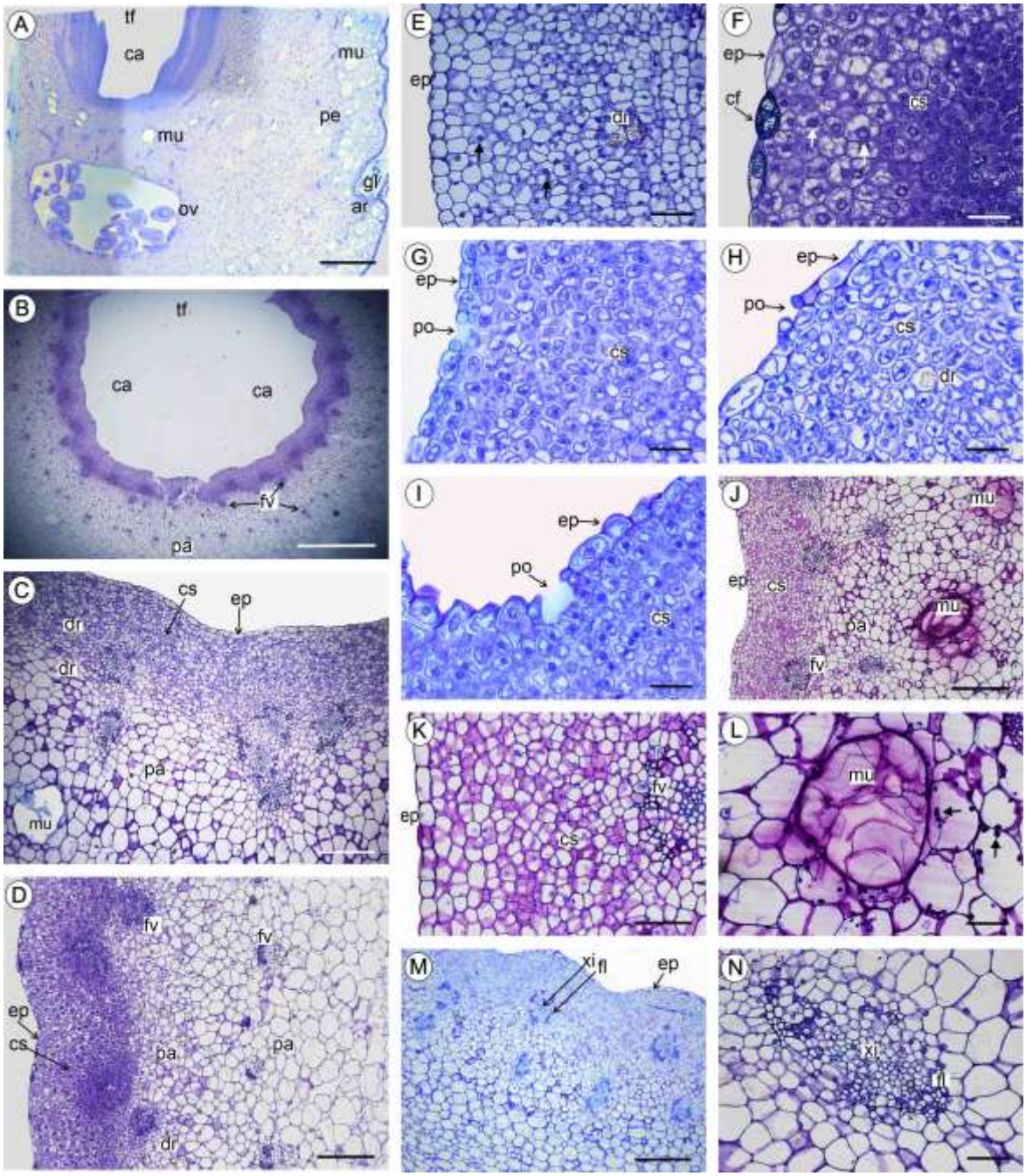


Figura 10 – Anatomia do nectário de *Tacinga.* Aspecto geral da câmara nectarífera em *T. inamoena*, em secção longitudinal (A). Aspecto geral da câmara nectarífera em *T. braunii*, em secção transversal (B). Epiderme secretora, camada de células com citoplasma denso e tecido parenquimatoso em *T. funalis* (C) e *T. braunii* (D). Epiderme da câmara nectarífera uniestratificada (E). Presença de compostos fenólicos nas células epidérmicas de *T. braunii* (F). Poro secretor, em *T. subcyindrica* (G), *T. palmadora* (H) e *T. inamoena* (I). Camada subepidérmica, composta por células pequenas, com núcleo grande e citoplasma denso (G). Presença de idioblastos contento drusas na camada subepidérmica (E, H) e no tecido parenquimatoso (D). Cavidades secretoras de mucilagem no tecido parenquimático (J). Camada subepidérmica constituída por células mucilaginosas (K). Células do tecido parenquimáticas contendo grãos de amido (L). Região do nectário é fortemente vascularizada (M). Feixes vasculares anficrivais (N). Legenda: ca = câmara nectarífera, cf = compostos fenólicos, cs = camada subepidérmica, dr = drusa, ep = epiderme, fl = floema, fv = feixe vascular, mu = mucilagem, pa = parênquima aquífero, tf = tubo floral, xi = xilema. Legenda: Barras: A = 2 mm; B = 1 mm; C-D, J-K, M = 200 µm; E-I, L, N = 50 µm.

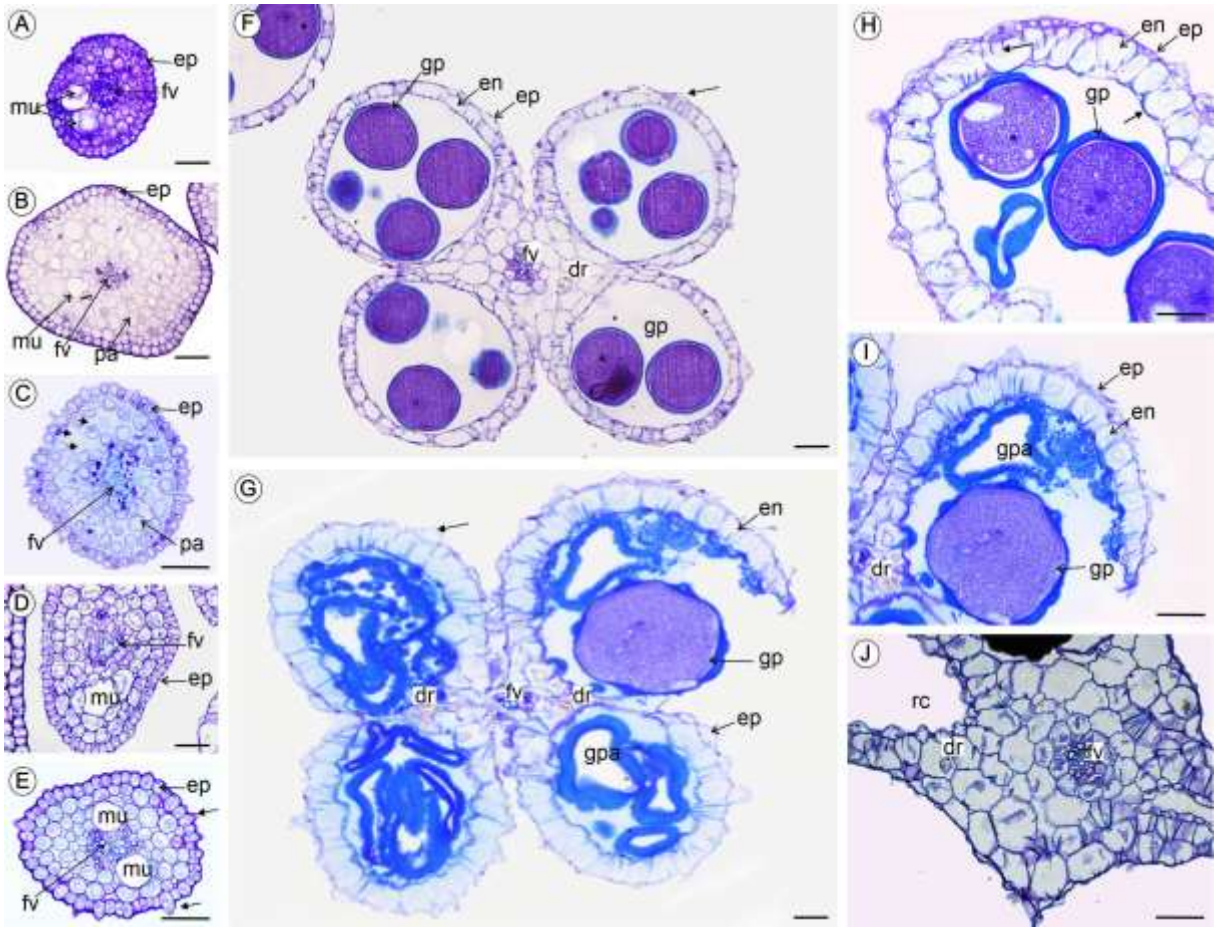


Figura 11 - Anatomia do Androceu das espécies de *Tacinga*. A-E. Aspecto geral do filete, em secção transversal, de *T. funalis* (A), *T. braunii (B), T. subcylindrica (C)*, *T. palmadora (D), T. inamoena (E).* Em *T. inamoena*, algumas células epidérmicas do filete são levemente mais alongadas e projetadas para além das demais células epidérmicas (E). F-G. Aspecto geral da antera (F). Antera tetrasporangiada, mostrando grãos de pólen abortados (G). Epiderme da antera constituída por células pequenas alongadas e por células projetadas (H). Endotécio apresentando espessamento secundário em tiras sobre as paredes externas periclinais e anticlinais (I). Região conectiva da antera constituída por células parenquimáticas e um feixe vascular central (J). Legenda: dr = drusa, en = endotécio, ep = epiderme, gp = grão de pólen, gpa = grão de pólen abortado, mu = mucilagem, pa = parênquima aquífero, rc = região conectiva, sv = sistema vascular. Barras: A-B, D, F, G = 100 µm; C, E, H, I-J = 50 µm

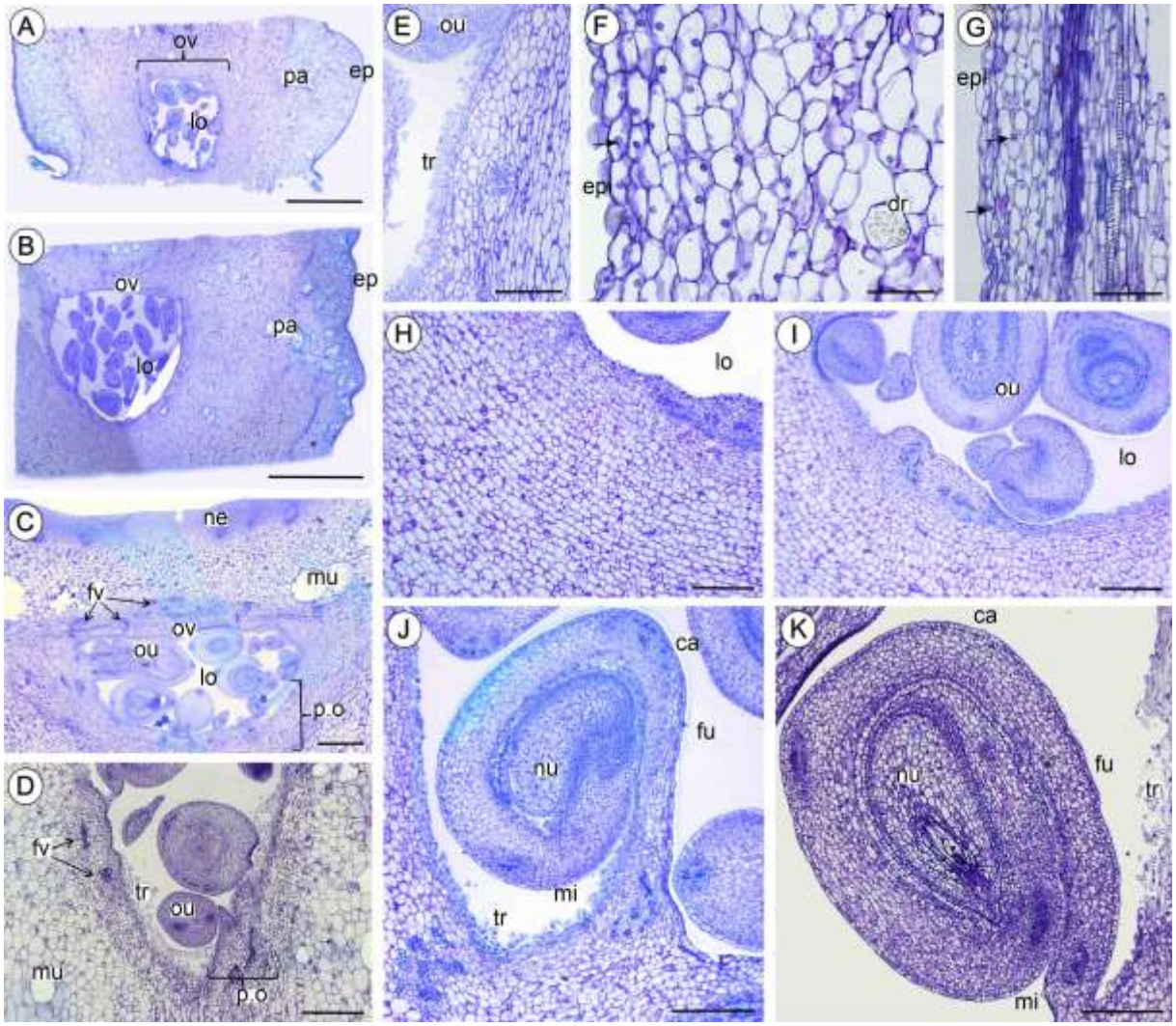


Figura 12 - Anatomia do ovário de *Tacinga*. Aspecto geral do ovário em *Tacinga*, em secção longitudinal, observada em *T. palmadora* (A). Ovário, de *T. inamoena*, envolto pelo tecido parenquimático do pericarpelo floral, em secção longitudinal (B). Parede ovariana multiestratificada, como apresentada em *T. subcylindrica* (C). Tricomas abundantes são observados em *T. funalis* (D), *T. subcylindrica*(E) *e T. palmadora*(J). Células da parede ovariana levemente alongadas, com núcleos grandes, em *T. funalis* (F) *e T. braunii* (G). *Células da parede ovariana levemente arredondadas* em *T. inamoena* (H) e *T. palmadora* (I). Os óvulos são crassinucelados, bitegumentados (J-K). Legenda: ca = calaza, dr = drusa, ep = epiderme, epi = epiderme interna, fu = funículo, fv = feixe vascular, lo = lóculo, mi = micrópila, mu = mucilagem, ne = nectário, nu = nucelo, ou = óvulo, ov = ovário, pa = parênquima aquífero, po = parede ovariana, fv = feixe vascular, tr = tricoma. Barras: A = 2 mm; B = 2 mm; C-D, H-I = 500 µm; E, J-K = 200 µm; F-G = 50 µm.

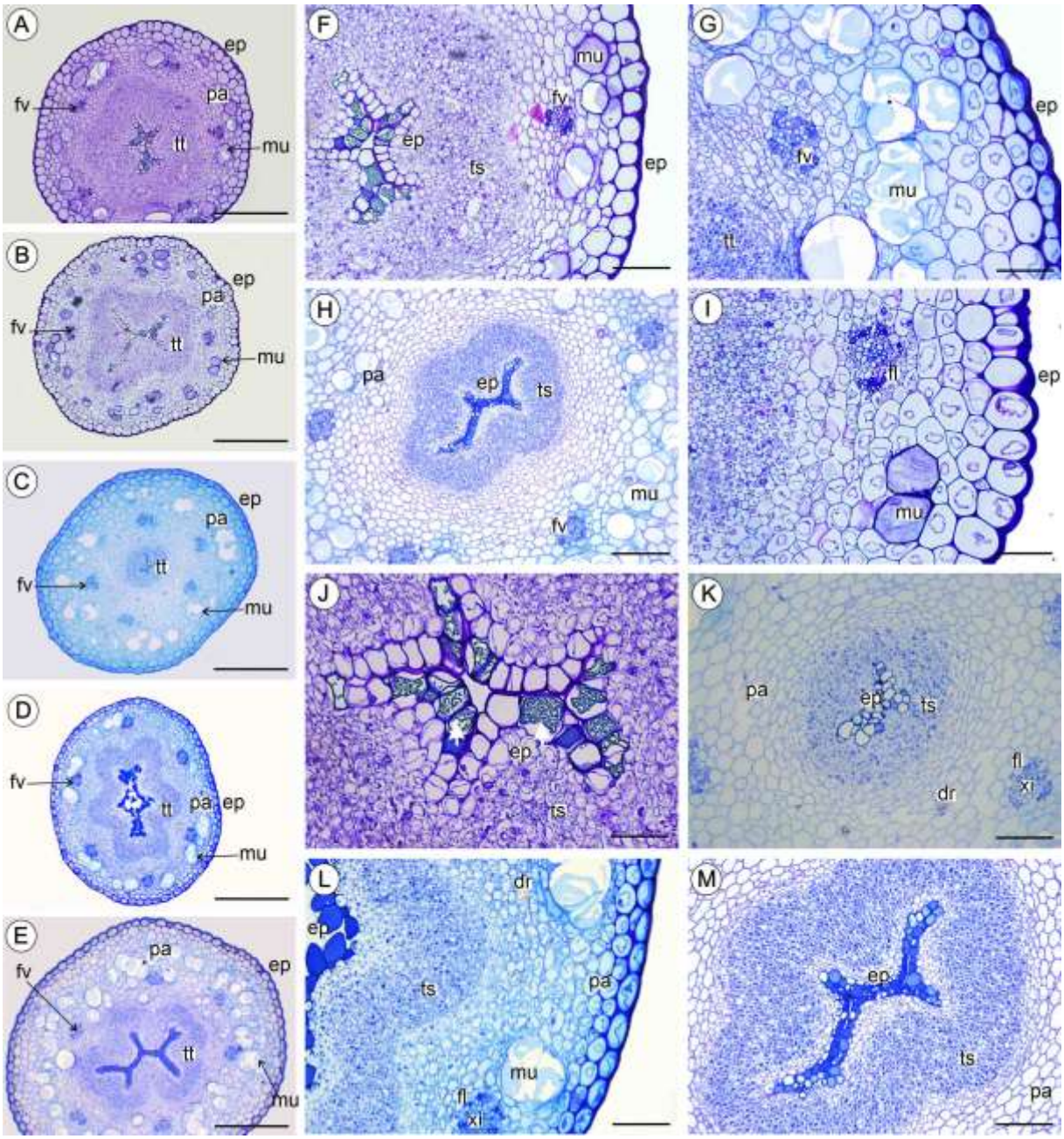


Figura 13. Anatomia do estilete da flor de *Tacinga*. A-E. O estilete, em secção transversal, é cilíndrico, observado em *T. funalis, T. braunii, T. subcylindrica, T. palmadora* e *T. inamoena*. F. Epiderme uniestratificada, com células quadradas a retangulares, com espessamento da parede periclinal externa, em *T. funalis*. G. Células da epiderme arredondadas, com espessamento da parede periclinal externa, em *T. inamoena*. H. Tecido parenquimatoso contendo feixes vasculares e um tecido transmissor central. I. Células de mucilagem presentes do tecido parenquimático e feixes vasculares concêntricos anficrivais. J. Células epidérmicas quadradas do tecido transmissor contendo compostos fenólicos, observadas em *T. funalis* e *T. braunii*. K. Drusas presentes do tecido parenquimático. L. Células epidérmicas do tecido transmissor arredondadas, observadas em *T. palmadora*. M. Células do tecido subepidérmico com citoplasma denso. Legenda: dr = drusa, ep = epiderme, fl = floema, fv = feixe vascular, mu = mucilagem, pa = parênquima aquífero, tt = tecido transmissor, ts = tecido subepidérmico, xi = xilema. Barras: A, H, K = 200 µm; B-E = 500 µm; F-G, I, L-M = 100 µm; J = 50 µm

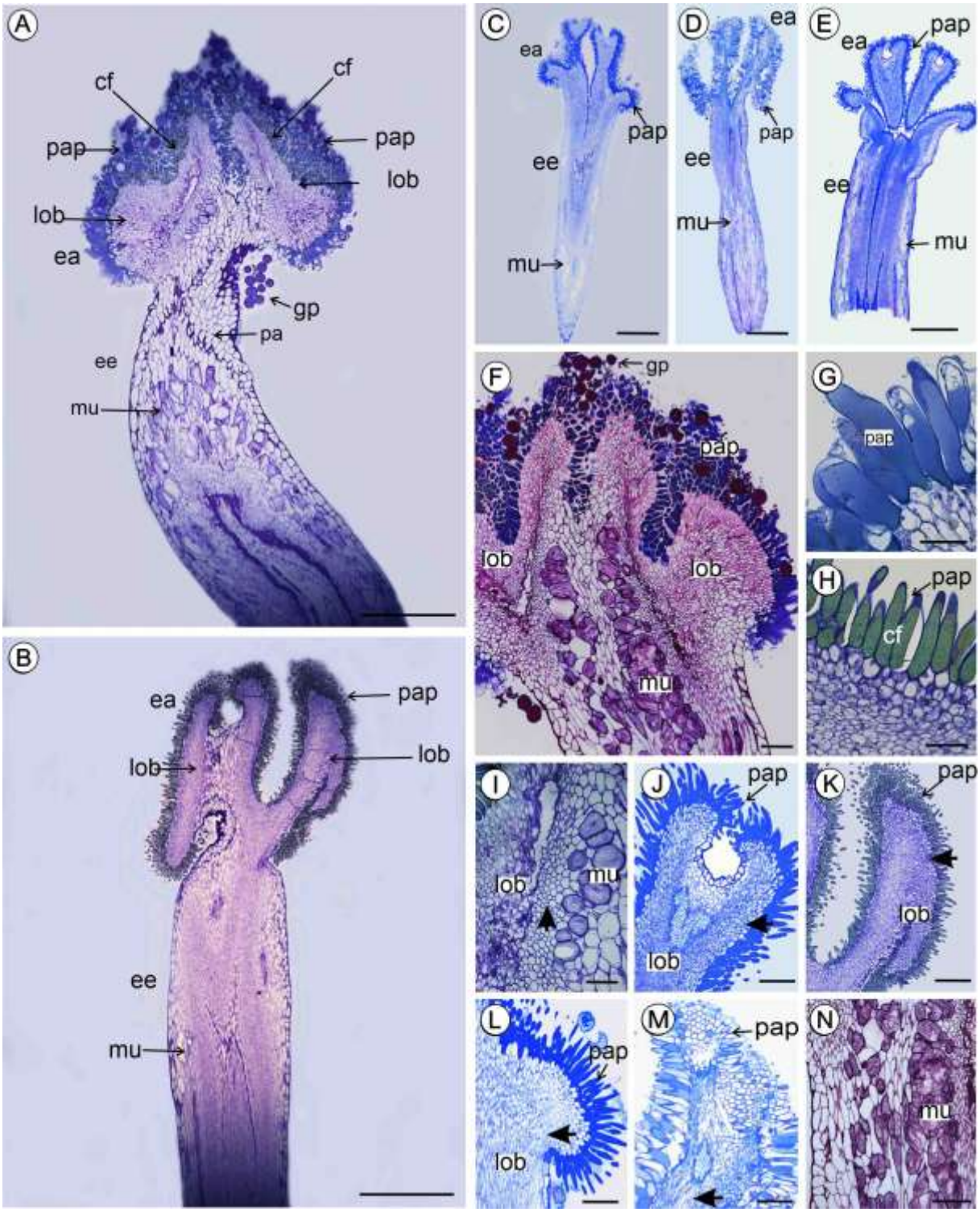


Figura 14 - Anatomia do estigma de *Tacinga*. A-B. Aspecto geral do pistilo de *T. funalis* (A), *T. braunii* (B), *T. subcylindrica* (C), *T. palmadora* (D), *T. inamoena* (E). F. Cavidades secretoras foram observadas no tecido parenquimatoso adjacente aos lóbulos em *T. funalis*. G. As papilas em formato de garrafa. H. Papilas do estigma contendo compostos fenólicos. I-J. Lóbulos do estigma constituidos por pequenas células arredondadas, particularmente em *T. funalis* (I) e *T. inamoena* (J). K-M. Lóbulos do estigma constituídos por pequenas células alongadas, como observado em *T. braunii* (K), *T. subcylindrica* (L) e *T. palmadora* (M). N. Cavidades secretoras presentes no tecido parenquimático. Legenda: cf = compostos fenólicos, ea = estigma, ee = estilete, ep = epiderme, gp = grão de pólen, lob = lóbulos, mu = mucilagem, pa = parênquima aquífero, pap = papilas. Barras: A-E = 1 mm; F, N = 500 µm; G-H = 50 µm; I, M = 100 µm; J-L = 200 µm.

5.3.4 Reconstrução da filogenia de Tacinga e evolução de caracteres e estratégias reprodutivas

Tacinga compreende um grupo monofilético bem suportado. Na árvore filogenética obtida a partir de análises Bayesiana, considerando a combinação das regiões *atp**B**-rbc**L**, ndh**F**-rpl**32**, psb**J**-pet**A**,* PPC*, ycf*1*,* observa-se uma politomia basal da qual emergem dois clados, e as espécies *T. funalis* e *T. braunii*. *Tacinga subcylindrica*, *T. saxatilis* e *T. inamoena*, formam um clado bem suportado, sendo *T. subcylindrica* e *T. saxatilis* espécies que partilham um ancestral comum mais recente. *Tacinga werneri*, *T. lilae* e *T. palmadora* formam o outro clado, no qual as duas últimas partilham um ancestral comum mais recente (Figura 15).

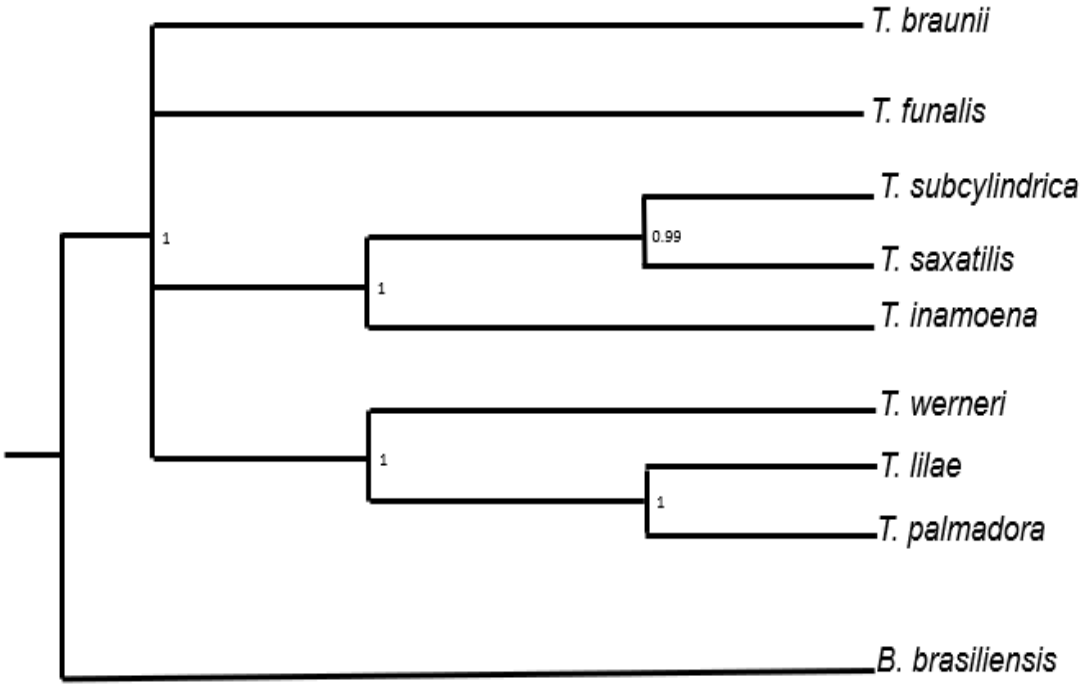


Figura 15 - Árvore de consenso de maioria obtida das análises bayesianas dos dados combinados das regiões *atp**B**-rbc**L**, ndh**F**-rpl**32**, psb**J**-pet**A**,* PPC*, ycf*1

A reconstrução de estados de caráter ancestrais da proporção entre o comprimento do tubo floral em relação ao comprimento total da flor, revela que múltiplos surgimentos para cada estado ocorreram e que o ancestral de *Tacinga* para este caractere tem estado incerto (Figura 16[1], A). Já a análise da proporção entre a largura do ovário em relação a largura do pericarpelo floral, indica que o estado inferido para o ancestral de *Tacinga* é acima de 40%, o qual foi herdado por *T. funalis* e *T. braunii*. A proporção entre 20% e 40% surgem no ancestral do clado incluindo *T. subcylindrica* e *T. inamoena*. Ainda, uma transição isolada para menos de 20% ocorre em *T. palmadora*. (Figura 16[1], B).

Para a proporção entre o display floral e o comprimento total da flor, o estado ancestral inferido para *Tacinga* é com display floral equivalente a 30% do comprimento da flor, o qual foi herdado por *T. funalis*, *T. braunii* e *T. palmadora.* Já o display floral correspondendo a 50% do comprimento da flor surge no ancestral do clado incluindo *T. subcylindrica* e *T. inamoena* (Figura 16^2, C). Para a estimativa de grão de pólen o estado ancestral inferido para *Tacinga* foi entre 100 e 150 mil por botão floral, e duas transições isoladas para números mais elevados ocorreram em *T. inamoena* e *T. palmadora* (Figura 16^2, D). A média de óvulos por flor indica que o ancestral de *Tacinga* apresentava menos de 40 óvulos por flor, o que foi herdado pelas demais espécies analisadas, exceto *T. inamoena,* que produz mais de 60 óvulos por flor (Figura 16^3, E). Já a razão pólen-óvulo revela o estado acima de 2 mil pólens por óvulo como a condição ancestral para o gênero. Uma transição isolada para abaixo de 1.5 ocorreu em *T. subcylindrica* e outra para acima de 30 mil ocorreu em *T. palmadora* (Figura 16^3, F).

Com relação aos caracteres anatômicos, quando analisada a posição dos estômatos do pericarpelo floral, o ancestral do gênero apresentou os estômatos localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas e uma transição isolada para estômatos situados acima das demais células epidérmicas ocorre em *T. palmadora* (Figura 16^4, G). Em relação a superfície adaxial da tépala floral, o ancestral de *Tacinga* tem estado incerto e dois surgimentos independentes para o tipo ondulada ocorrem em em *T. funalis* e *T. braunii*, e outros dois surgimentos para linear ocorrem em *T. palmadora* e no ancestral de *T. subcylindrica* e *T. inamoena* (Figura 16^4, H). Cenário similar é observado com relação aos compostos fenólicos nas papilas do estigma (Figura 16^5, I).

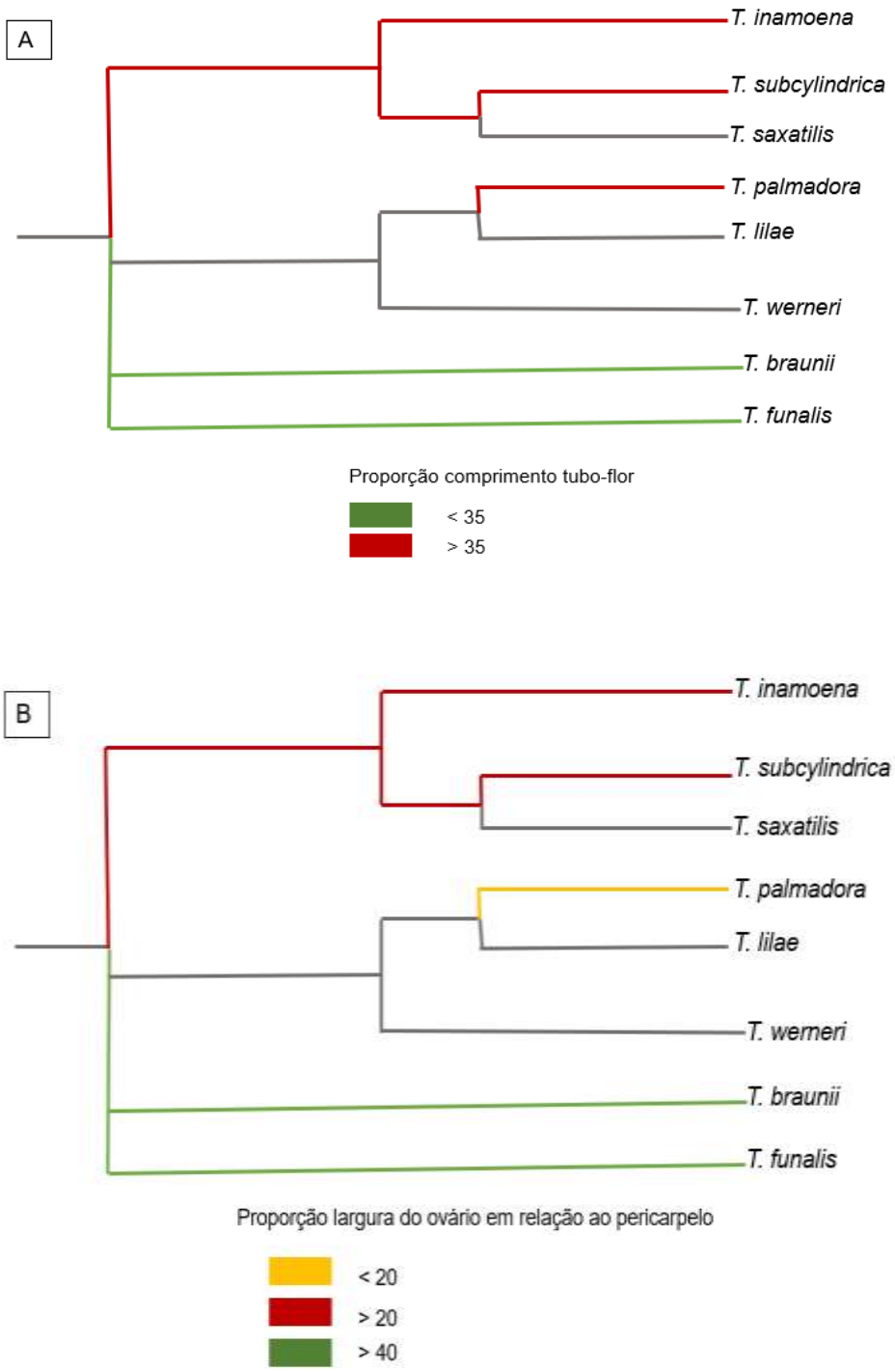


Figura 16[1] - Reconstrução de estados de caráter ancestrais em *Tacinga*, obtida pelo método de parcimônia. A. Proporção entre o comprimento do tubo floral e comprimento total da flor. B. Proporção entre a largura do ovário em relação a largura do pericarpelo floral

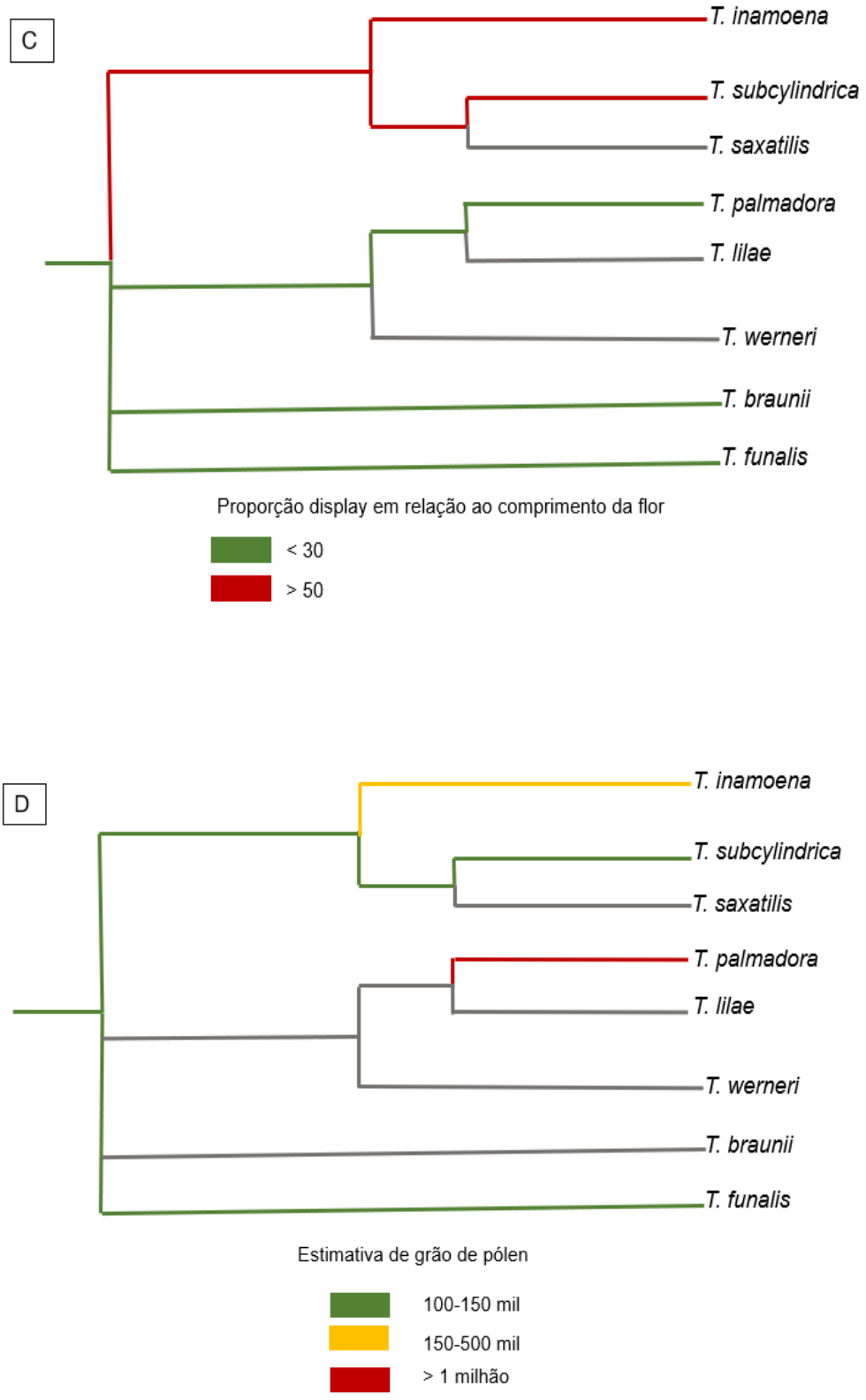


Figura 16² - Reconstrução de estados de caráter ancestrais em *Tacinga*, obtida pelo método de parcimônia. C. Proporção entre o comprimento do display floral e comprimento total da flor. D. Estimativa de grão de pólen.

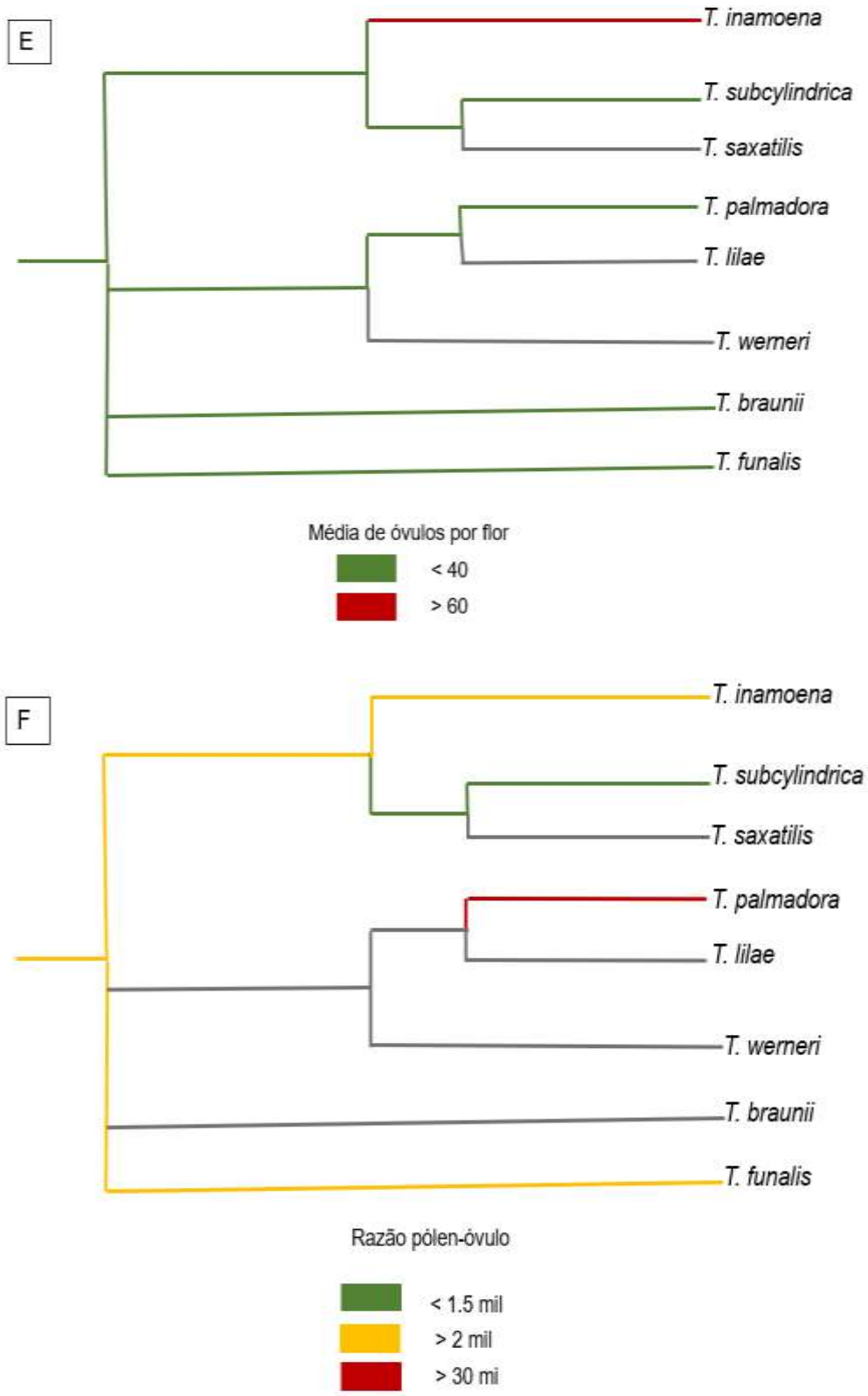
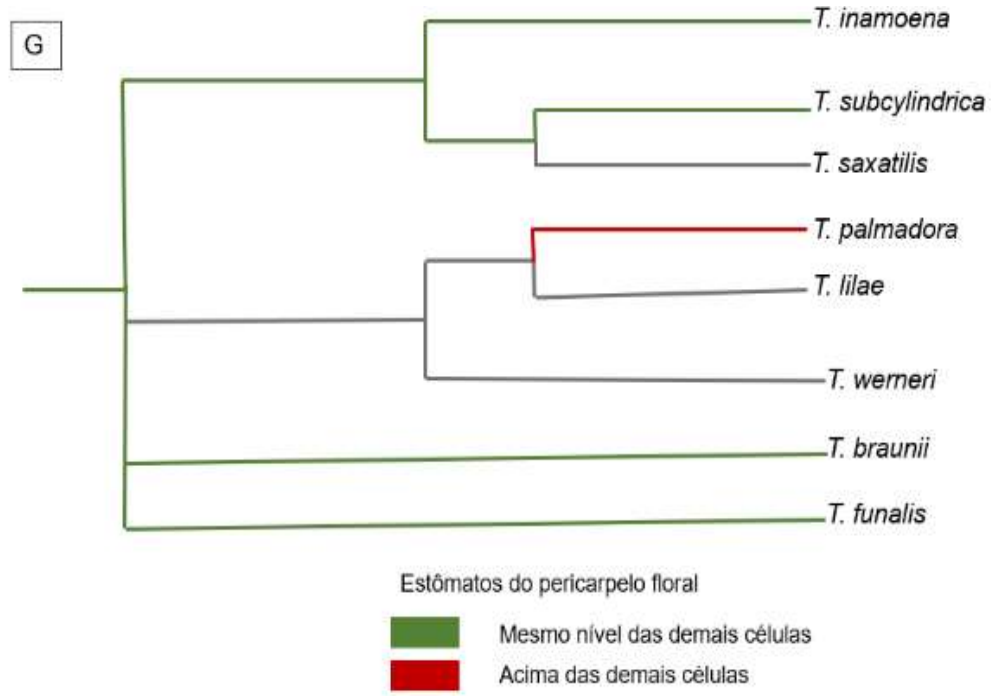


Figura 16[3] - Reconstrução de estados de caráter ancestrais em *Tacinga*, obtida pelo método de parcimônia. E. Média de óvulos por flor. F. Razão pólen-óvulo.



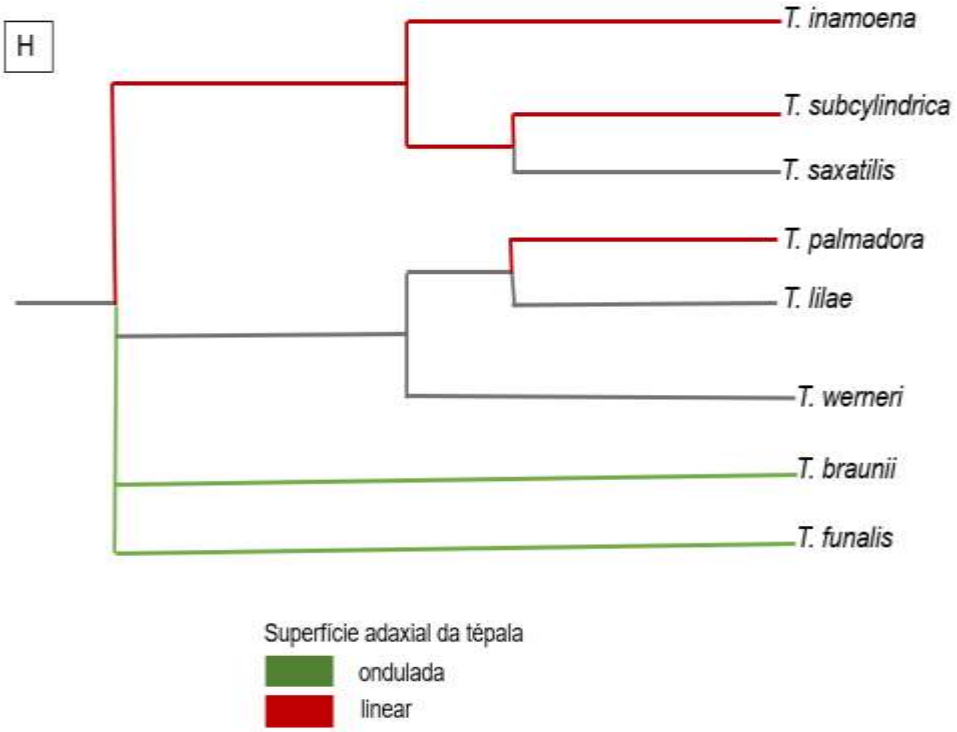


Figura 16[4] - Reconstrução de estados de caráter ancestrais em *Tacinga*, obtida pelo método de parcimônia. G. Posição dos estômatos no pericarpelo floral. H. Formato da superfície adaxial da tépala.

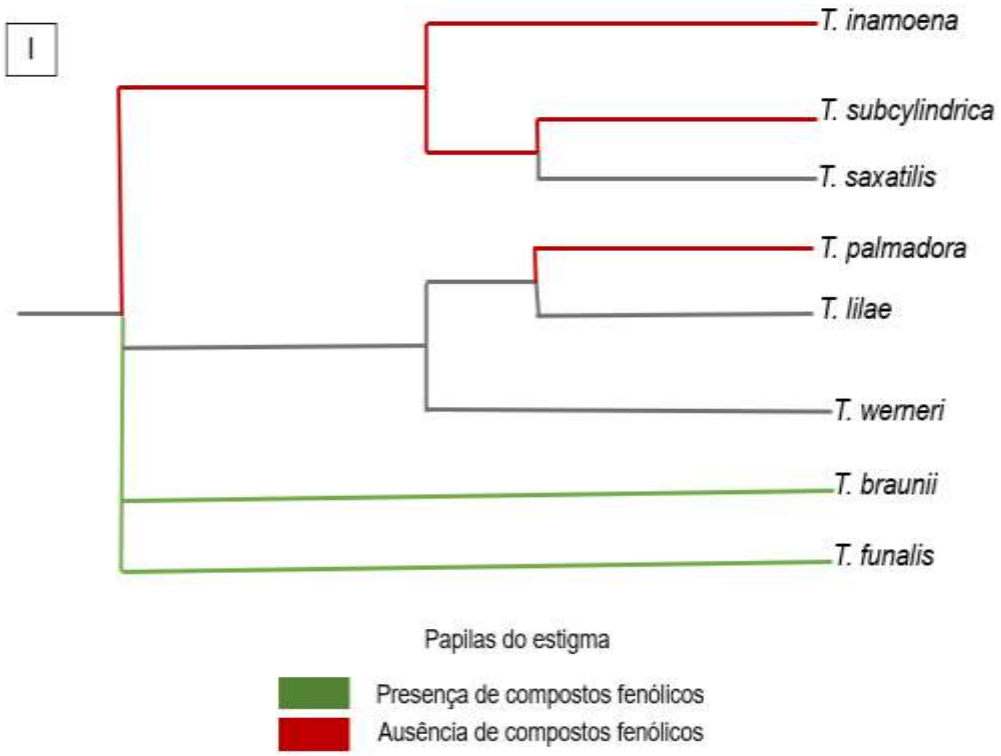


Figura 16[5] - Reconstrução de estados de caráter ancestrais em *Tacinga*, obtida pelo método de parcimônia. I. Presença ou ausência de compostos fenólicos nas papilas do estigma.

5.4 Discussão

Embora sejam comumente confundidas, a exemplo de *T. inamoena* e *T. subcylindrica* (MACHADO; TAYLOR, 2003), as flores de *Tacinga* são morfologicamente distintas. Dentre as diferentes características morfológicas informativas e variáveis destacam-se: o comprimento da flor, a largura do display floral, o formato e comprimento do pericarpelo, o formato e coloração das escamas basais das aréolas do pericarpelo, forma e comprimento do perianto floral, coloração das tépalas, formato da câmara nectarífera, coloração das anteras e filetes, formato do ovário, número de lóbulos do estigma. Algumas dessas características constituem aspectos morfológicos usados na descrição e identificação das espécies, tais como, o comprimento da flor, o comprimento do pericarpelo e coloração das tépalas. No entanto, este trabalho destaca novas características para diferenciar as espécies do gênero, tais como, formato do ovário, formato da câmara nectarífera, formato e coloração das escamas basais que recobrem as aréolas do pericarpelo floral. A análise destes caracteres morfológicos sob uma perspectiva filogenética, incluindo metade das espécies do gênero, é inédita para o grupo.

Tacinga apresenta características morfológicas que são compartilhadas por todas as espécies. As aréolas presentes no pericarpelo apresentam obrigatoriamente tricomas, além de gloquídeos abundantes já relatados na literatura (TAYLOR.; ZAPPI, 2004), os quais são típicos da subfamília Opuntioideae (ANDERSON, 2001). Todas as espécies apresentam tépalas fusionadas na base, junto à região basal do androceu, formando o tubo floral, no qual encontra-se a câmara nectarífera em sua base. O gineceu em *Tacinga* é pluricarpelar, unilocular, formado por um ovário ínfero envolto pelo pericarpelo, contendo óvulos circinótropos. O estilete observado em todas as tacingas tem inserção terminal, é cilíndrico e alongado. O estigma em *Tacinga* é indiviso e multilobado. As anteras são livres, basifixas, com deiscência longitudinal.

As análises anatômicas do gênero também revelam caracteres distintos entre as espécies, no entanto as semelhanças anatômicas se sobressaem, permitindo o reconhecimento de um padrão anatômico geral para o gênero. Apesar da ampla diversidade nas características morfológicas, as cactáceas são consideradas relativamente uniformes no que diz respeito à estrutura e anatomia (MANDUJANO et al., 2010). Podemos destacar aqui, como exemplo, os caracteres anatômicos do pericarpelo floral de *Tacinga*. Todas as espécies de *Tacinga* apresentam pericarpelo floral constituído por epiderme, camada colenquimática, parênquima clorofiliano, parênquima aquífero, feixes vasculares e medula. A epiderme é uniestratificada com cutícula espessa em todas as espécies. Também são observadas amplas câmaras subestomaticas profundas em todas as tacingas. No sistema fundamental do pericarpelo, são observadas células do parênquima clorofiliano grandes, quadradas a retangulares, com presença de cloroplastos. As células do parênquima aquífero são grandes e arredondadas, contendo paredes delgadas, certamente responsáveis pelo estoque de água das plantas. Outra característica anatômica em comum em *Tacinga* compreende a presença de drusas no interior de idioblastos, distribuídas principalmente na camada colenquimática situada abaixo da epiderme do pericarpelo floral.

Uma hipoderme multiestratificada, células com paredes espessas, contendo drusas, ao menos em uma das camadas, compreende uma característica em comum aos membros das subfamílias Pereskioideae, Opuntioideae e Cactoideae, podendo ser considerado um caráter ancestral de Cactaceae (MAUSETH, 2005). Particularmente em Opuntioideae, as drusas são especialmente comuns (MAUSETH, 2005), embora não necessariamente universais na subfamília. As drusas apresentam uma variedade de formas e tamanhos, sendo relatadas diversas funções para estes cristais, tais como proteção à herbivoria e tolerância a estresses ambientais (NAKATA, 2003). Considerando que as tacingas ocorrem em ambientes semiáridos da Caatinga (FREITAS et al., 2021), com recursos alimentares escassos em época de seca, e que suas flores, assim como os cladódios, apresentam considerável suculência,

bem como, que há registros de predação das flores (PAIXÃO; GOMES; VENTICINQUE, 2021), a considerável presença de drusas nas camadas subepidérmicas do pericarpelo floral pode estar relacionada à proteção contra herbivoria em *Tacinga*.

Em termos de comprimento das peças florais, Taylor & Zappi (2004) descrevem o comprimento do estilete para três espécies, *T. funalis*, *T. braunii* e *T. saxatilis*. No entanto, para as demais espécies do gênero esse dado ainda não está disponível na literatura. O mesmo acontece para largura do display floral, tubo floral, câmara nectarífera e ovário, os quais ainda não foram detalhados em termos de formato e comprimento na literatura. Neste trabalho, a comparação das medidas em valores absolutos de comprimento de todas as estruturas florais citadas revela que as espécies de *Tacinga* possuem diferenças de comprimento nas referidas estruturas. Diferenças também são relatadas aqui quanto ao número estimado de grãos de pólen, bem como para a razão pólen-óvulo, para os quais *T. palmadora* se destaca. Estudos futuros, que ampliem essas mensurações para mais indivíduos e espécies permitirão uma discussão mais aprofundada dessas variações.

Como as espécies possuem comprimento e formatos de estruturas distintos, medidas de proporções foram realizadas visando encontrar uma forma para comparar as diferentes espécies. Quando analisadas as características morfológicas em medidas de proporção, são identificadas diferenças entre as proporções do comprimento do tubo floral em relação ao comprimento da flor, das larguras entre ovário e pericarpelo floral, e da largura do display floral em relação ao comprimento da flor. Uma maior proporção do comprimento do tubo floral em relação ao comprimento da flor, indica um perfil de estratégia reprodutiva em que potencialmente há um maior gasto com a produção e/ou estocagem de néctar. Já a proporção das larguras do ovário e pericarpelo permite a inferência direta sobre um perfil reprodutivo com maior ou menor gasto com dimensões de ovário, e inversamente com uma maior ou menor suculência do pericarpelo, já que o tecido lateral entre o ovário e o pericarpelo é particularmente preenchido por parênquima aquífero, ou mesmo com menor ou maior proteção do ovário. Por fim, a proporção entre o display floral e o comprimento da flor, além de delinear o formato geral da flor, pode permitir inferências sobre um perfil reprodutivo com maior ou menor gasto com atração de polinizadores. A espécie *T. subcylindrica* se destaca entre as demais em relação à proporção entre o comprimento do tubo floral, bem como a largura display floral, o que sugere que há um maior investimento em produção e/ou estocagem de néctar, bem como um maior investimento para atração de polinizadores. A espécie *T. funalis* se destaca em termos de proporção entre a largura do ovário e a largura do pericarpelo, ou seja, a extensão do tecido parenquimático entre a parede ovariana e a epiderme do pericarpelo.

Estratégias incluindo o tamanho e número de estruturas florais podem favorecer o sucesso reprodutivo de plantas por constituírem atrativos para os visitantes florais (FRIEDMAN; BARRET, 2011). O pericarpelo floral de *T. subcylindrica* representa o segundo menor, em termos de comprimento absoluto, em contraponto, o tubo floral é o maior dentre as demais espécies. Além disso, para *T. subcylindrica* foram observados mais eventos de floração ao ano e uma diversidade de visitantes florais e possíveis polinizadores. Tais evidências corroboram o investimento da planta na atração de polinizadores, no entanto, o fato de não ter sido possível realizar a quantificação do volume do néctar produzido não nos permite inferir maiores informações a respeito da produção e estoque de néctar das suas flores. Estudos futuros da biologia floral e da polinização dessas espécies são fundamentais para elucidar questões evolutivas no gênero.

Estudos que avaliam a alocação de biomassa demonstraram que flores de espécies polinizadas por animais são substancialmente mais custosas do que aquelas polinizadas pelo vento (CRUDEN; LYON, 1985) e que à medida que as flores ficam mais custosas, maior é o número de óvulos por ovário. O aumento do número de óvulos pode estar fortemente relacionado ao aumento do comprimento ou largura do ovário. Em *T. funalis* o ovário é considerado relativamente largo em relação ao pericarpelo floral, no entanto, o número de óvulos por flor é relativamente baixo. Logo, as proporções das larguras do ovário e pericarpelo podem estar mais relacionadas à suculência do pericarpelo ou proteção do ovário em *Tacinga*. Em *T. funalis*, e possivelmente *T. braunii*, dadas as semelhanças entre as espécies, estas proporções sugerem uma menor proteção do ovário/óvulos, visto que o ovário ocupa mais da metade do pericarpelo, logo o tecido parenquimático que envolve o ovário não é tão extenso quanto nas demais espécies. Em contraponto, o pericarpelo é alongado, sendo até duas vezes maior que o pericarpelo de *T. palmadora*, por exemplo. Logo, neste extenso tecido parenquimático é possível captar e armazenar mais água, tornando-se suculento, embora as espécies *T. inamoena* e *T. subcylindrica* suponham maior suculência entre as demais do gênero.

Com relação à reconstrução da filogenia do gênero, *Tacinga* compreende um grupo monofilético bem suportado. Porém, a existência da politomia nos nós mais inclusivos do gênero não permite inferências sobre o relacionamento entre os clados e entre *T. funalis* e *T. braunii* em relações às demais espécies. Este fato, junto a ausência de flores para uma maior amostragem também dificultou inferências bem embasadas em relação à evolução de caracteres avaliados. Entre os relacionamentos que emergiram na filogenia obtida, a estreita relação entre *T. lilae* e *T. palmadora* já havia sido documentada na literatura previamente (MAJURE et al., 2013). Inclusive semelhanças morfológicas florais também foram relatadas para essas espécies (MAJURE et al., 2013).

Ademais, apesar da hipótese filogenética aqui obtida não oferecer resolução para o relacionamento entre *T. funalis* e *T. braunii*, o relacionamento próximo entre elas emergiu na análise de WALLACE & DICKIE (2002), baseada exclusivamente no marcador *rpl*16. Neste trabalho, WALLACE & DICKIE (2002), estas as espécies, que apresentam morfologia mais similar em comparação às demais espécies, formaram um clado. Assim, acreditamos que com a adição de mais caracteres ao conjunto de dados aqui produzido (como por exemplo dados do marcador *rpl*16), ambas possivelmente emergeriam proximamente relacionadas.

De fato, os caracteres aqui analisados suportam um relacionamento próximo entre *T. funalis* e *T. braunii*, como obtido em filogenia gerada anteriormente (WALLACE; DICKIE, 2002) e já observado previamente em trabalhos taxonômicos, considerando caracteres morfológicos das espécies (LAMBERT, 2009; FREITAS et al., 2021). Ambas apresentam flores grandes com perianto de coloração variando entre o verde e amarelo, podendo apresentar cores pálidas. As tépalas são patentes. O tubo floral é proporcionalmente pequeno em relação ao comprimento da flor. O ovário é proporcionalmente largo em relação ao pericarpelo. O display floral é estreito. A quantidade de óvulos por flor é pequena, o número estimado de grão de pólen é baixo, bem como a razão polén-óvulo. Em relação aos caracteres anatômicos, destacam-se três aspectos: presença de compostos fenólicos nas papilas do estigma, que confere uma maior proteção em caso de predação; a superfície adaxial da tépala é ondulada; e os estômatos estão situados no mesmo nível das demais células epidérmicas, sendo esta última característica também observadas nas demais espécies do gênero, exceto em *T. palmadora*.

Em contraponto, *T. subcylindrica*, *T. palmadora* e *T. inamoena*, apresentam flores menos longas, perianto floral com cores intensas, às vezes brilhantes, variando de vermelho a laranja; display floral grande, tépalas patentes ou eretas, tubo floral proporcionalmente grande em relação ao comprimento da flor; ovário proporcionalmente estreito em relação a largura do pericarpelo, e consequentemente melhor protegido e com pericarpelo mais suculento; apresentam elevada quantidade de óvulos por flor, número estimado de grão de pólen alto, bem como a razão pólen-óvulos. Em relação aos caracteres anatômicos, destacam-se ausência de compostos fenólicos nas papilas do estigma e superfície adaxial da tépala linear.

Além das características morfoanatômicas revelarem semelhanças entre as espécies, a distribuição geográfica semelhante também corrobora um possível relacionamento próximo entre *T. braunii* e *T. funalis*, já que estas distribuem-se a menos de 700 km de distância. *Tacinga funalis* é encontrada no centro norte do estado da Bahia e *T. braunii* ocorre em uma área restrita ao Vale do Rio Jequitinhonha, no nordeste do estado Minas de Gerais, sendo

considerada endêmica dessa região. Basicamente, se distanciando em linha vertical do local de ocorrência de *T. funalis* é possível chegar ao encontro de *T. braunii*. Uma barreira geográfica ou ecológica pode ter separado populações de *T. funalis*, essas populações teriam sofrido diferentes pressões seletivas, que provavelmente promoveu a seleção de genes distintos. Esse processo de isolamento geográfico pode ter promovido a especiação no gênero, que deu origem a *T. braunii*.

Embora não tenha sido possível identificar o estado ancestral de *Tacinga* quanto à ocorrência de compostos fenólicos nas papilas do estigma, a reconstrução desse estado de caráter pode reforçar o relacionamento próximo entre *T. braunii* e *T. funalis*. Diferente de todas as outras espécies, *T. braunii* e *T. funalis* apresentam compostos fenólicos nas papilas do estigma. Os outros dois surgimentos para ausência que ocorrem em *T. palmadora* e no ancestral de *T. subcylindrica* e *T. inamoena* podem estar relacionados ao fato do estigma, assim como o pólen, servir como fonte alimentar para animais da fauna local. A análise microscópica revela que o estigma compreende uma estrutura repleta de células mucilaginosas.

As tacingas começam a florescer no final da estação úmida e continuam florescendo durante toda a estação seca (QUIRINO, 2006). Na estação seca, em um ambiente semiárido, como a Caatinga, os recursos alimentares para os animais se tornam escassos. Possivelmente, animais da fauna local exploram ao máximo os recursos e recompensas florais fornecidos pelas tacingas. Recentemente, um caso de florivoria em *Tacinga* foi relatado. Particularmente, as flores de *T. inamoena* são consumidas pelo lagarto *Tropidurus hispidus* na Caatinga brasileira (PAIXÃO; GOMES; VENTICINQUE, 2021). A maioria dos eventos relatados ocorreu na estação seca e as flores foram totalmente consumidas, incluindo pétalas, estames, estigma e pericarpelo.

Estômatos situados acima das demais células epidérmicas, como observado neste trabalho em *T. palmadora*, é uma condição anatômica distinta considerada uma apomorfia de *Tacinga*, e foi evidenciada a ocorrência desta no pericarpelo floral de *Opuntia lilae*, *T. funalis*, *T. inamoena*, *T. palmadora* e *T. saxatilis*, por meio de observações morfológicas (MAJURE et al., 2013). No entanto, análises anatômicas do pericarpelo floral das espécies *T. funalis*, *T. braunii*, *T. subcylindrica* e *T. inamoena* mostram estômatos do pericarpelo situados no mesmo nível das demais células epidérmicas.

Em contraponto, análises anatômicas do caule (cladódio) realizados em seis espécies e uma notoespécie de *Tacinga* (*T. funalis, T. braunii, T. werneri, T. subcylindrica, T. palmadora, T. inamoena e T. x flammea)* revelam que os estômatos de *T. palmadora* e *T. werneri* estão situados acima das demais células epidérmicas do caule, diferente das demais

espécies analisadas (Capítulo 1). Uma investigação da localização do estômato na epiderme do caule é relatada na literatura confirmando as mesmas condições distintas observadas para *T. inamoena* e *T. palmadora* (ARRUDA; MELO-DE-PINNA; ALVES, 2005).

Considerando que o tecido do pericarpelo é uma extensão do tecido do caule, é possível que os estômatos do pericarpelo floral de *T. werneri* também sejam elevados. Embora não tenha sido possível realizar análises anatômicas florais em *T. werneri*, por falta de material vegetal, a análise dos estômatos do caule pode sugerir que a condição de estômatos acima das demais células epidérmicas é uma potencial sinapomorfia do clado constituído por *T. palmadora*, *T. werneri* e *T. lilae*. Por outro lado, se desconsiderarmos os resultados anatômicos do caule, poderíamos sugerir que esta condição é uma autopomorfia de *T. palmadora*.

Mesmo que as espécies *T. werneri* e *T. lilae* não tenham sido incluídas na reconstrução dos estados de caráter é possível observar um relacionamento mais próximo entre estas duas espécies e *T. palmadora* na filogenia obtida. *Tacinga palmadora*, *T. werneri* e *T. lilae* partilham características morfológicas, como as flores, que em *T. lilae* são vermelhas, apresentando tépalas eretas que formam um tubo na qual os estames estão inclusos, condições similares às flores de *T. palmadora* e *T. werneri* (MAJURE et al., 2013).

A reconstrução do estado de caráter da proporção entre o comprimento do tubo floral em relação ao comprimento total da flor revela que o ancestral de *Tacinga* é incerto para este caráter e que ocorreram múltiplos surgimentos para os estados. Os resultados indicam que *T. inamoena, T. subcylindrica* e *T. palmadora* partilham flores com tubo floral ocupando mais de 35% do comprimento da flor, diferente do que ocorre em *T. funalis* e *T. braunii*, nas quais o tubo floral ocupa menos de 35% da flor. A reconstrução desse estado de caráter sugere um relacionamento mais próximo entre os clados formados por *T. inamoena*, *T. saxatilis* e *T. subcylindrica* com *T. palmadora*, *T. werneri* e *T. lilae*, do que com *T. funalis* e *T. braunii*. Porém, sem conhecermos a condição ancestral para *Tacinga* como um todo não é possível definir qual condição é plesiomórfica e qual condição é apomórfica para esse caráter.

Para a proporção entre o display floral e o comprimento total da flor, a menor proporção implica em uma menor abertura das tépalas. Em *T. palmadora* as tépalas são eretas e o perianto é tubular, o que pode estar fortemente relacionado à visitantes florais e polinizadores específicos. Particularmente, para *T. palmadora* é documentada a visitação floral pelo beija-flor *Chlorostilbon aureoventris* (LOCATELLI; MACHADO, 1999). A literatura sugere que as espécies de *Tacinga* se diferenciam das *Opuntias* devido à evolução de suas flores para serem visitadas por beija-flor, em vez de abelhas como a maioria dos outros opuntióides (LAMBERT, 2009). A reconstrução do estado de caráter ancestral nesse trabalho sugere que

caracteres morfológicos que são melhor atribuíveis à ornitofilia estão presentes no ancestral de *Tacinga*, corroborando a hipótese que tacingas são polinizadas por beija-flor.

Diferentemente de *T. palmadora*, as espécies *T. inamoena* e *T. subcylindrica* possuem um display floral relativamente amplo, equivalente a 50% do comprimento da flor. As flores de *T. inamoena* e *T. subcylindrica* variam de vermelha a laranja, possuem perianto infundibuliforme, com tépalas patentes, que possivelmente permitiriam o pouso de abelhas ou outros artrópodes. Em especial, as flores de *T. subcylindrica* apresentam grande destaque em meio a “mata branca”, Caatinga, podendo ser considerada a flor de tacinga mais vistosa, devido a sua coloração viva e brilhante. A coloração reflexiva das tépalas pode ser visível para as abelhas e servir como atrativo, como sugerido para outras espécies em Cactaceae, tal qual a *Uebelmannia buiningii* Donald (TEIXEIRA et al., 2018). Além disso, é comum a visitação de abelhas em flores de cactáceas com floração diurna (SOUZA et al., 2021; TEIXEIRA et al., 2018). *Tacinga subcylindrica* e *T. inamoena* apresentam antese das flores nas primeiras horas da manhã, se encerrando na metade da tarde. A espécie *Uebelmannia pectinifera* Buining subsp. *pectinifera*, que apresenta síndrome de melitofilia, também inicia a antese nas primeiras horas da manhã, começando por volta das seis horas e terminando por volta das das três da tarde (SOUZA et al., 2021). Deste modo, a reconstrução do estado de caráter ancestral para proporção entre o display floral e o comprimento total da flor, reforça que caracteres morfológicos que são melhor atribuíveis à ornitofilia já estavam presentes no ancestral de *Tacinga* e que as flores evoluíram para serem polinizadas por beija-flores, abelhas ou outros artrópodes. A morfologia floral em *Tacinga* teria evoluído de síndromes de polinização por polinizadores específicos para polinizadores generalistas, mantendo ambas as condições, polinização por beija-flor e por insetos. Essa provável interação tacinga-fauna reforça ainda mais a importância ecológica destas espécies, bem como embasam ainda mais a necessidade de conservação deste gênero endêmico brasileiro.

A reconstrução de estados de caráter para proporção das larguras do ovário e pericarpelo, indica que o estado ancestral inferido para *Tacinga*, o qual foi herdado por *T. funalis* e *T. braunii*, é de um ovário ocupando quase metade da largura do pericarpelo floral, o que pode não conferir tanta proteção ao ovário/óvulos, corroborando o que foi discutido anteriormente. Já a razão pólen-óvulo sugere que o sistema reprodutivo em *T. funalis*, *T. inamoena* e *T. subcylindrica* é a xenogamia facultativa. Somente *T. palmadora* apresenta xenogamia obrigatória como sistema reprodutivo. Na xenogamia obrigatória a interação com polinizador precisa acontecer, aumentando as chances de diversidade genética das espécies. Não foi possível propor o tipo de sistema reprodutivo para a espécie *T. braunii* por falta de material vegetal. Além disso, o aumento na produção de óvulos, como observado no estado de caráter herdado por *T. inamoena*, garante maior sucesso reprodutivo da planta.

Especialmente em flores custosas, tais como as das tacingas, uma maior aptidão reprodutiva é alcançada quando há um elevado número de óvulos, por dois motivos, flores grandes, com grandes estigmas podem captar mais grãos de pólen, e o custo para produzir mais óvulos, nessa flor que já é custosa por si só, compensa. É mais vantajoso aumentar o número de óvulos do que produzir mais flores (FRIEDMAN; BARRETT, 2011).

Ainda sobre a questão do polinizador, é importante refletir sobre as recompensas florais. Por um lado, as plantas enfrentam o desafio de otimizar a quantidade de recompensa oferecida aos polinizadores e de impedir o acesso aos recursos florais por visitantes florais que apenas coletam recompensas, mas não polinizam; por outro lado, os polinizadores aprimoram estratégias para aumentar a exploração de recursos florais a seu favor, como morfológicos, comportamentais e/ou fisiológicos (VAN DER KOOI et al., 2021).

É fato que o grão de pólen é considerado uma valiosa recompensa floral. Quando analisamos a estimativa de grãos de pólen em *Tacinga*, temos *T. funalis* como uma das espécies que apresenta a menor quantidade de grãos de pólen estimada, o oposto do que ocorre com *T. palmadora*, que produz uma quantidade de grãos de pólen dez vezes maior. Nesse caso, a linhagem parte de um estado ancestral na qual uma menor recompensa floral é oferecida para um estado derivado onde há maior disponibilidade de recompensa floral, o que é consideravelmente interessante do ponto de vista do polinizador ou da estratégia reprodutiva. A interação flor-polinizador pode ser influenciada por diversos fatores bióticos e abióticos, como habitat e clima, morfologia vegetal e animal, antecedentes filogenéticos, entre outros (SCHLUMPBERGER, 2012). Não foi possível realizar a estimativa de grãos de pólen para a espécie *T. braunii* por falta de material vegetal, visto que a espécie tem floração anual, o que por si só já se torna um desafio, e a permanência em casa de vegetação pode ter interferido na floração.

Por fim, retomando a questão da condição anatômica da localização dos estômatos em *Tacinga*, é importante que seja feita uma investigação dos aspectos evolutivos e fisiológicos envolvidos com o surgimento dos estômatos elevados em *Tacinga*. Evidências sugerem que os estômatos afundados possuem um importante valor adaptativo para a conservação da água (DARLING, 1989). No entanto, a função adaptativa dos estômatos situados acima das demais células epidérmicas ainda não foi investigada. Outra característica anatômica que necessita de maiores investigações, compreende a presença de amplas câmaras subestomáticas observadas em todas as espécies de *Tacinga*. Pouco se sabe a respeito da função das grandes câmaras estomáticas observadas no caule e no pericarpelo das tacingas e outras cactáceas. Existe a hipótese de que a localização dos estômatos no topo dessas câmaras garante trocas gasosas mais rápidas, mas isso faria sentido se essa

troca ocorresse em um pequeno espaço de tempo (DARLING, 1989). Porém, os estômatos de cactos geralmente permanecem abertos por períodos de muitas horas (NOBEL, 1988). Outra hipótese sugere que a localização dos estômatos no topo das grandes câmaras subestomáticas permite um controle ambiental sensível e controle interno amortecido de abertura e fechamento do estômato (DARLING, 1989).

Na verdade, as grandes câmaras estomáticas podem simplesmente ser grandes ostíolos. Por serem plantas com metabolismo ácido das crassuláceas (metabolismo CAM), que é o mecanismo pela qual objetivo principal é evitar a perda de água durante a troca gasosa (CONDE, 1975), essas plantas mantêm os estômatos fechados durante o dia e abertos no período da noite (NISHIDA, 1963). Nesse caso, a transpiração nas cactáceas ocorre à noite. Considerando um vegetal suculento que demanda considerável balanço hídrico, tanto por armazenar água em todo o seu caule quanto por necessitar de um grande controle térmico devido a alta exposição ao calor, é compreensível que a planta demande um ostíolo maior para conseguir realizar a transpiração, especialmente por ocorrer à noite.

Desse modo, a localização dos estômatos acima da grande câmara estomática em *T. palmadora*, e o fato de estarem situados acima das demais células epidérmicas, pode estar relacionada a uma ampliação ainda maior da extensão da câmara estomática, ao mesmo tempo que exerce um maior controle na abertura e fechamento do ostíolo, de modo que as trocas gasosas ou a própria transpiração não interfira na função das células guarda, que é simplesmente abrir e fechar o ostíolo. O fato dos estômatos das cactáceas permanecerem abertos por muitas horas (NOBEL, 1988), pode fundamentar que a transpiração de plantas com metabolismo CAM, demandam mais tempo, especialmente pelo fato dos estômatos abrirem à noite, quando o calor é mais ameno, em regiões áridas e semiáridas, e a transpiração provavelmente é mais gradativa. Nas cactáceas, essa maior demanda de tempo para a transpiração pode implicar na necessidade de um ostíolo maior, no caso, ostíolo é a grande câmara subestomática. No entanto, a anatomia dos estômatos em *Cactaceae,* tomando o gênero *Tacinga* como modelo*,* requer estudos mais aprofundados.

5.5 Conclusão

Os resultados obtidos nesta pesquisa ampliam a compreensão morfoanatômica floral do gênero *Tacinga*, bem como fornecem importantes informações a respeito das estratégias reprodutivas no gênero. O trabalho traz ainda uma descrição comparativa detalhada da morfologia e fornece resultados sobre a anatomia floral de *Tacinga,* até então ainda não publicados. Essa junção de dados morfoanatômicos foram úteis para a reconstrução do estado ancestral das espécies e apresentam potencial de uso para a taxonomia do gênero, fornecendo embasamento para descrições de novas espécies. Por fim, a pesquisa apresenta ainda a reconstrução da filogenia de *Tacinga*, contendo oito das dez espécies descritas atualmente para o gênero, o que configura um avanço para a compreensão filogenética do grupo.

Referências

ANDERSON, E. F. **The cactus family**. Portland: Timber Press, 2001.

ARRUDA, E.; MELO-DE-PINNA, G. F.; ALVES, M. Anatomia dos órgãos vegetativos de Cactaceae da caatinga pernambucana. **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, p. 589-601, 2005.

CONDE, L. F. Anatomical comparisons of five species of Opuntia (Cactaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 62, p. 425-473, 1975.

CRUDEN, R. W.; LYON, D. L. Patterns of biomass allocation to male and female functions in plants with different mating systems. **Oecologia**, v. 66, n. 2, p. 299-306, 1985.

DARLING, M. S. Epidermis and hypodermis of the saguaro cactus (Cereus giganteus): anatomy and spectral properties. **American Journal of Botany**, v. 76, n. 11, p. 1698-1706, 1989.

FEDER, N. E. D.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v. 55, n. 1, p. 123-142, 1968.

FREITAS, J. G. et al. Novelties in Cactaceae from Eastern Brazil: Adding two new species and one new nothospecies to Tacinga (Opuntioideae). **Phytotaxa**, v. 490, n. 3, p. 239-252, 2021.

FRIEDMAN, J.; BARRETT, S.C H. The evolution of ovule number and flower size in wind-pollinated plants. **The American Naturalist**, v. 177, n. 2, p. 246-257, 2011.

GRIFFITH, M. P. The desert ignored: Early cactus evolution and interpretation. In: Symposium on the Natural Resources of the Chihuahuan Desert Region, 6., 2014, Fort Davis. **Proceedings…** Fort Davis, TX: Chihuahuan Desert Research Institute, 2014. p. 86–100. Disponível em: http://cdri.org/publications/proceedings-of-thesymposium-on-the-natural-resources-of-the-chihuahuan-desert-region/

GROSSE-VELDMANN, B. et al. *Rhipsalis* (Cactaceae) - loss and gain of floral rewards is mirrored in range sizes and distribution patterns of species. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 180, p. 491-503, 2016.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940.

LAMBERT, S. M. *Tacinga*: The hummingbird-pollinated prickly pear. **Cactus and Succulent Journal**, v. 81, p. 156–161, 2009.

LOCATELLI, E.; MACHADO, I. C. S. Comparative study of the floral biology in two Ornithophilous Species of Cactaceae: Melocactus zehntneri and *Opuntia palmadora*. **Bradleya**, v. 17, n. 17, p. 75–85, 1999.

MACHADO, M.; TAYLOR, N. A new subspecies of *Tacinga inamoena* (Cactaceae) from Eastern Bahia, Brazil. **Bradleya**, v. 21, p. 13–16, 2003.

MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. **Mesquite**: a modular system for evolutionary analysis. Versão 3.51. Los Altos, 2018. Disponível em: <http://www.mesquiteproject.org>. Acesso em: 30 jan. 2019.

MAJURE, L. C. et al. *Opuntia lilae*, Another *Tacinga* Hidden in *Opuntia s.l.* (Cactaceae). **Systematic Botany**, v. 38, n. 2, p. 444–450, 2013.

MAJURE, L. C. et al. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): Clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 5, p. 847–864, 2012.

MANDUJANO, M. C. et al. Reproductive biology of Cactaceae. **Desert plants**, p. 197-230, 2010.

MAUSETH, J. D. Anatomical features, other than wood, in subfamily Opuntioideae (Cactaceae). **Haseltonia**, v. 2005, n. 11, p. 113-125, 2005.

NAKATA, P. A. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. **Plant Science**, v. 164, n. 6, p. 901-909, 2003.

NASSAR, J. M. et al. Las cactáceas como elementos de caracterización de ambientes áridos y semiáridos en Venezuela. In: Medina, E.; Huber, O.; Nassar, J. M.; Navarro, P. (eds.). **Recorriendo el paisaje vegetal de Venezuela**. Caracas: Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, 2013. p. 97-123.

NISHIDA, K. Studies on Stomatal Movement of Crassulacean Plants in Relation to the Acid Metabolism. **Physiologia Plantarum**, v. 16, n. 2, p. 281-310, 1963.

Nobel, P. S. Environmental biology of agaves and cacti. **Cambridge University Press**, New York, 1988.

O´BRIEN, T. P.; McCULLY, M. E. **The study of plant structure**: principles and selected methods. Melbourne, Australia: Termarcarphi, 1981. 357 p.

PAIXÃO, V. H. F.; GOMES, V. G. N.; VENTICINQUE, E. M. Florivory by lizards on Tacinga inamoena (K. Schum.) NP Taylor & Stuppy (Cactaceae) in the Brazilian Caatinga. **Biota Neotropica**, v. 21, e20201109, 2021. doi:10.1590/1676-0611-BN-2020-1109

POSADA, D. jModelTest: phylogenetic model averaging. **Molecular Biology and Evolution**, v. 25, p. 1253-1256, 2008.

QUIRINO, Z. G. M. **Fenologia reprodutiva e aspectos ecológicos de cinco espécies simpátricas de cactaceae no cariri paraibano, Nordeste do Brasil**. 2006. 146 p. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J. P. Mr Bayes 3: Bayesian phylogenetic under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, p. 1572-1574, 2003.

SOUSA, M. P. et al. Pollen-feeding bees in *Uebelmannia pectinifera* subsp. *pectinifera*– reproductive biology of an endemic cactus from the *campo rupestre* of eastern Brazil. **Nordic Journal of Botany**, v. 39, n. 2, 2021.

SCHLUMPBERGER, B. O. A survey on pollination modes in cacti and a potential key innovation. In: PATINY, S. (ed.). **Evolution of plant-pollinator relationships**. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. p. 301-319.

STUPPY, W. Seed characters and the generic classification of the Opuntioideae (Cactaceae). In: Hunt, D. R.; Taylor, N. P. (eds.). **Studies in the Opuntioideae** (Cactaceae). Milborne Port: David Hunt, 2002. p. 25–58.

TAYLOR, N. P.; STUPPY, W.; BARTHLOTT, W. Realignment and revision of the Opuntioideae of Eastern Brazil. **Succulent Plant Research**, v. 6, p. 99–131, 2002.

TAYLOR, N. P.; ZAPPI, D. C. **Cacti of eastern Brazil**. Kew: The Royal Botanic Gardens, 2004.

TAYLOR, N.; ZAPPI, D. C. Additions and corrections to “Cacti of Eastern Brazil”. **Bradleya**, v. 36, p. 2–21, 2018.

TEIXEIRA, V. D. et al. Investigating the floral and reproductive biology of the endangered microendemic cactus *Uebelmannia buiningii* Donald (Minas Gerais, Brazil). **Folia Geobotanica**, v. 53, n. 2, p. 227-239, 2018.

VAN DER KOOI, C. J.; VALLEJO-MARÍN, M.; LEONHARDT, S. D. Mutualisms and (A) symmetry in plant–pollinator interactions. **Current Biology**, v. 31, n. 2, p. R91-R99, 2021.

WALLACE, R. S.; DICKIE, S. L. Systematic implication of chloroplast DNA sequence variation in subfam. Opuntioideae (Cactaceae). **Succulent Plant Research**, v. 6, p. 9-24, 2002.

ZAPPI, D.; TAYLOR, N.P. 2020. *Cactaceae*. In: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Flora do Brasil - 2020.** Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB1750>. Acesso em: 18 jan. 2022

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente dissertação investigou a morfologia e anatomia caulinar e floral no gênero *Tacinga*, visando a obtenção de caracteres morfoanatômicos úteis para a caracterização das espécies do gênero, compreensão de suas estratégias reprodutivas e de processos evolutivos relacionados a especiação no gênero.

Os estudos da morfologia caulinar e floral das espécies ofereceram uma caracterização detalhada destas que foram extremamente úteis para o entendimento da complexidade morfológica do gênero *Tacinga*. Os resultados referentes à morfologia apresentam ainda potencial de uso para a taxonomia do gênero, devido a identificação de novos caracteres informativos e variáveis que podem auxiliar na descrição de novas espécies do gênero.

Os estudos da anatomia revelam importantes diferenças anatômicas que podem estar relacionadas com estratégias reprodutivas distintas bem como com a adaptação das tacingas aos ambientes xéricos. Em adição, particularmente os resultados da anatomia floral são inéditos para o gênero, contribuindo para a compreensão das estruturas anatômicas florais do gênero e consequentemente da família Cactaceae. A junção dos dados morfoanatômicos foram relevantes para a reconstrução do estado ancestral das espécies e para discutir o relacionamento filogenético entre as espécies de *Tacinga*.

A reconstrução da filogenia engloba um número maior de espécies do gênero e propõe a existência de dois clados bem suportados. A reconstrução da filogenia associada a reconstrução de estados de caráter ancestrais corrobora o relacionamento próximo entre duas espécies anteriormente sugerido, bem como propõe que estômatos situados acima das demais células epidérmicas são uma sinapormofia de um dos clados do gênero. Além disso, a principal contribuição deste estudo de reconstrução filogenética com enfoque evolutivo refere-se à polinização no gênero *Tacinga*. Os resultados corroboram os possíveis polinizadores já relatados na literatura e propõe outros prováveis polinizadores.

Esta dissertação é constituída por uma pesquisa multidisciplinar, na qual conhecimentos em botânica, anatomia, ecologia, biologia reprodutiva e filogenia estão entrelaçados. As técnicas empregadas aqui envolvem análises microscópicas, moleculares, de observação em campo, morfométricas e morfológicas.