

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EVOLUTIVA
(Associação Ampla entre a UNICENTRO e a UEPG)

MICROSPOROGÊNESE E VIABILIDADE POLÍNICA DE PITANGUEIRA (*Eugenia uniflora* L.)
EM FRAGMENTOS DE FLORESTA OMBRÓFILA MISTA

DURINÉZIO JOSÉ ALMEIDA

Guarapuava

2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA EVOLUTIVA
(Associação Ampla entre a UNICENTRO a UEPG)

MICROSPOROGÊNESE E VIABILIDADE POLÍNICA DE PITANGUEIRA (*Eugenia uniflora* L.)
EM FRAGMENTOS DE FLORESTA OMBRÓFILA MISTA.

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva da Universidade Estadual do Centro-Oeste em associação com a Universidade Estadual de Ponta Grossa, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Biologia Evolutiva)

Guarapuava

2010

Catálogo na Publicação
Biblioteca UNICENTRO, Campus Guarapuava

A447 Almeida, Durinézio José
Microsporogênese e viabilidade polínica de pitangueira(*Eugenia uniflora L.*) em fragmentos de Floresta Ombrófila Mista. / Durinézio José Almeida. Guarapuava, 2010.
68f. : il
Digitado
Orientador: Prof. Dr. Marcos Ventura Faria
Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva
Dissertação(Mestrado em Ciências Biológicas) Universidade Estadual do Centro-Oeste / Universidade Estadual de Ponta Grossa, Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva, 2010

1. Biologia Evolutiva. 2. *Eugenia uniflora L.* - variabilidade genética
I. Título.

CDD 574

Orientador

Prof. Dr. Marcos Ventura Faria

Co-orientador

Prof. Dr. Paulo Roberto Da-Silva

Dedicatória

A minha esposa Ana Paula.

Aos meus filhos Mateus e Gustavo.

Aos meus irmãos Letícia e Bruno.

Ao meu pai Carlos.

E a minha mãe Nelzi (com muitas saudades).

Agradecimentos

Agradeço a Deus e a Virgem Maria por tudo e todos que fazem e fizeram parte da minha vida até aqui.

Aos meus pais, Carlos Roberto Almeida e Nelzi pedroso de Almeida, e à minha família, agradeço todo o amor, carinho, compreensão e respeito.

*Aos amigos da UNICENTRO, e a todos que passaram e passam pelo que eu passei :
ficar longe da família em busca de um ideal comum.*

A pesquisadora Fiorella Fernanda Mazine Capelo, pela identificação das plantas.

Ao amigo Huilquer Vogel que conhecido pessoalmente, deixou de ser o estranho para ser o amigo!.

Ao amigo Michel Almeida pela sempre pronta, vontade de ajudar.

Tenho muito a agradecer e a muitas pessoas. E se estes não estão aqui citados perdoem-me e saibam que estão marcados em minhas lembranças e emoções.

Meus agradecimentos especiais a:

Marcos Ventura Faria, por não ter sido somente meu orientador, mas meu amigo, obrigado pela compreensão, e paciência;

Paulo Roberto da Silva, pela amizade, companheirismo, dedicação e sinceridade nas palavras;

Maria Luisa Tunes Buschini e a Mauricio Moura, pelo voto de confiança, meus agradecimentos;

*A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho.
Muito obrigado a todos!*

Um feijão com arroz bem temperado agrada mais que escargots estragados.

(Cabeça)

Resumo

A *Eugenia uniflora* L. é uma mirtácea que apresenta um forte interesse econômico, o que tem levado, à exploração da espécie sem um planejamento adequado, tornando-se essenciais estudos ecológicos e genéticos para a espécie. A espécie é nativa da Mata atlântica, que atualmente encontra-se reduzida a pequenos fragmentos florestais, e a fragmentação desta floresta, por diminuir o número de indivíduos da população, favorece a perda de variabilidade genética. Guarapuava (Pr) é um município essencialmente agrícola e tem muito evidente o processo de fragmentação florestal dentro da sua topografia. Considerando a carência de uma revisão integradora para a *E. uniflora* L. e que a fragmentação florestal pode levar a uma perda na capacidade adaptativa, este trabalho teve como objetivos uma análise integradora dos trabalhos com *E. uniflora*, a análise da microsporogênese e da viabilidade polínica em quatro populações de pitangueiras, oriundas de fragmentos florestais, e correlacionar os dados gerados com o isolamento reprodutivo condicionado pela fragmentação. Com o levantamento da bibliografia disponível foi possível identificar uma carência de estudos básicos voltados para a ecologia e caracterização genética da espécie em contraste ao volume de trabalhos encontrados sobre o uso econômico da mesma. A microsporogênese foi estável nas plantas oriundas de três dos fragmentos avaliados, apresentando porcentagem de anormalidades nas fases da meiose, inferior a 4%. Estes fragmentos são conectados entre si por mata ciliar. Um dos fragmentos apresentou de 13% a 21% de anormalidades nas fases da microsporogênese, este fragmento está isolado dos demais e encontra-se cercado por áreas agrícolas. As metáfases I e II apresentaram cromossomos em ascensão precoce, as anáfases I e II pontes cromossômicas, a prófase II e as telófase I e II apresentaram micronúcleos. As tétrades apresentaram pentades para todas as populações e tríades para a população isolada. A viabilidade polínica foi alta, estando acima de 93% para os fragmentos conectados e 73% para o fragmento isolado. Os dados demonstram que a fragmentação florestal tem influência na meiose, pois a população de *Eugenia uniflora* do fragmento isolado apresentou maior porcentagem de anormalidades e menor índice de viabilidade polínica em relação às populações coletadas em fragmentos conectados.

Abstract

The *Eugenia uniflora* a member of Myrtaceae family presents a strong economic interest, this can lead to exploitation of the species without adequate planning. Thus become essential of studies of ecological and genetic aspects of the species. Forest fragmentation by reducing the number of individuals in a population favors the loss of genetic variability. Guarapuava, in the Brazil, is a predominantly agricultural county, is very evident the process of forest fragmentation within its topography. Considering the absence of a review on the species and that forest fragmentation can lead to a withering and this may have genetic effects on meiosis, this work aimed a specie review, analysis of microsporogenesis in four Brazilian cherry populations, coming from forest fragments, and to correlate genetic data with reproductive isolation. With the lifting of the available literature was possible to identify a lack of basic studies focused on the ecology and genetic characterization of the species in contrast to the volume of works found on the economical use. The chromosomes in metaphase I showed a precocious chromosomes, anaphase I with chromosome bridges, the metaphase II showed chromosomal plates with irregular orientation to telophase and tetrad showed pentads for all populations and triads for the isolated population. The microsporogenesis was stable for three fragments, presenting the percentage of abnormalities for the meiotic phases, less than 4%. These fragments are connected by riparian vegetation. One fragment showed 13% to 21% of abnormalities in the early stages of microsporogenesis, this fragment is isolated from others and surrounded by farmland. Pollen viability was above 93% for fragments connected and up to 73% for the isolated fragment. The data show that forest fragmentation has influence in meiosis, because the population of the isolated fragment showed a higher percentage of abnormalities and a lower index of pollen viability in relation to populations in fragments connected riparian vegetation.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

CAPÍTULO I.....	18
Figura 01 – Trabalhos publicados com <i>E. uniflora</i> e suas respectivas abordagens no período de 1960 a 2009.....	31
Figura 02 – Distribuição dos trabalhos desenvolvidos em <i>E. uniflora</i> de acordo com os objetivos e tipo de pesquisa.....	31
CAPÍTULO II.....	354
Tabela 1 - Resumo das características dos fragmentos onde foram coletadas as populações de <i>E. uniflora</i> e número de plantas amostradas em cada população.....	40
Figura 1 - Localização dos fragmentos onde foram coletadas as populações de <i>E. uniflora</i> utilizadas neste estudo, distâncias lineares entre os fragmentos e calha do rio das pedras conectando os fragmentos “B”, “C” e “D” por corredor de mata ciliar.....	42
Figura 2 – Células em diacinese das quatro populações de pitanga analisadas.....	43
Tabela 2 - Resultado da análise da microsporogênese em quatro populações de pitanga (<i>E. uniflora</i>) da Região Centro Sul do Paraná.....	46
Tabela 3 - Resultados da análise da viabilidade polínica em quatro populações de <i>E. uniflora</i> coletadas na Região de Guarapuava, Paraná nos anos de 2008/2009.....	46
Figura 3 - Aspectos da meiose em <i>Eugenia uniflora</i>	47
Figura 4 – Aspectos das fases finais da meiose e dos grãos de pólen em <i>Eugenia uniflora</i>	48
Figura 5 – Citomixia.....	49
Tabela 4 - Análise de variância para as amostras dos quatro fragmentos quanto a viabilidade polínica.....	49

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	12
RESULTADOS.....	18
CAPÍTULO I.....	18
CAPÍTULO II.....	18
ESTUDOS ECONÔMICOS, ECOLÓGICOS, TAXONÔMICO, E GENÉTICOS EM PITANGUEIRA REALIZADOS NO PERÍODO DE 1960 A 2010.	19
RESUMO	20
INTRODUÇÃO	21
CARACTERÍSTICAS TAXONÔMICAS	21
ECOLOGIA	24
USO ECONÔMICO	26
<i>Folhas</i>	26
<i>Frutos</i>	27
COMPOSTOS DE INTERESSE JÁ IDENTIFICADOS	27
GENÉTICA	28
<i>Básica</i>	28
<i>Molecular</i>	28
ASPECTOS AGRONÔMICOS.....	29
CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
CAPÍTULO II.....	35
MICROSPOROGÊNESE E VIABILIDADE POLÍNICA DE PITANGUEIRA (<i>EUGENIA UNIFLORA L.</i>) EM FRAGMENTOS DE FLORESTA OMBRÓFILA MISTA.	35
RESUMO	36
INTRODUÇÃO	37
MATERIAL E MÉTODOS	40
ANÁLISE DA MICROSPOROGÊNESE	41
RESULTADOS	44
DISCUSSÃO:	51
CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

Introdução

A *Eugenia uniflora* L., popularmente conhecida como pitangueira, é uma espécie pertencente à Família Myrtaceae nativa do bioma Mata Atlântica. Apresenta grande espectro ecológico e é amplamente distribuída no território brasileiro, sendo encontrada em variadas formações vegetacionais, desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul (LORENZI, 2000). Suas flores são andróginas, polistêmones, do tipo Papaver, generalistas, com grãos de pólen como único recurso floral sendo enquadradas dentro da categoria de "flores-pólen" (ROMAGNOLO, 2003; ROMAGNOLO & SOUZA, 2006; SILVA & PINHEIRO, 2007; FRANZON, 2008). Nesta espécie o grão de pólen é responsável não somente pela transferência dos caracteres genéticos, mas também por atrair os polinizadores. A antese é diurna, as flores duram apenas um dia e são visitadas por uma ampla variedade de insetos, incluindo Himenópteros, Dípteros, Coleópteros e Neurópteros. As abelhas são os visitantes mais comuns e, dentre elas, *Apis mellifera* L., é a mais freqüente e abundante, sendo considerado o polinizador efetivo.

A floração de *E. uniflora* é anual e em massa, ocorrendo de agosto a outubro, com frutificação de setembro a novembro (PROENÇA & GIBBS, 1994). Durante o período de antese, os grãos de pólen estão totalmente expostos, não havendo assim, quaisquer restrições a sua coleta, característica esta comum das flores generalistas (FAEGRI & PIJL, 1976; ENDRESS, 1994). Durante o processo de abertura floral o estigma já se encontra receptivo, pois neste momento suas papilas estão túrgidas e brilhosas (PROENÇA & GIBBS, 1994), a autopolinização é possível, mas a frutificação efetiva neste processo é de 6,4% (FRANZON, 2008) o que a caracteriza como uma planta dependente de agentes polinizadores.

Os frutos da pitangueira são bagas globosas a elipsóides com sete a dez sulcos longitudinais de coloração variada (ROMAGNOLO & SOUZA, 2006), possuem aroma característico intenso e sabor doce e ácido. No processo de maturação, o epicarpo passa de verde para amarelo, alaranjado, vermelho, vermelho escuro, podendo chegar até quase negro (BEZERRA *et al.*, 2002). A dispersão das sementes é zoocórica (CASTRO & GALETTI, 2004; BUDKE *et al.*, 2005) dependendo de animais para se disseminar, uma vez que o fruto é bastante atrativo, particularmente aos pássaros que comem as bagas regurgitando as sementes após quatro a cinco minutos.

Segundo BEZERRA *et al.* (2002) o cultivo da pitangueira vem crescendo em razão do uso dos frutos para preparo de polpa, suco, sorvetes, refrescos, geléias, licores e vinhos. SOUZA *et al.* (2007) destacam que a presença de antocianinas aliada aos teores de flavonóides e carotenóides totais, na pitanga, fazem dela uma fonte promissora de compostos antioxidantes e ressaltam que seu cultivo deveria ser estimulado. Os autores relatam ainda que a maioria dos pomares existentes não utiliza cultivares definidas e que estes são geralmente provenientes de plantas propagadas por sementes. Em decorrência da utilização desse tipo de propagação, os pomares formados têm plantas desuniformes, de baixa produtividade, dando origem a frutos de má qualidade. Assim, é necessário um estudo mais aprofundado dos aspectos reprodutivos da *E. uniflora*, o que permite organizar as ações de melhoramento genético sem, no entanto, afetar a preservação e manutenção da pitangueira.

COSTA (2004) observou em *E. uniflora* número de cromossomos, em diacinese, de $X = 11$, entretanto o autor relata a ocorrência de citotipos com variação no número de cromossomos. STEBBINS (1971, 1980) afirma que mais de 30 % de todas as espécies de plantas do planeta sofreram especiação por fenômenos de poliploidização. Esta

estimativa é revista por GRANT (1971) para 40%, por LEWIS (1980) para 65%, por GOLDBLATT (1980) 70% e finalmente por LEITCH & BENNET (1997) que, baseados em bancos de dados genéticos disponíveis na época, elevaram este número para 95% das pteridófitas e até 80% das angiospermas. Percebe-se que a poliploidização foi importantíssima na evolução das plantas e na sua disseminação, pois os poliplóides são em geral bons colonizadores agindo como plantas pioneiras (STEBBINS, 1971). OTTO & WHITTON (2000) afirmam que mudanças no número de cromossomos podem representar de dois a dez por cento dos eventos de especiação e que este seria o modo predominante de especiação simpátrica. É aceito por grande parte dos pesquisadores de evolução em plantas que os fenômenos de poliploidia surgem pela união de gametas não reduzidos. Estes são decorrentes de erros na meiose, assim, a análise citogenética de uma espécie pode gerar informações importantes sobre sua evolução. A observação do número e da morfologia dos cromossomos mitóticos e do seu comportamento na meiose têm se tornado um dos mais importantes instrumentos para a compreensão das relações de parentesco e dos mecanismos de evolução cromossômica, tanto dentro de categorias taxonômicas inferiores (Espécies, Gêneros) quanto em níveis superiores (Famílias, Divisões), permitindo identificar diferentes linhas evolutivas (STEBBINS, 1971, 1980; SILVA, 2007).

A fragmentação florestal tem como principais efeitos a redução de tamanho populacional e o isolamento das populações remanescentes causando mudanças na história evolutiva das espécies (YOUNG & BOYLE, 2000; VIANA *et al.*, 1992 BIERREGAARD *et al.*, 1992, 1995) principalmente pela alteração das frequências alélicas e redução do fluxo gênico. Isto leva a alterações na variabilidade e estrutura genética das populações do fragmento culminando em uma limitação evolutiva pela perda da

variabilidade genética e conseqüentemente diminuição da capacidade adaptativa (YOUNG & BOYLE, 2000).

De maneira geral o efeito causado pela fragmentação pode levar ao aumento nos cruzamentos endogâmicos, o que para alguns autores pode levar a depressão reprodutiva (FERREIRA *et al.*, 2002; ESTOPA *et al.*, 2007; PAIVA *et al.* 2006; AULER *et al.*, 2006; MARIANO *et al.*, 2007), ocasionando diminuição na produção de grãos de pólen viáveis, o que para a *E. uniflora*, pode significar uma menor frutificação.

A produção de grãos de pólen viáveis, que em parte garante o sucesso evolutivo da espécie, está condicionada a uma meiose regular. Segundo RICCI *et al.* (2007) a meiose é um evento de elevada estabilidade evolucionária pois está diretamente relacionada ao número de cromossomos nos gametas. Para estes autores a depressão reprodutiva está diretamente ligada a erros no andamento das fases da meiose. Segundo PAGLIARINI *et al.* (2002) estes erros podem ser ocasionados por fatores ambientais e ou genéticos. Quando uma planta alógama, que naturalmente apresenta a maioria dos genes em heterozigose, é submetida à autofecundação ou a cruzamentos com algum nível de endogamia, muitos genes, incluindo aqueles envolvidos no controle da meiose, se expressam em homozigose. A presença destes genes em homozigose, em plantas alógamas, pode levar a irregularidades na microsporogênese que podem resultar na redução da viabilidade polínica.

Guarapuava é um município localizado no Centro Sul do Paraná, essencialmente agrícola, que apresenta muito evidente a fragmentação florestal dentro da sua delimitação. Estes fragmentos estão geralmente ilhados por áreas agrícolas, e poucos se

apresentam conectados de alguma forma e, quando isto ocorre, a conexão se faz pela manutenção da mata ciliar imposta pela legislação.

Em 2004 a empresa de Saneamento do Paraná (Sanepar) mapeou, com fotos de satélite, a bacia do Rio Jordão para o programa de recuperação de matas ciliares. Este mapeamento possibilitou identificar tanto fragmentos de floresta Ombrofila mista conectados por mata ciliar como fragmentos totalmente isolados. Alguns destes fragmentos quando visitados em loco apresentaram populações de pitangueiras na sua composição vegetal.

Considerando que há uma elevada importância econômica para a *E. uniflora* e que a fragmentação florestal pode levar à perda de viabilidade reprodutiva em espécies isoladas, e que existe uma carência de estudos neste sentido para a espécie, este trabalho teve como objetivo levantar e correlacionar dados citogenéticos com fatores ecológicos, a fim de inferir os efeitos da fragmentação na microsporogênese em plantas de populações de pitangueiras.

Objetivos

Objetivo geral

Levantamento bibliográfico sobre pesquisas realizadas com *Eugenia uniflora* e análise da microsporogênese em plantas de populações de pitangueiras em fragmentos florestais na região Centro Sul do Paraná

Objetivos específicos:

1. Identificar a espécie de pitanga com ocorrência em quatro fragmentos florestais da Região de Guarapuava-PR;
2. Realizar levantamento bibliográfico e uma análise integradora dos estudos realizados com *Eugenia uniflora* L.
3. Analisar a microsporogênese nas populações de pitangueiras em estudo e correlacionar os dados citogenéticos obtidos com a fragmentação florestal.

Resultados

Os resultados estão organizados em dois capítulos conforme segue:

Capítulo I

Estudos econômicos, ecológicos, taxonômicos, e genéticos em pitangueira realizados no período de 1960 a 2010.

Capítulo II

Microsporogênese e viabilidade polínica de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) em fragmentos de floresta Ombrófila Mista.

CAPÍTULO I

Estudos econômicos, ecológicos, taxonômico, e genéticos em pitangueira realizados no período de 1960 a 2010.

Resumo

Os primeiros trabalhos publicados com pitangueira concentraram-se na caracterização histológica com objetivos taxonômicos. Os dados gerados com estes trabalhos mostram que a identificação da espécie, assim como do gênero, não é possível com caracteres morfológicos externos. A principal característica usada na identificação da espécie é a posição do embrião e o número de cromossomos. Os estudos ecológicos são poucos e procuram elucidar a distribuição da espécie e o comportamento da mesma quanto à reprodução com destaque para polinizadores e dispersores. Os trabalhos com finalidade de exploração econômica abordam a importância das folhas e frutos, com ênfase principalmente nos compostos ativos das folhas para uso como fármacos, e para extração de óleos essenciais. Sobre os frutos são abordados seu uso no preparo de geléias, doces e bebidas. Os aspectos agrônômicos da espécie são abordados em estudos de identificação de genótipos comerciais e sobre técnicas de plantio e enxertia. Os dados genéticos são escassos e os poucos disponíveis trazem informações de diversidade genética e número de cromossomos. Após a análise de bibliografia disponível foi possível identificar uma carência de estudos básicos voltados para a ecologia e caracterização genética básica da espécie em contraste ao volume de trabalhos encontrados sobre o uso econômico. Foi detectado interesse econômico forte na espécie, porém isso pode levar à sua exploração sem um planejamento adequado. Assim tornam-se essenciais estudos relacionados a aspectos ecológicos e genéticos da espécie. Estes dados podem auxiliar no planejamento de exploração racional da espécie, além de serem informações úteis a melhoristas para obtenção de cultivares de alto valor econômico.

Palavras-chave: *Eugenia uniflora* L., fitossociologia, variabilidade genética, polinização, dispersão, aspectos agronômicos.

Introdução

A crescente demanda da humanidade por novos compostos que tenham uso prático tem levado cientistas a uma procura por princípios ativos inovadores, os conduzindo a garimpar nas florestas, produtos e genes de interesse. Este fenômeno tecnicista disseminou nos últimos anos o uso de plantas silvestres, outrora marginalizadas, na agricultura e na produção industrial. Dentre as principais redescobertas até então trabalhadas, encontra-se com especial expressividade o gênero *Eugenia* e, em particular, a espécie *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae).

Popularmente conhecida no Brasil como pitangueira a *E. uniflora* L., tem sido estudada principalmente quanto aos seus múltiplos usos para o homem e, na atualidade, sua exploração e cultivo são crescentes. Com perspectivas futuras de exploração comercial em grande escala, se fez necessário uma compilação dos conhecimentos disponíveis até o momento a cerca da espécie. Esta revisão integra as informações disponíveis até o presente sobre as características taxonômicas, ecológicas, genéticas e de uso econômico desta espécie.

Características Taxonômicas

Eugenia uniflora L. é uma mirtácea, perene, de porte arbóreo, que possui inflorescências racemosas com flores pediceladas inseridas nas axilas foliares (ANGELY, 1965; ROMAGNOLO & SOUZA, 2006; SILVA & PINHEIRO, 2007). Os trabalhos de

biologia floral caracterizaram suas flores como do tipo Papaver, generalistas, com grãos de pólen como único recurso floral atrativo para os polinizadores, sendo enquadradas dentro da categoria de "flores-pólen", o que segundo ROMAGNOLO & SOUZA (2006) é característico das plantas deste gênero. Dados morfológicos mostraram que o ovário da espécie é bilocular apresentando 18 a 20 óvulos por lóculo (ROMAGNOLO & SOUZA, 2006). No entanto, observações a campo mostram que, em geral o fruto apresenta somente 2 a 3 sementes, o que leva a inferências sobre a existência de sistemas degenerativos para os demais óvulos, ou a uma restrição na fecundação. O estigma é único, formado por papilas delgadas e se apresenta acima dos estames (ROMAGNOLO & SOUZA, 2006; SILVA & PINHEIRO, 2007; FRANZON, 2008), podendo representar um mecanismo de controle da autofecundação.

Trabalhos de morfologia externa mostram que a lâmina foliar das folhas adultas é glabra, membranácea, concolor a discolor. As folhas são simples ovaladas, providas de pontos translúcidos que são observados contra fonte luminosa (ROMAGNOLO & SOUZA, 2006). Segundo JORGE *et al.*, (1994) o padrão de nervura foliar é peninérveo, camptódromo-broquidódromo, em que as nervuras secundárias se anastomosam, desde a base da folha, e formam uma série de arcos próximos ao bordo com os arcos ou laços broquidódromos podendo ser mais ou menos proeminentes. Ao verificar a histologia da lâmina foliar CARDOSO & SAJO (2006) verificaram que os idioblastos contêm drusas e cristais prismáticos ou romboédricos. Estes cristais estão presentes também no clorênquima do pecíolo, onde também, observam-se cavidades secretoras de compostos de natureza fenólica no interior das células. Estas observações são de interesses econômicos principalmente quanto a variedades com maior produção dos óleos essenciais nestas estruturas. Ainda, segundo estes autores, as folhas são

hipoestomáticas apresentando estômatos paracíticos, o que é um parâmetro que pode ser utilizado na identificação da espécie, é raro a presença de tricomas tectores e de glândulas subepidérmicas. Quanto à epiderme abaxial, em *E. uniflora* as células são de contorno sinuoso, estômatos paracíticos. Cortes transversais mostram os estômatos no mesmo nível que as demais células epidérmicas, com grande cavidade subestomática (LORCA, 1995; CORTADI *et al.*, 1996; ALVES *et al.*, 2008).

O fruto é uma baga, globosa a elipsóide com sete a dez sulcos longitudinais de 1,5 a 5,0 cm de diâmetro. Os frutos apresentam variação morfológica tanto no tamanho quanto na sua coloração, o que leva a inferências de alta variabilidade genética. Os embriões são do tipo eugenióide, o que caracteriza o gênero, e apresentam cotilédones globosos, carnosos, conferruminados com linha de separação presente entre os cotilédones, mas com eixo hipocótilo-radícula pouco desenvolvido (ROMAGNOLO & SOUZA, 2006). O aroma do fruto é característico e intenso com sabor doce e ácido. No processo de maturação, o epicarpo passa de verde para amarelo, alaranjado, vermelho, vermelho escuro, podendo chegar até quase negro (BEZERRA *et al.*, 2002).

SOFFIATTI & ANGYALOSSY-ALFONSO (1999) estudando a morfologia do lenho, relataram que o lenho de *E. uniflora* é caracterizado pela baixa concentração dos vasos, exclusivamente solitários (90%), que possuem placa de perfuração simples com pontuações intervasculares alternas e guarnecidas. Estes autores relatam ainda a observação de inclusões orgânicas, sob a forma de substância de coloração acastanhada em algumas células do parênquima radial e também inclusões inorgânicas representadas por cristais prismáticos em células do parênquima axial.

Ecologia

Os estudos ecológicos com pitanga concentram-se em biologia floral, dispersão e distribuição. A espécie encontra-se amplamente distribuída no território brasileiro, sendo abundante nos extratos inferiores da Floresta Ombrófila Mista, onde atua na regeneração natural (DONADIO *et al.*, 2002; MAUHS, 2004; PIROLE & CHAFE, 2003; BARDDAL *et al.*, 2004; DIAS, *et al.*, 2004; KOZERA *et al.*, 2006; PIROLE & TERRA, 2008). Estes dados mostram a importância da espécie em planejamentos de recuperação de áreas degradadas. É encontrada também nas formações características de mata ciliar (LORENZI, 2000; BUDKE *et al.*, 2004; DIAS *et al.*, 2004; FRANCO *et al.*, 2009) em florestas características de ilhas da costa litorânea (FERREIRA *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2008), em florestas estacionais semidecíduais (IVANAUSKAS *et al.*, 2000; PAULA *et al.*, 2007; RODRIGUES & GALVÃO, 2006), na caatinga (SANTOS & SANTOS, 2004) na restinga (BRAGA, 1985; AFONSO, 2007), atuando em florestas secundárias em processo de sucessão (CÂNDIDO JUNIOR, 1993) e como componente vegetal de faxinais (PEREIRA *et al.*, 2009).

A dispersão da pitangueira é zoocórica (CASTRO & GALETTI, 2004; BUDKE *et al.*, 2005), no entanto existe uma carência de trabalhos sobre esse assunto e conseqüentemente poucos são os animais caracterizados como dispersores. O trabalho de CASTRO & GALETTI (2004) com lagartos Teiú é a única referência clara ao processo de dispersão zoocórica, no entanto, BUDKE *et al.* (2004, 2005) relatam a dispersão por pássaros, porém não especificam quais seriam as espécies efetivas no processo.

SILVA & PINHEIRO (2007) relatam que a antese em pitangueira é diurna, as flores duram apenas um dia e são visitadas por uma ampla variedade de insetos, incluindo himenópteros, dípteros, coleópteros e neurópteros. As abelhas são os visitantes

mais comuns e, dentre elas, *Apis mellifera* L. é a mais freqüente e abundante, sendo considerada a polinizadora efetiva. Segundo ERBER *et al.* (1980) a *Apis mellifera* atua em um raio de 3,5 Km na procura por pólen, o que pode levar a implicações evolutivas para a *E. uniflora*, uma vez que o raio de atuação de seu polinizador efetivo pode limitar o fluxo gênico entre populações. O início da antese se dá logo ao amanhecer, por volta das 5h:30min e se estende durante todo o dia (PROENÇA & GIBBS, 1994). Durante o período de antese, os grãos de pólen estão totalmente expostos, não havendo assim, quaisquer restrições à sua coleta, característica esta comum das flores generalistas (FAEGRI & PIJL, 1979; ENDRESS, 1994). Durante o processo de abertura floral o estigma já se encontra receptivo, pois neste momento suas papilas estão túrgidas e brilhosas (PROENÇA & GIBBS, 1994). A autopolinização é possível, mas a frutificação efetiva neste processo é de 6,4% (FRANZON, 2008). Já para PELACANI *et al.* (2000) a *E. uniflora* é totalmente autoincompatível. Estes dados mostram que são necessárias investigações mais detalhadas para elucidar totalmente este processo. A floração é anual e em massa ocorrendo de agosto a outubro, com frutificação de setembro a novembro. No entanto, alguns autores relatam florações esparsas durante todo o ano e variações quanto a influências ambientais na época de florescimento (PELACANI *et al.*, 2000; FRANZON, 2008). Esta observação leva a inferências sobre a plasticidade e variabilidade genética da espécie.

As pitangueiras possuem ciclo de vida semidecidual, são heliófitas e higrófitas, e o período de germinação das sementes pode variar de 20 a 50 dias (BEZERRA *et al.*, 2002; QUINTÃO SCALON *et al.*, 2001).

Uso econômico*Folhas*

As folhas de pitangueira têm sido largamente utilizadas como diurético (AMAT & YAJÍA, 1991; CONSOLINI *et al.*, 1999; FETROW & ÁVILA, 1999), antimicrobiano (ADEBAJO *et al.*, 1989; HOLETZ *et al.*, 2002; COELHO DE SOUZA *et al.*, 2004; PEREIRA *et al.*, 2009) e também como antifúngico (SOUZA *et al.*, 2007; HOLETZ *et al.*, 2002). Extratos hidroetanólicos da *E. uniflora* inibem o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Echechiria coli*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicali* e, ainda, apresentam atividade contra *Trypanosoma congolense* (doença do sono) (ADEWUNMI *et al.*, 2001). Estes extratos tem se mostrado eficientes também no tratamento de diversas enfermidades como febre, doenças estomacais, hipertensão e obesidade (BANDONI *et al.*, 1972; ALICE *et al.*, 1991; GBOLADE *et al.*, 1996; SCHMEDA-HIRSCHMANN *et al.*, 1987; WYERSTAHL *et al.*, 1988; VENDRUSCOLO & MENTZ, 2006), reumatismo (ALICE *et al.*, 1991), bronquite (RIVERA & OBON, 1995), com atividade calmante (CONSOLINI & SARUBBIO 2002) e antiinflamatória (SCHAPOVAL *et al.*, 1994). Observou-se após administração destes extratos por via oral, vaso-relaxamento dos anéis da aorta torácica, vasodilatação e atividade diurética (ALMEIDA *et al.*, 1995; CONSOLINI *et al.*, 1999) e inibição da DNA polimerase (LEE *et al.*, 1997). Também foi observada inibição da digestão de açúcares e gorduras, reduzindo a absorção gastrointestinal destes nutrientes, o que pode ser eficiente no tratamento de diabetes e obesidade (ARAI *et al.*, 1999; MARGIS *et al.*, 2000; MATSUMURA *et al.*, 2000). Porém, apesar da atividade cardiovascular, estes extratos podem apresentar riscos para pacientes com arritmia cardíaca (CONSOLINI & SARUBBIO, 2002). Quanto à toxicidade do extrato hidroalcoólico de folhas de *E. uniflora* não foram verificados efeitos tóxicos em

doses até 4,2 g kg⁻¹ (SCHMEDA-HIRSCHMANN *et al.*, 1987) por via oral e de 220 mg kg⁻¹ por via intraperitoneal. O DL 50 (dosagem letal para 50% das cobaias) é de 5,93 g kg⁻¹ de peso do animal (AURICCHIO, 2001; AURICCHIO & BACCHI, 2003).

Frutos

A composição centesimal dos frutos da pitangueira consta de água (90%), resíduo mineral (0,28%), lipídios (0,23%), proteínas (0,76%), fibras (2,10%), carboidratos totais (8,26%), valor calórico (30 kcal 100g⁻¹). Ainda, o teor de vitamina A é de 990 mcg 100g⁻¹ (VISOTTO, 2006).

Extratos das frutas da pitangueira, assim como das folhas, também demonstraram ter alta atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Providencia spp.*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus spp.*, confirmando também a ausência de inibição de *Pseudomonas aeruginosa* (AURICCHIO & BACCHI, 2003). A utilização do fruto varia de preparo de polpa e suco, como também para a fabricação de sorvetes, refrescos, geléias, licores e vinhos (LEDERMAN *et al.*, 1992; BEZERRA *et al.*, 1995, 1997, 2002, 2004).

Compostos de interesse já identificados

Os trabalhos realizados com extração de compostos químicos da *E. uniflora*, identificaram a presença de óleos essenciais sesquiterpenos, germacreno e selina trienona (RÜCKER , 1977; ALICE *et al.*, 1991; MORAIS *et al.*, 1996, DELLACASSA *et al.*, 1997; MAIA *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 1999; ADEOYE, 2006), eugeniflorinas D1 e D2, pentahidroxiindolizidina (LEE *et al.*, 1997; AURICCHIO & BACCHI, 2003) β-caroteno, vitamina C e vitamina E, licopeno, rubixantina, cisrubixantina, α-criptoxantina, cis-

licopeno, α -caroteno, zeaxantina, luteína, violaxantina e α -caroteno-5,6-epóxido (WANG *et al.*, 1996; RICE-EVANS *et al.*, 1996; AZEVEDO-MELEIRO & RODRIGUEZ-AMAYA, 2004), antocianinas (SATUÉ-GRACIA *et al.*, 1997; WANG *et al.*, 1997; LIMA *et al.*, 2000; ESPÍN *et al.*, 2000; KALT *et al.*, 2000; EINBOND, 2004) miricitrina, quercetina e seus quercitrina 3-l-ramnosídeos (SCHMEDA-HIRSCHMANN *et al.*, 1987).

Genética

Básica

O número de cromossomos de *E. uniflora* foi descrito por COSTA (2004) como sendo uma espécie diplóide com $n=11$ e $2n=22$. Outra espécie que é extremamente similar na morfologia com a *E. uniflora* é a *E. pitanga* (ANGELY, 1968). No entanto, segundo COSTA (2004) *E. pitanga* apresenta número de cromossomos $n=22$ e $2n=44$. A semelhança morfológica torna muito difícil a correta identificação de acessos, sendo o número de cromossomos, obtido por técnicas citogenéticas o parâmetro preponderante para a identificação. A carência de estudos na área de citogenética da espécie leva a crer que muitas amostras são erroneamente identificadas. Quando se trata de estudos meióticos, não há nenhum trabalho publicado com *E. uniflora*.

Molecular

A pitanga é uma planta que concentra em suas folhas grande quantidade de polifenóis, o que tem limitado muito o número de trabalhos com técnicas moleculares. NOGUEIRA *et al.* (2007) utilizando marcadores AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) analisaram acessos oriundos de diferentes regiões geográficas e obtiveram alto nível de polimorfismo (98%). SLAVIEIRO *et al.* (2009) estudando

populações no Rio Grande do Sul encontrou 92% de polimorfismo em duas populações. MARGIS (2000) usando marcadores AFLP obteve 91 % de polimorfismo em populações do Rio de Janeiro, FRANZON (2008) usando a mesma técnica em duas populações do banco de germoplasma da Embrapa Clima Temperado obteve 64% dos loci polimórficos, o que se aproxima dos dados de SALGUEIRO *et al.* (2004) com 78,05% de polimorfismo nas populações amostradas. Estes dados evidenciam altíssima variabilidade genética interpopulacional na espécie.

NOGUEIRA *et al.* (2007) analisaram 72 clones genômicos de *E. uniflora* quanto a similaridades com seqüências disponíveis em bancos de dados dos genomas de *Arabidopsis* e *Eucalyptus*. Do total de seqüências disponíveis, 44 apresentaram homologia significativa. Quando analisadas as seqüências de *E. uniflora* contra o banco de dados de ESTs (seqüência de espaçadores transcritos) de *Eucalyptus*, ambas espécies pertencentes a família Myrtaceae, elevados valores de identidade (superior a 90%) foram encontrados para as seis seqüências.

Aspectos agronômicos

A maioria dos pomares de pitanga existentes não utiliza cultivares definidas e são geralmente provenientes de plantas propagadas por sementes, resultando em grande heterogeneidade (BEZERRA *et al.*, 2004). Ao avaliar 122 acessos de pitangueira da Zona da Mata Norte de Pernambuco, em condições de sequeiro, BEZERRA *et al.* (2004) relacionaram dez genótipos com elevado potencial produtivo e boas características agronômicas. Após avaliação clonal, o acesso IPA-2.2 foi lançado como a primeira cultivar comercial brasileira de pitanga, sob a denominação de “Tropicana”, a qual apresenta como principais vantagens a alta produção por planta (20,8 kg de frutos/ano

média de dez anos), peso médio do fruto variando de 3g a 4,5g, polpa avermelhada e relação SST/Acidez (sólidos solúveis totais/acidez) de 4,1 (IPA, 2000). O manejo agrônomico do pomar de pitangas foi definido por BEZERRA (1997), na Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária e as técnicas de enxertia foram pesquisados neste instituto (BEZERRA *et al.*, 2002) e pela Embrapa Clima Temperado (Rio Grande do Sul) (FRANZON, 2008). Os melhores resultados quanto ao tipo de enxertia foram obtidos com a garfagem no topo em fenda cheia, com 60 % de pegamento, sendo a melhor época para realizá-la em setembro. Como porta enxertos recomenda-se utilizar a própria pitangueira e também o guabijuzeiro (*Myrcianthes pungens* (Berg) Legr.) com igual porcentagem de pegamento, recomendando o ensacamento do material enxertado (FRANZON, 2008). Quanto à irrigação BEZERRA *et al.*(2004) encontraram uma boa adaptação do sistema de gotejamento, tanto para as características de crescimento como de produção e qualidade do fruto.

QUINTÃO SCALON *et al.* (2001) avaliaram a porcentagem de germinação das sementes de pitangueira em condições de pleno sol e de sombreamento e consideraram a espécie de fácil propagação por sementes, apresentando 65,7% de germinação iniciadas aos 23 dias após a sementeira, e que a melhor porcentagem de germinação ocorreu em pleno sol.

Considerações finais

Os trabalhos de fitossociologia que registraram a presença de *Eugenia uniflora* demonstram tratar-se de uma mirtácea com grande espectro ecológico, e bem distribuída no território brasileiro, sendo encontrada em variadas formações vegetais. Tomando como base os dados da literatura foi possível inferir que a pitangueira é uma espécie

robusta que pode prosperar em uma ampla variedade de habitats, podendo ser encontrada em diferentes tipos de vegetação e ecossistemas, incluindo as florestas, restingas, e ambientes semiáridos. A dispersão zoocórica das sementes, aliada à plasticidade de ambientes aos quais pode se adaptar, revela um grande potencial de disseminação da espécie. Em geral, é uma espécie adaptável a todas as condições do solo que não estão sujeitas a inundações. Vários são os trabalhos que relacionam a pitangueira como componente vegetal da Mata Atlântica e de outros ecossistemas. Trabalhos aqui referenciados embora variados quanto ao habitat avaliado, tem em comum o fato, de que os pesquisadores encontraram uma expressividade maior de plantas jovens nos seus levantamentos, o que leva a inferências sobre a importância da espécie na recomposição florestal atuando na recomposição de áreas degradadas pela característica de planta pioneira.

Os trabalhos sobre a ecologia da espécie são escassos (Figura 01) sendo concentrados na floração e polinização. Dos trabalhos aqui relacionados, o primeiro data da década 1970, sendo a espécie estudada novamente na década de 1990 e no ano de 2005, com duas publicações em cada período. Quantitativamente as pesquisas sobre a ecologia e sobre a genética da espécie representam apenas 11 % do total de trabalhos publicados (Figura 2). Estes dados são insuficientes, uma vez que dados ecológicos e da

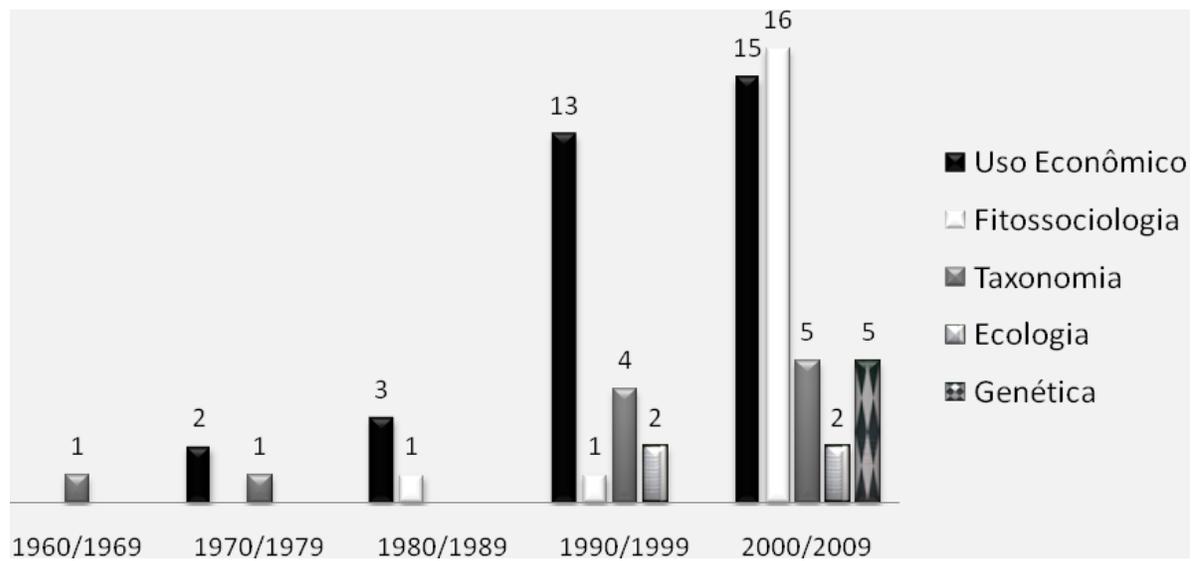


Figura 01 – Trabalhos publicados com *E. uniflora* e suas respectivas abordagens no período de 1960 a 2009.

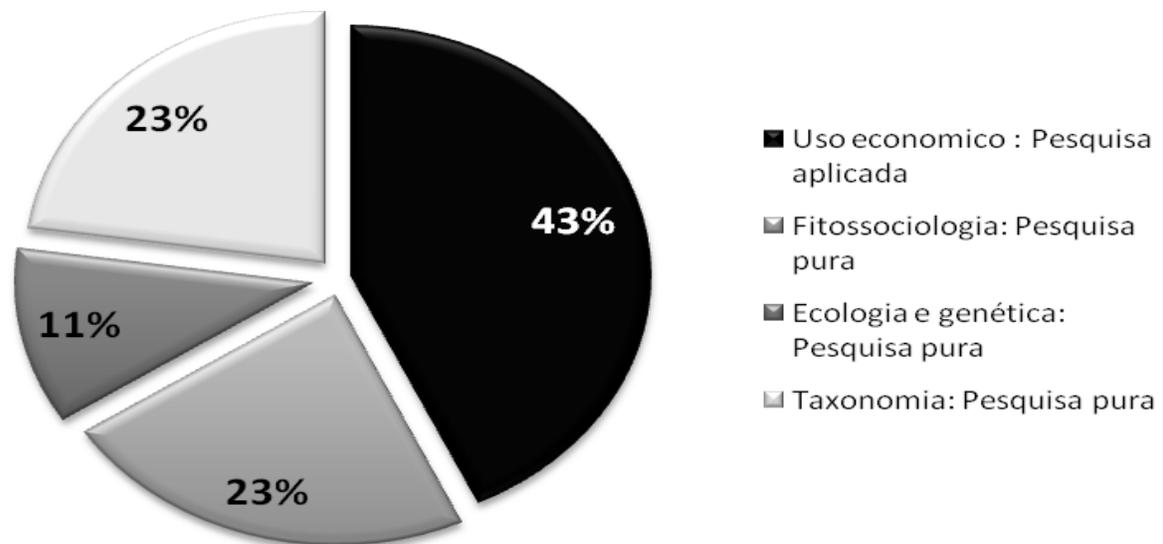


Figura 02 – Distribuição dos trabalhos desenvolvidos com *E. uniflora* de acordo com os objetivos e tipo de pesquisa.

variabilidade genética são determinantes para ações conservacionistas e para o melhoramento genético visando o cultivo e exploração comercial.

A diferenciação taxonômica é bastante clara, no entanto trabalhosa e os estudos referentes a arranjo dos estômatos e a posição destes em relação às demais células da epiderme e a morfologia do lenho, associados aos estudos da forma do embrião e a morfologia da folha, eliminam muito das possíveis dúvidas taxonômicas. Cabe dar especial ênfase a dificuldade em diferenciar *E. uniflora* de *E. pitanga*, que é possível em nível citogenético como descrito por COSTA (2004), sendo que a *E. pitanga* (com 44 cromossomos) apresenta o dobro de cromossomos que a *E. uniflora*.

Economicamente a *E. uniflora* é pouco explorada, com somente uma cultivar (Tropicana, IPA) bem definida. Assim, para o desenvolvimento de novas cultivares, estudos de variabilidade são extremamente necessários, especialmente pelo apelo comercial que a espécie oferece, tendo inúmeros usos tanto do fruto, como de metabólitos secundários com efeitos farmacológicos e cosméticos.

Embora sendo uma espécie pouco explorada, as pesquisas aplicadas representam 43 % do total de publicações (Figura 02), com especial ênfase ao foco econômico, especialmente as pesquisas com compostos de interesse farmacológico.

Com relação a aspectos genéticos a espécie ainda é pouco estudada, com somente quatro artigos publicados até o momento (Figura 01), merecendo estudos mais aprofundados, sobretudo quanto aos aspectos evolutivos e das respostas genéticas a pressões ambientais.

Pelo grande potencial econômico da espécie há uma concentração maior de artigos abordando seu uso econômico, sobretudo no caso dos princípios ativos presentes na planta. Montagem de bancos de germoplasmas, caracterização de variedades, e

estudo das respostas das plantas aos diferentes climas e condições de solo são necessários neste processo de domesticação e devem ser objetivos de futuras pesquisas com a *E. uniflora*.

A análise integradora dos artigos aqui referenciados revela que a *E. uniflora* tem elevado apelo comercial, e que o número de artigos publicados com a espécie cresce a cada ano.

Referências Bibliográficas

As referências citadas neste capítulo estão listadas ao final da dissertação em um único tópico com todas as demais referências.

Capítulo II

Microsporogênese e viabilidade polínica de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) em fragmentos de floresta Ombrófila Mista.

Resumo

A fragmentação de habitat, por diminuir o número de indivíduos de uma população, favorece a perda de variabilidade genética. Guarapuava no interior do Paraná é um município essencialmente agrícola e tem muito evidente o processo de fragmentação florestal dentro da sua delimitação. Considerando que essa fragmentação pode levar a uma depressão genética e esta pode ter efeitos na meiose, este trabalho teve como objetivos a análise da microsporogênese em quatro populações de pitangueiras, oriundas de fragmentos florestais, e correlacionar dados genéticos gerados com isolamento reprodutivo. Para a análise da microsporogênese foram amostradas 16 a 20 plantas de cada fragmento e destas 9.000 células analisadas. Para viabilidade polínica foram avaliados 152.000 grãos de pólen. A diacinese revelou a presença de 11 bivalentes para todas as amostras. As metáfases I e II apresentaram cromossomos em ascensão precoce, as anáfases I e II pontes cromossômicas, a prófase II e as telófase I e II apresentaram micronúcleos. As tétrades apresentaram pentades para todas as populações e tríades para a população isolada. A microsporogênese foi estável nas plantas oriundas de três dos fragmentos avaliados, apresentando porcentagem de anormalidades nas fases da meiose, inferior a 4%. Estes fragmentos conectados entre si por mata ciliar. Um dos fragmentos apresentou de 13% a 21% de anormalidades nas fases da meiose este está cercado por áreas agrícolas isolado dos demais. A viabilidade polínica mostrou-se acima de 93% para os fragmentos conectados e 73% para o fragmento isolado. Os dados demonstram que a fragmentação florestal tem influencia na meiose, pois a população de *Eugenia uniflora* do fragmento isolado apresentou maior porcentagem de anormalidades e menor índice de viabilidade polínica em relação às populações coletadas em fragmentos conectados.

Introdução

A pitangueira (*Eugenia uniflora* LINNEU, 1735), pertencente à família Myrtaceae é bem distribuída em todo o território nacional. Segundo BEZERRA *et al.* (2002) o cultivo da pitangueira vem crescendo em razão do uso de seu fruto para preparo de polpa, suco, sorvetes, refrescos, geléias, licores e vinhos. SOUZA *et al.* (2007) destacam que a espécie é uma fonte promissora de compostos antioxidantes e considerada promissora economicamente na fabricação de fármacos e cosméticos. FRANZON (2008), trabalhando com plantas do banco de germoplasma da Embrapa observou uma taxa de autofecundação de 6,4% para a espécie, considerando-a autocompatível, no entanto PELACANI *et al.* (2000), a consideraram autoincompatível e totalmente dependente de agentes polinizadores.

Plantas com taxa de fecundação cruzada acima de 95%, segundo BOREM & MIRANDA (2005), são caracterizadas como alógamas e possuem, em condições naturais, um mecanismo de reprodução panmítica, assegurado por mecanismos fisiológicos, estruturais, espaciais e/ou temporais capazes de minimizar endocruzamentos e autofecundações. Isso imprime a estas populações uma mistura heterogênea de genótipos que, na sua maioria, são heterozigotos. Para ESTOPA *et al.* (2007) e FERREIRA *et al.* (2002), populações assim apresentam genes deletérios suprimidos pela heterozigosidade. Para os mesmos autores estes genes em homozigose afetam a viabilidade reprodutiva do indivíduo.

Embora os efeitos da endogamia não levem a uma depressão reprodutiva para todas as espécies (FERREIRA *et al.*, 2002; PAIVA *et al.*, 2006; ESTOPA *et al.*, 2007) o conhecimento destes efeitos são necessários para verificar o quanto uma espécie está

ameaçada de extinção, e também para definir qual o melhor procedimento para o melhoramento comercial.

VIANA (1992) definiu fragmento florestal como a área de vegetação natural interrompida por barreiras antrópicas ou naturais capazes de diminuir, significativamente, o fluxo de animais, pólen ou sementes. As conseqüências desta fragmentação e do isolamento por ela condicionado têm implicações ecológicas e genéticas, tais como perda da heterogeneidade de habitats e a diminuição da variabilidade genética podendo chegar ao extremo de extinção de espécies (LOVEJOY, 1980; KAGEYAMA, 1986; MARTINS, 1987; BIERREGARD *et al.*, 1992; KAGEYAMA, 1997; KAGEYAMA & GANDARA, 1998; SANTOS & KINOSHITA, 2003; RODRÍGUEZ-CABAL *et al.*, 2007, MARIANO *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2008). A fragmentação é, possivelmente, a mais profunda alteração causada pelo homem ao meio ambiente.

De fato, a fragmentação florestal implica na redução de área, destruição de habitats e fragmentação das populações originais (HARPER, 1977, 1996; LAURANCE & YENSEN, 1991; GREEN, 1994; TURNER, 1996;), o que resulta na redução da habilidade das populações de se adaptarem a mudanças ambientais, levando muitas espécies a atingirem uma limitação evolutiva (KAPOS, 1989; NOSS, 1987; BARRET *et al.*, 1983; HELDRICK & MILLER, 1992; CÂNDIDO JUNIOR, 1993; ELLSTRAND & ELAM, 1993). Estes aspectos ainda são pouco entendidos e têm despertado o interesse sobre o estudo das conseqüências da fragmentação florestal na história evolutiva de populações naturais de plantas e animais e sobre a conservação e biodiversidade correlata a estas alterações (LOVEJOY *et al.*, 1980; BROWN JUNIOR, 1987; BECKER *et al.*, 1991; BIERREGARD *et al.*, 1992; VIANA *et al.*, 1999; BENEDETTI *et al.*, 1993; AIZEN *et al.*,

1994; BIERREGARD *et al.*, 1995; LAURENCE & YENSEN, 1991; ANDRADE, 1996; DIDHAM, 1998).

Para RICCI *et al.* (2007) a meiose é um evento de estabilidade evolucionária elevada, pois está diretamente relacionada ao número de cromossomos nos gametas, sendo que a depressão reprodutiva está diretamente ligada a erros no andamento das fases da meiose. Para PAGLIARINI (2002) estes erros podem ser condicionados por fatores ambientais e ou genéticos. Quando uma planta alógama é submetida à autofecundação ou a cruzamentos endogâmicos, muitos genes, incluindo aqueles envolvidos no controle da meiose, se expressam em homozigose e podem levar a irregularidades na microsporogênese que podem levar à redução da viabilidade polínica na planta (RISSO-PASCOTTO *et al.*, 2003).

Guarapuava, no interior do Paraná, é um município essencialmente agrícola e tem muito evidente o processo de fragmentação dentro da sua extensão territorial. Em 2004 a empresa de saneamento do Paraná (Sanepar) mapeou com fotos de satélite a bacia do Rio Jordão para o programa de recuperação de matas ciliares. Este levantamento possibilitou identificar fragmentos de Floresta Ombrófila Mista conectados por mata ciliar, e fragmentos totalmente isolados. Alguns destes fragmentos, quando visitados em loco, apresentaram populações de pitangueiras na sua composição vegetal.

Considerando que a fragmentação florestal pode levar a redução da variabilidade genética, e isto pode ter efeitos na meiose, este trabalho teve como objetivo a análise da microsporogênese em quatro populações de pitangueiras (*Eugenia uniflora L.*), oriundas de fragmentos florestais, procurando correlacionar dados citogenéticos com isolamento reprodutivo.

Material e Métodos

Neste trabalho foram avaliadas quatro populações de pitangueiras coletadas em quatro fragmentos de Floresta Ombrófila Mista localizados na Região de Guarapuava, PR (Figura 1). O resumo das características de cada fragmento encontra-se na Tabela 01. A população “A” encontra-se em uma área de oito hectares que está completamente isolada de qualquer outro fragmento florestal por grande extensão de áreas cultivadas. Desta população foram coletados botões florais de 16 plantas. A população “B” encontra-se em um fragmento de 120 hectares, conectado aos fragmentos “C” e “D” por mata ciliar que acompanha o Rio das Pedras (Figura 1). Desta população foram amostradas 20 plantas. A população “C” esta localizada em um fragmento de 60 hectares. Este fragmento encontra-se conectado aos fragmentos “B” e “D” por mata ciliar que acompanha o Rio das Pedras (Figura 1). Desta população foram amostrados botões florais de 20 plantas. A população “D” esta localizada em um fragmento de 35 hectares que encontra-se conectado aos fragmentos “B” e “C” por mata ciliar que acompanha o Rio das Pedras (Figura 1). Desta população foram amostrados botões florais de 20 plantas.

Os dados, idade em anos das matas secundarias e a extensão em hectares, foram obtidos por questionários aplicados aos proprietários da área rural onde a população amostrada está localizada e pelo SISLEG (Sistema de Manutenção, Recuperação e Proteção da Reserva Legal) da propriedade.

Para a identificação das plantas, uma exsicata foi montada e enviada aos especialistas da Universidade Federal de São Carlos – Campus Sorocaba, sendo as duplicatas reenviados para o Herbário D. Bento Pickel onde foram incorporados ao registro SPSF 155.530.

Tabela 1 - Resumo das características dos fragmentos de Floresta Ombrófila Mista onde se encontram as populações de *E. uniflora* e número de plantas amostradas em cada população.

Fragmento	Extensão (há)	Coordenadas geográficas	Nº de plantas amostradas	Idade da mata secundária (ano)	Corredor ecológico
"A"	8	25 ⁰ 22'05,45"S	16	29	Não
		51 ⁰ 32'27,16"O			
"B"	120	25 ⁰ 19'24,34"S	20	41	Sim
		51 ⁰ 24'51,42"O			
"C"	60	25 ⁰ 24'01,17"S	20	20	Sim
		51 ⁰ 25'45,74"O			
"D"	35	25 ⁰ 26'03,04"S	20	23	Sim
		51 ⁰ 26'50,78"O			

Análise da microsporogênese

Para a análise das fases da meiose foram coletados separadamente botões florais de 16 plantas da população do fragmento "A" e 20 plantas das populações dos demais fragmentos, todas apresentando DAP (diâmetro na altura do peito) entre 0,15 m e 0,20 m, homogeneizando assim as amostras quanto a pertencerem a uma mesma geração. Os botões florais foram fixados por 24 horas em solução Carnoy (3:1 álcool: ácido acético glacial). Depois de fixados, os botões foram transferidos para álcool 70% e mantidos sob refrigeração até o momento da confecção das lâminas. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com carmim propiônico 0,5%.

Para cada população foram avaliadas no mínimo cinco plantas, e de cada planta foram avaliadas, no mínimo, 50 células em cada fase da meiose, amostrado dentre no mínimo, quatro botões florais, totalizando em torno de 9.000 células. Todas as anormalidades foram consideradas e as mais representativas foram fotografadas com auxílio de captura de imagem. O número de cromossomos foi determinado pela

contagem dos bivalentes em diacinese.

Para avaliar a viabilidade polínica foram analisadas 16 plantas do fragmento “A” e 20 plantas de cada um dos outros fragmentos, de cada planta quatro botões florais, de cada botão floral 500 grãos de pólen totalizando 152.000. Os botões florais usados para a análise foram os totalmente expandidos, porém em pré-antese. Os grãos de pólen não corados e com material genético em degeneração foram considerados inviáveis. O índice meiótico (IM) foi calculado de acordo com LOVE (1949), que corresponde ao número de tétrades normais/número total de tétrades x 100, sendo consideradas estáveis meioticamente os acessos que apresentarem IM acima de 85%.

A análise estatística do índice meiótico entre as populações estudadas foi feita por meio do teste Qui-quadrado (X^2) de independência (PIMENTEL GOMES, 1987).

A análise estatística da viabilidade dos grãos de pólen das plantas dos quatro fragmentos, avaliada em laboratório, foi realizada considerando um delineamento inteiramente casualizado, em que o número de botões florais analisados em cada população correspondeu ao número de repetições. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 1%. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa GENES (CRUZ, 2001).

Foi estimada a correlação de Pearson entre os atributos porcentagem de grãos de pólen viáveis e tétrades viáveis, nas populações utilizando o programa Excel (MICROSOFT, 2009).

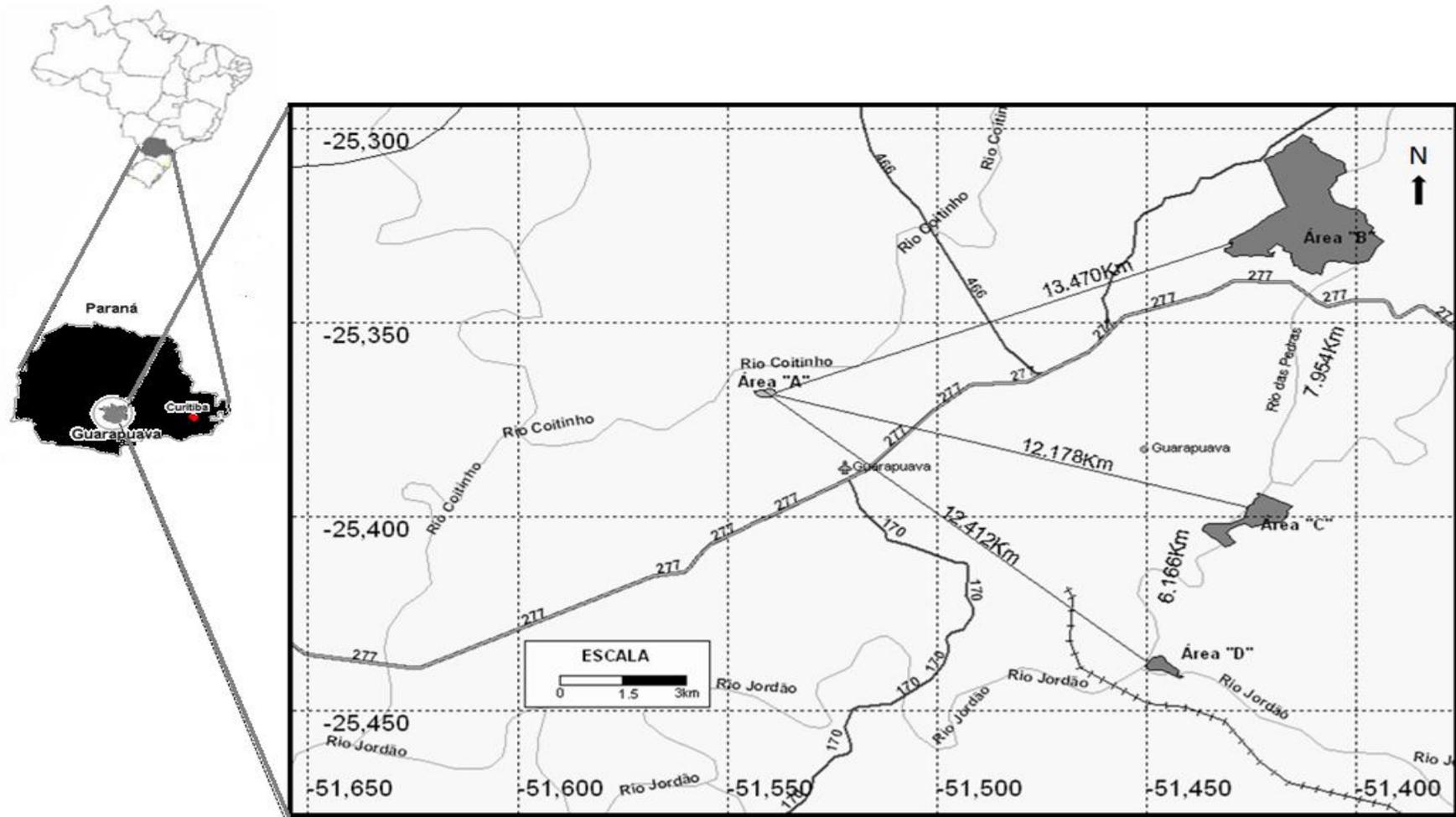


Figura 1 - Localização dos fragmentos de Floresta Ombrófila Mista de onde foram coletadas amostras das populações de *E. uniflora* utilizadas neste estudo, distâncias lineares entre os fragmentos e calha do Rio das Pedras conectando os fragmentos “B”, “C” e “D” por corredor de mata ciliar.

Resultados

Com exceção da diacinese, analisada para determinação do número de cromossomos, as subfases da prófase I não foram avaliadas devido ao pequeno tamanho das células meióticas. A contagem dos cromossomos em diacinese revelou a presença de 11 bivalentes para todas as amostras (figura 2a, 2b, 2c e 2d), este dado em conjunto com a identificação taxonômica permitiu identificar a espécie em estudo como *E. uniflora*, refutando a presença de *E. pitanga* (ANGELY, 1965) nas amostras.

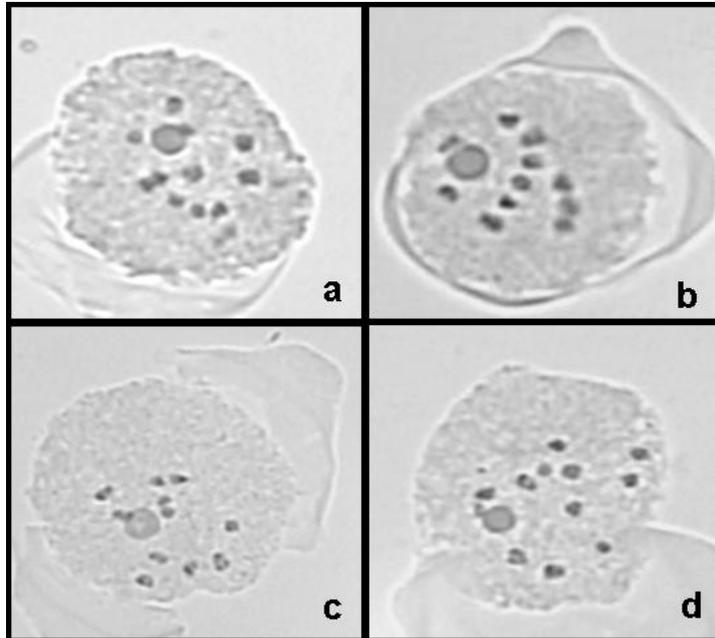


Figura 2 – Células em diacinese das amostras das populações de pitangueira analisadas evidenciando a presença de 11 bivalentes, característica de *E. uniflora*. As figuras a, b, c e d representam diacinese das populações “A”, “B”, “C” e “D” respectivamente. Aumento de 1000x.

A análise das fases da meiose revelou anormalidades em todas as populações estudadas, no entanto na população "A" estas foram mais freqüentes (tabela 2). Em metáfase I a população "A" apresentou 13% das células com anormalidade enquanto as outras populações apresentaram de 3 a 4% de células anormais (tabela 2). As anormalidades observadas em metáfase I foram cromossomos em ascensão precoce (figura 3a). Segundo PAGLIARINI & POZZOBON (2005) estas anormalidades são causadas pela não ocorrência de permuta gênica (ascensão precoce de univalentes). Em anáfase I a população "A" apresentou 21% de células anormais, enquanto as demais populações apresentaram entre 4% e 5% de anormalidades (tabela 2). Nestas fases foram observadas terminalização tardia de quiasmas (figura 3b) e cromossomos retardatários (figura 3c). Os cromossomos retardatários observados em anáfase I geraram telófases I e prófases II com micronúcleos. Na meiose II também foram observadas anormalidades, e novamente na população "A" estas foram mais abundantes (tabela 2). Em metáfase II foram observados cromossomos em ascensão precoce (figura 3d), em anáfase II foram observados cromossomos retardatários (figura 3e). Estas anormalidades, como descrito por SOUSA (2010), levam a formação de telófases II com micronúcleos (figura 3f e 3g) e pentades contendo quatro micrócitos de tamanho normal e de um micrócito de tamanho reduzido (figura 3h). Outras anormalidades também observadas foram assincronia de fase e presença de fusos convergentes. Estes fusos convergentes como descrito por TECHIO (2002) levam a formação de telófase II trinucleada com núcleos de restituição (figura 4a e 4b) e conseqüente formação de tríades (figura 4c). Estas tríades formaram grãos de pólen não reduzidos (figura d). Além destas anormalidades foram observadas algumas raras, dentre elas a presença de díades (figura 3i) e formação de pontes citoplasmáticas entre células mães de grãos de

pólen (figura 5a) e material genético extra em diacinese (figura 5b e 5c). A presença de pontes citoplasmática e cromossomos extras em diacinese caracterizam citomixia. Segundo PAGLIARINI (1990) a citomixia é o processo de transferência de cromossomos através de pontes citoplasmáticas entre as células mães de grãos de pólen.

Houve diferenças entre o índice meiótico das populações estudadas, detectadas pelo teste de χ^2 , sendo que na população "A" o IM foi significativamente inferior às demais populações.

A análise da viabilidade polínica revelou a presença de grãos de pólen estéreis em todas as populações avaliadas (figura 4e e 4f), no entanto na população "A" porcentagem foi bastante elevada em relação às outras populações (tabela 2). Além de grãos de pólen estéreis foram observados grãos de pólen diminutos e grãos de pólen não reduzidos (figura 4d).

A análise de variância apresentada na tabela 4 confirma a ocorrência de diferenças significativas entre as populações quanto à porcentagem de grãos de pólen viáveis. As populações dos fragmentos "C" e "D" apresentaram as maiores médias, não diferindo estatisticamente entre si. Contudo, essas duas populações diferiram significativamente das populações dos fragmentos "A" e "B" pelo teste de Tukey, sendo que a população "A" apresentou a menor média (tabela 3).

Os valores do desvio padrão calculado sobre a porcentagem de grãos de pólen viáveis das plantas amostradas nos fragmentos "A", "B", "C" e "D" foram "A" (9,10), "B" (2,98), "C" (1,78) e "D" (1,34). Assim, verificou-se que as plantas da população isolada apresentaram variações mais discrepantes em relação às demais.

Tabela 2 - Resultado da análise da microsporogênese em quatro populações de pitangueira (*E. uniflora*) coletadas no município Guarapuava, Paraná nos anos de 2008/2009.

Fragmento	Meiose I				Meiose II				Tétrade	IM
	Associação		Disjunção		Associação		Disjunção			
	Metáfase I	Anáfase I	Telófase I	Profase II	Metáfase II	Anáfase II	Telófase II			
%	%	%	%	%	%	%	%			
"A"	87	79	84	82	79	71	87	73	70,8	
"B"	96	95	96	98	96	94	96	88	95,2	
"C"	97	96	98	100	97	96	96	93	97,2	
"D"	96	96	100	99	96	96	99	100	100	

%= Percentual de células normais; IM= Índice Meiótico

Tabela 3 - Resultados da análise da viabilidade polínica em quatro populações de pitanga (*E. uniflora*) coletadas na no município Guarapuava, Paraná nos anos de 2008/2009.

Fragmento	Número de plantas amostradas	Número de botões florais amostrados	Número de grãos de pólen amostrados	Média de grãos de pólen viáveis
"A"	16	64	32000	82,62%a
"B"	20	80	40000	93,06%b
"C"	20	80	40000	96,77%c
"D"	20	80	40000	97,59%c

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1 %.

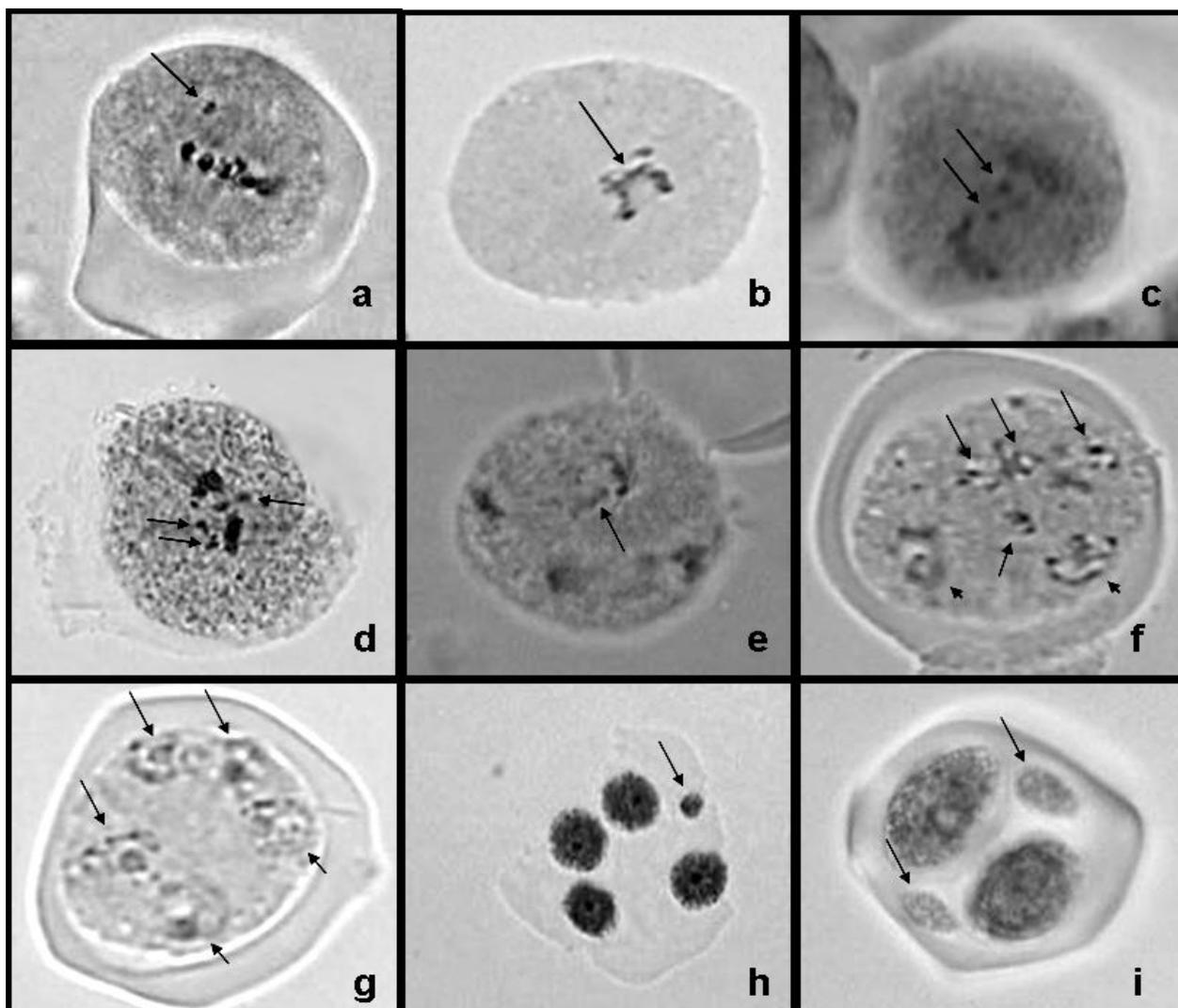


Figura 3 - Aspectos da meiose em *Eugenia uniflora*. a) Metáfase I com cromossomo em ascensão precoce (seta); b) Anáfase I com quiasmas não terminalizados (seta); c) Anáfase I com cromossomos retardatários (setas); d) Metáfase II com cromossomos em ascensão precoce (setas); e) Anáfase II com cromossomos retardatários (seta); f) Telófase II com dois núcleos aparentemente normais (setas curtas) e quatro micronúcleos (setas longas); g) Telófase II pentanucleada (cada seta aponta um núcleo); h) Tétrade com presença de um micrócito (seta); i) Díade com presença de dois núcleos não reduzidos ($2n$) e dois micrócitos (seta). Figuras a, b, c, d, e, f, g, i aumento de 1000x, figura h aumento de 400x.

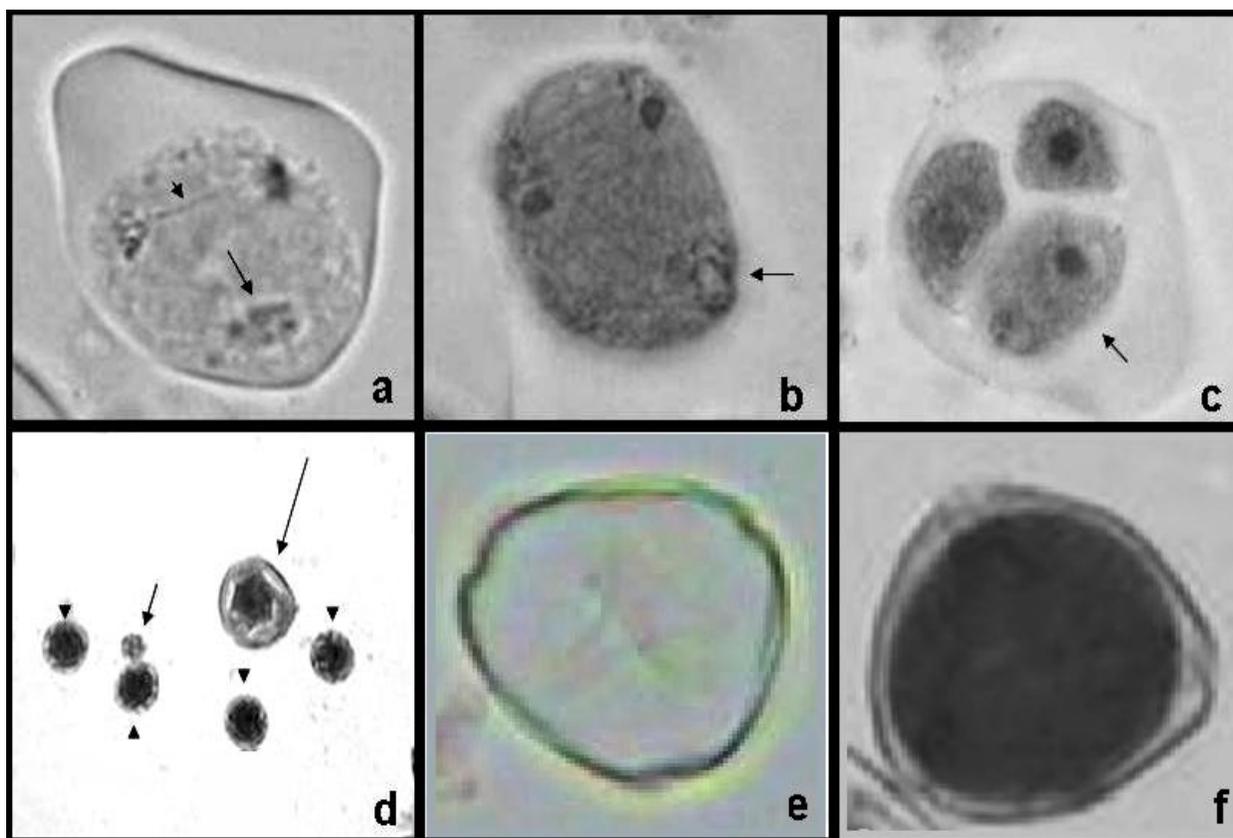


Figura 4 – Aspectos das fases finais da meiose e dos grãos de pólen em *Eugenia uniflora*. a e b) Telófases II trinucleada com núcleo de restituição (setas); c) Tríade contendo dois microsporócitos normais e um não reduzido (seta); d) Grãos de pólen normais (cabeça de seta), não reduzido (seta grande) e de tamanho diminutos (seta pequena); e) Grão de pólen estéril; f) Grão de pólen fértil. Figuras a, b, c, e, f aumento de 1000x, figura d aumento de 400x.

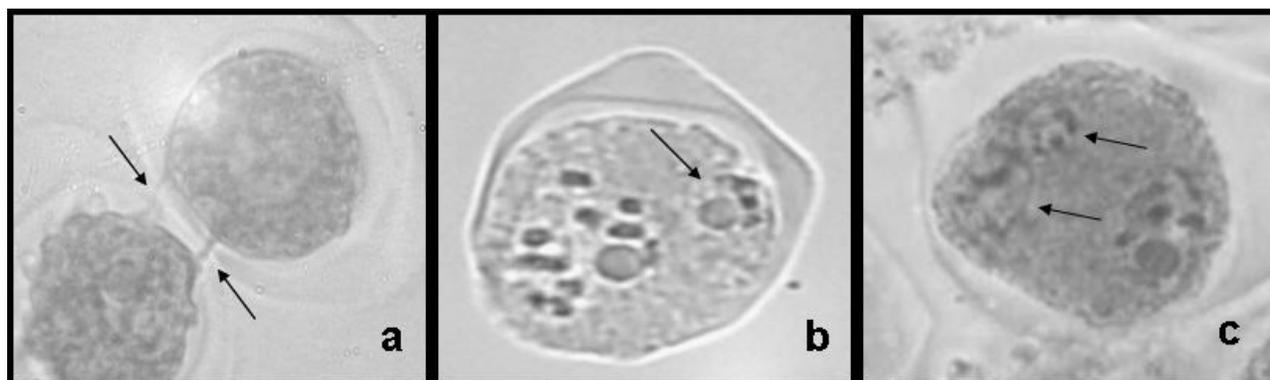


Figura 5 - Evidência de citomixia em *Eugenia uniflora*. a) Células mães de grão de pólen com pontes citoplasmáticas (setas); b, c) Diacinese com material genético extra (setas) originado pela transferência de cromossomos através das pontes citoplasmáticas observadas nas células mães de grãos de pólen. Aumento de 1000x.

Tabela 4. Análise de variância da porcentagem de grãos de pólen normais, dos botões florais amostrados em quatro populações de pitangueiras do município de Guarapuava PR.

F.V.	GL	SQ	QM	F	Probabilidade
População	3	9734,3124	3244,7708	153,93	0,00
Resíduo	300	6323,8064	21,0793		
Total	303	16058,1188			
Média geral	93,22				
CV(%)	4,92				

Discussão:

A fertilidade das espécies pode ser alterada por mutações nos genes controladores dos eventos citológicos da gametogênese (GOLUBOVSKAYA, 1979, 1989; BAKER *et al.*, 1976; PAGLIARINI, 2000; LOGUERCIO & BATTISTIN, 2004) portanto alterações observáveis microscopicamente, nas fases da meiose, podem ser indicativos de instabilidade reprodutiva na espécie. Segundo PAGLIARINI (2000), a fertilidade das plantas é produto do comportamento meiótico e a formação de gametas funcionais é controlada por genes que garantem um processo meiótico normal e que estes genes podem sofrer mutações, ocasionando irregularidades que comprometem a fertilidade dos indivíduos. Ainda, segundo esta autora as mutações meióticas que afetam o pareamento cromossômico são importantes, pois podem levar à esterilidade total da espécie.

A avaliação da microsporogênese de maneira geral está resumida na tabela 2. É possível observar que a meiose I e II nas plantas das populações dos fragmentos “B”, “C” e “D” apresentaram porcentagem média de células normais entre 94% e 100 % revelando uma tendência à correção na fase de telófase I e II das anormalidades visualizadas na fase de associação e de disjunção.

As plantas da população do fragmento “A” apresentaram médias entre 71% e 87% de células normais para as duas fases, sendo a menor média obtida na fase anáfase II. A variação entre as fases de associação e disjunção foi discreta, não apresentando claramente nenhum processo de correção. As plantas das áreas “B”, “C” e “D” apresentaram alta taxa de viabilidade de grãos de pólen, estando acima de 90% (tabela 3). A viabilidade do pólen das plantas da área “A” foi em média 78,77%, o que

está bem abaixo dos demais fragmentos (tabela 3). AGUILAR & GALETTO (2004) observaram redução da viabilidade polínica em *Cestrum parqui* que, segundo os autores, é altamente sensível à fragmentação. Para estes pesquisadores os efeitos da endogamia, aumentada pela fragmentação, são as causas possíveis para o baixo vigor reprodutivo observado e a espécie sofre depressão por endogamia. CUNNINGHAM (2000), trabalhando com plantas de *Acacia brachybotrya* que cresceram em fragmentos de vegetação na Austrália, observou menor número de grãos de pólen nas anteras de indivíduos de populações fragmentadas do que de populações de reservas amplas, bem como verificou redução na frutificação nas populações de áreas fragmentadas. Este estudo exemplifica as condições em que a fragmentação do habitat pode produzir um declínio na polinização e na frutificação subsequente quando comparadas aos valores de populações em áreas contíguas, não fragmentadas.

Os índices meióticos (IM) das áreas conectadas apresentaram-se entre 95,2% e 100%, e para a área isolada em 70,83% (tabela 2). Segundo LOVE (1949) IMs menores que 85% demonstram uma inviabilidade condicionada por aspectos genéticos. Para este autor plantas cujos índices meióticos estejam acima de 90% são consideradas normais quanto ao comportamento meiótico e, portanto estáveis geneticamente. LOGUERCIO & BATTISTIN (2004) trabalhando com populações naturais de jambolão (*Syzygium jambolanum*) também pertencente às Mirtáceas, encontraram IM acima de 90% e poucas irregularidades na microsporogênese, considerando seus acessos estáveis quanto à microsporogênese.

Embora se possa observar no fragmento “A”, plantas com alta taxa de anormalidades já na meiose I, é na meiose II que se acentuam as variações (tabela 2),

refletindo diretamente na produção de tétrades anormais, sendo que o coeficiente de correlação de Pearson calculado para as médias de 5 plantas da população “A”, entre o percentual de grãos de pólen normais e o percentual de tétrades normais foi igual a $p=0,87$ indicando uma forte correlação entre estas características. O fragmento “D” demonstrou ser o mais estável quanto às fases da microsporogênese, não apresentando nenhuma tétrade anormal no material analisado. Os aspectos geográficos associados a este fragmento levam a inferências sobre a intensidade do fluxo gênico e a viabilidade reprodutiva, pois sua localização permite fluxo não somente com os fragmentos aqui estudados, dispostos na bacia do Rio das Pedras, mas também por mata ciliar a fragmentos não estudados aqui, dispostos na bacia do rio Bananas. AIZEN (2007) versa sobre a simplicidade dos artigos relacionados aos efeitos da fragmentação, e argumenta que os aspectos relativos normalmente postulados não trazem uma real explicitação dos mecanismos inerentes as causas da inviabilidade reprodutiva observada. O autor coloca a necessidade de se observar os fatores inerentes a planta, ao fragmento e aos polinizadores. Dentre as principais observações, AIZEN (2007) descreve a falta de esclarecimentos sobre os mecanismos que levam a alteração na reprodução. Embora o autor não tenha revisado trabalhos de microsporogênese, suas colocações nortearam as discussões deste trabalho. Para RISSO-PASCOTTO & ROMAGNOLO (2008) erros durante a meiose causam anormalidades, que por sua vez, acarretam em comprometimento da viabilidade do grão de pólen.

A alta taxa de viabilidade observada nas áreas “B”, “C” e “D”, áreas conectadas por corredor ecológico, podem ser resultados de uma maior “estabilidade genética” dos genes controladores da meiose e pode estar associada aos fatores de fluxo gênico,

deriva, mutação e recombinação que, em conjunto, refletem a variabilidade genética de uma população (BIERREGARD *et al.*, 1992; KAGEYAMA, 1986; KAGEYAMA, 1997; KAGEYAMA & GANDARA *et al.*, 1993). Como o fluxo gênico é um fator estabilizante, a existência de corredor ecológico propiciando o fluxo gênico entre estas áreas pode ser responsável pela alta viabilidade polínica observada. Em contraposição, o fragmento “A”, que está isolado, pode estar sofrendo os efeitos da endogamia condicionada pela fragmentação e limitação do fluxo gênico, pois apresentou claramente desvios do padrão na microsporogênese, que estão levando a alterações na viabilidade polínica. No entanto, a endogamia deve ser cuidadosamente avaliada em nível genético com técnicas mais diretas para que se possa afirmar que para a espécie em estudo a endogamia tem implicações reprodutivas graves podendo colocar a espécie em risco evolutivo. Se isto for comprovado podemos afirmar que a população “A” está em um processo de redução de sua variabilidade e, portanto em risco evolutivo.

Embora a citomixia como descrito por CAETANO-PEREIRA & PAGLIARINI (1997) seja comum em populações naturais, o aparecimento nas amostras da população do fragmento “A” de tríades tem relevância evolutiva, pois a produção de gametas $2n$ pode levar a processos de poliploidização. COSTA (2004) identificou em seu trabalho de citotaxonomia em mirtáceas um possível poliplóide de *E. uniflora*, identificado como *E. pitanga*, que tem exatamente o dobro do número cromossômico de *E. uniflora*. Embora não tenha sido objetivo do seu trabalho identificar os processos que podem levar a esta poliploidização é fácil inferir que a não redução de ambos os gametas (masculino e feminino) de *E. uniflora* seguida de fecundação pode ter sido o mecanismo pelo qual a *E. pitanga* originou-se. No entanto, são necessários estudos mais aprofundados para

comprovar esta hipótese.

Extensa bibliografia afirma que o processo de especiação é resultado do isolamento genético. Este trabalho demonstrou que fragmentos pequenos e isolados podem levar ao aparecimento das condições relativas à possível evolução por ploidização, pois a condição de cruzamento parental que se eleva a cada nova geração, somada ao surgimento de grãos de pólen com material genético não reduzido aumenta a probabilidade de formação de gametas poliplóides e, embora seja necessária uma pesquisa mais extensa, a hipótese de evolução por poliploidia em espécies do gênero *Eugenia* pode ser levantada.

Conclusão

Os espécimes de *E. uniflora* do fragmento isolado, população “A”, apresentaram mais anormalidades meióticas, e menor viabilidade polínica, em relação às coletadas em fragmentos conectados, demonstrando que há diminuição da capacidade reprodutiva para populações de pitangueiras, localizadas em áreas fragmentadas.

Referências Bibliográficas

As referências citadas neste capítulo estão listadas ao final da dissertação em um único tópico com todas as demais referências.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEWUNMI, C.O.; AGBEDAHUNSI, J.M.; ADEBAJO, A.C.; ALADESANMI, A.J.; MURPHY, N.; WANDO, J. Ethno-veterinary medicine: screening of Nigerian medicinal plants for trypanocidal properties. **Journal Ethnopharmacol**, vol. 77, n. 2, p.19-24, 2001.

ADEOYE, A.O. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* L. leaf oil. **Food Chemistry**, vol. 99, n. 1, 2006.

ADEBAJO, A.C.; OLOREK, K.J.; ALADESANMI, A.J. Antimicrobial activities and microbial transformation of volatile oils of *Eugenia uniflora*. **Fitoterapia**, vol.15, p.451-455, 1989.

AFONSO, A. S.; MEDEIROS, A. S.; NUNES, C.S. Florística da vegetação arbustiva aberta na Restinga da Marambaia, RJ. **Revista Brasileira de Biociências**, vol. 5, n. 2, p. 450-452, 2007.

AGUILAR, R.; GALETTO, L. Effects of forest fragmentation on male and female reproductive success in *Cestrum parqui* (Solanaceae). **Oecologia**, vol.138, n.4, 2004.

ALICE, C. Screening of plants used in south Brazilian folk medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, vol.35, p.165–171, 1991.

ALVES, E. S.; TRESMONDI, F.; LONGUE, E. L. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, vol. 22, n. 1, p. 241-248, 2008.

ALMEIDA, E.C., KARNIKOWSKI, M.G.O., FOLETO, R., BALDISSEROTTO, B. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. **Revista Saúde Pública**, vol. 29, p.428- 433, 1995.

AMAT, A.G.; YAJÍA, M.E. Medicinal plants and ethnopharmacology in the province of Misiones (Argentina). **Acta Farmacêutica Bonaerense**, vol. 10, p. 153-159, 1991.

ANDRADE, L. A. A.; SILVA, E. Fragmentação florestal: efeitos sobre a fauna silvestre. In: **Forest'96 – 4, Simpósio Internacional sobre Ecossistemas Florestais**. Brasília, p. 326-327.1996.

ANGELY, J. **Flora analítica do Paraná**. Editora da USP. 1965.

AIZEN, M.A.; FEINSINGER, P. Forest fragmentation, pollination and plant reproduction in a Chaco dry forest, Argentina. **Ecology**, vol.75, n.2, p.330-351, 1994.

AIZEN, M.A. Enfoques em el estudio de la reproducción sexual de las plantas em ambientes alterados: limitaciones y perspectivas. **Ecologia Austral**, vol.17, p. 7-19, 2007.

ARAI, I.; AMAGAYA, S.; KOMATSU, Y.; OKADA, M.; HAYASHI, T.; KASAI, M.; ARISAWA, M.; MOMOSE, Y. Improving effects of extracts of *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in: **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 68, p. 307-314, 1999.

AULER, N. M. F.; BATTISTIN, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Educação Médica**, vol.8, n.2, p.55-63, 2006.

AURICCHIO, M. T. – **Estudo Farmacognóstico de folhas de *Eugenia uniflora* L. São Paulo**, Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): Revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, vol. 62 n.1, p. 55 – 61, 2003.

AZEVEDO-MELEIRO, C.H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, vol.117, p.385-396, 2004.

BAKER, B. S.; CARPENTER, A. T.; ESPOSITO, M. S.; ESPOSITO, R. E. The genetic control of meiosis. **Journal Genetics**, vol.10, p. 109–122, 1976.

BARRET, S. C. H.; PRICE, S.D.; SHORE, J. S. Male fertility and anisoplethic population structure in tristylous *Pontederia cordata* (Pontederiaceae). **Evolution**, vol.37, p. 745-759, 1983.

BARDDAL, M. L.; RODERJAN, C. V.; GALVÃO, F.; CURCIO, G. R. Caracterização florística e fitossociológica de um trecho sazonalmente inundável de floresta aluvial, em Araucária, PR. Santa Maria. **Ciência Florestal**, vol.14, n. 2, p.37-50, 2004.

BANDONI, A. L.; MENDIONDO, R. V. D.; RONDINA, J. D. Survey of Argentine medicinal plants. **Folklore and phytochemical screening**, vol. 35, p. 69–80, 1972.

BECKER, P.; MOURE, J. S.; PERALTA, F. J. A. More about euglossine bees in Amazonian forest fragments. **Biotropica**, vol. 23, n.4b, p.586-591, 1991.

BENEDETTI, V.; ZANI FILHO, J. Metodologia para caracterização de fragmentos florestais em projetos agro-silviculturais. In: **Anais Congresso Florestal Brasileiro**, vol.2, p.400-401, 1993.

BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; PEDROSA, A. C.; DANTAS, A. P.; FREITAS, E. V. de. Performance of Surinam cherry (*Eugenia uniflora*L.) in Pernambuco, Brazil. **Acta Horticulturae**, n. 370, p. 77-81, 1995.

BEZERRA, J. E. F.; FREITAS, E. V. de; LEDERMAN, I. E.; DANTAS, A. P. Performance of Surinam cherry (*Eugenia uniflora* L.) in Pernambuco, Brazil II – Productive period 1989-1995. **Acta Horticulturae**, n. 452, p. 137-142, 1997.

BEZERRA, J. E. F.; DA- SILVA JUNIOR, J. F.; LEDERMAN E. Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) **Funep Série Frutas Nativas**, p. 30, 2002.

BEZERRA, J. E. F.; DA-SILVA JUNIOR, J.F.; LEDERMAN E. Comportamento da Pitangueira (*Eugenia uniflora* L) sob irrigação na região do vale do Moxotó Pernambuco ,Jaboticabal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol. 26, n.1, 2004.

BIERREGAARD, R.O.; LOVEJOY, T. E.; KAPOS, V.; SANTOS, A.A.; HUTCHINGS, W. The biological dynamics of tropical rainforest fragments. **BioSciences**, vol.42, p. 859-866, 1992.

BIERREGAARD, R. O.; LOVEJOY, T. E.; KAPOS, V.; SANTOS, A. A.; HUTCHINGS, W. Evaluations using butterfly trapping. **Biodiversity and Conservation**, vol.4, p. 35-55, 1995.

BOREM, A; MIRANDA, G. V., **Melhoramento de plantas**, Viçosa: UFV, vol.1, p. 525, 2005.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**, Ed. Universitária da UFRN, ed. 4, p. 416-417, 1985.

BROWN JUNIOR, K. S. O. Papel dos consumidores na conservação e no manejo de recursos genéticos florestais in situ. **Ipef**, n.35, p. 61-69, 1987.

BUDKE, J. C.; HETTWER GIEHL; E. L.; ATHAYDE, E. A.; EISINGER, M. A.; ZÁCHIA, R. A. Floristic composition and structure of arboreal species in a riverine forest, Passo das Tropas River, Santa Maria, RS, Brazil. **Acta Botânica Brasilica**, vol.18, n.3, 2004.

BUDKE, J. C.; HETTWER GIEHL, E. L.; ATHAYDE, E. A.; EISINGER, M. A.; ZÁCHIA, R. A. Composição florística e estratégias de dispersão de espécies lenhosas em uma floresta ribeirinha, arroio Passo das Tropas, Santa Maria, RS, Brasil. **Iheringia, Série Botânica**, vol. 60, n. 1, p. 17-24, 2005

CAETANO-PEREIRA, C.M.; PAGLIARINI, M.S. Cytomixis in maize microsporocytes. **Cytologia**, vol.62, p.351-355, 1997.

CASTRO, E. R.; GALETTI, M. Frugivory and seed dispersal by the tegu lizard *Tupinambis merianae* *Reptilia: Teiida.*, **Papéis Avulsos de Zoologia**, vol.44, n.6, 2004.

CARDOSO, C. M. V. ; SAJO, M. G. Nervação foliar em espécies brasileiras de Myrtaceae Adans. **Acta Botânica Brasilica**, vol.20, n.3, p. 657-669. 2006.

CÂNDIDO JUNIOR, J. F. The contribution of community ecology to choice and design of natural reserves. **Ciência e Cultura**, vol.45, n. 2, p.100-103, 1993.

COELHO DE SOUZA, G.; HAAS, A.P.S.; VON-POSER, G.L.; SCHAPOVAL, E.E.S.; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, vol.90, p.135-143, 2004.

COSTA, I.R. **Estudos cromossômicos em espécies de Myrtaceae Juss. no sudeste do Brasil**, Dissertação (mestrado) Campinas, SP, 2004.

CONSOLINI, A.E., BALDINI, O.A., AMAT, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 66, p.33-39, 1999.

CONSOLINI, A. E.; SARUBBIO, M. G. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rat' heart. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 81, p. 57-63, 2002.

CORTADI, A., DI SAPIO, M., GATTUSO, M. Caracteres anatómicos de três espécies medicinales de la familia Myrtaceae. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, vol.15, p.109-123, 1996.

CUNNINGHAM, S.A. Depressed pollination in habitat fragments causes low fruit set. **Proceedings of the Royal Society Biological Sciences**, vol. 267, sere B., p. 1149-1153, 2000.

DELLACASSA, E.; LORENZO, D.; MONDELLO, L.; COTRONEO, A. Uruguayan essential oils. Part VII. Composition of leaf oil of *Eugenia uruguayensis* Camb. Var. *uruguayensis* (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, vol. 9, p. 295-297, 1997.

DIDHAM, R.K. Altered leaf-litter decomposition rates in tropical forest fragments. **Oecologia**, vol.116, n.3, p. 397-406, 1998.

DIAS, M. C.; VIEIRA, A. O. S.; NAKAJIMA, J. N.; PIMENTA J. A. Fitossociologia do Sub-Bosque de uma floresta Ombrofila mista aluvial, no município de Araucaria PR, **Ciência Florestal**, Universidade Florestal de Santa Maria, vol. 2, n.1, p. 9-26, 1992, 2004.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. Frutas Brasileiras. Jaboticabal. **Funep**, 288 p., 2002.

EINBOND, L.S. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, vol.84, p.23-28, 2004.

ERBER, J.; MASUHR, T.H.; MENZEL, R. Localization of short-term memory in the brain of the bee, *Apis mellifera*. Arbeitsgruppe Neurobiologie, Freie Universität Berlin. **Correspondence to Arbeitsgruppe Neurobiologie**, Freie Universität Berlin, 1980.

ESTOPA, R. A.; RAMALHO, M. A. P.; PEÇANHA REZENDE, G. D. S.; ABAD, J. I. M.; GONÇALVES, F. M. A. Desempenho dos descendentes de clones de *Eucalyptus spp* autofecundados e cruzados. **Cerne**, Lavras, 2007.

ESPÍN, J.C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H.J.; GARCÍA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol.48, p.1588-1592, 2000.

ENDRESS, P. K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press., p. 420,1994.

FAEGRI, K.; PIJL, L. V. **The principles of pollination ecology**. 2. ed. Oxford: Pergamon Press., p.291, 1976.

FETROW, C. W.; ÁVILA, J. R. **Manual de medicina alternativa para o profissional Rio de Janeiro**, Ed. Guanabara-Koogan, 1999.

FERREIRA, M. A. J.; QUEIRÓZ, M. A. DE; VENCOVSKY. R.; BRAZ, L.T.; VIEIRA, M. L. C.R.; BORGES, M. E. Sexual expression and mating system of watermelon: implications in breeding programs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, vol.75, p.171-177, 2002.

FRANCO, J. Capacidade regenerativa de um remanescente florestal localizado na área urbana de Campo Mourão, **Anais Simpigeu**, 2009.

FRANZON, R. C., **Propagação vegetativa e modo de reprodução da pitanga(*Eugenia uniflora L.*)**. Tese (doutorado em fruticultura de clima temperado) Universidade Federal de Pelotas, 2008.

GBOLADE, A. A.; ILESANMI, O. R.; ALADESANMI, A. J. The contractile effects of the extracts of *Eugenia uniflora* on isolated rat duodenum. **Phytotherapy Research** vol.10, p.613-615, 1996.

CRUZ, C. D. **Programa GENES - Versão Windows. Aplicativo Computacional em Genética e Estatística**. 1a. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, vol. 1, 648 p., 2001.

GRANT, V. **Plant speciation**. New York: Columbia University Press, 1971. 435 p.

GREEN, D. G. Connectivity and complexity in landscapes and ecosystems. **Pacific Conservation Biology**, vol. 1, n.3, p.194-200, 1994.

GOLUBOVSKAYA, I.N. Genetic control of meiosis. **Rev. Cytology**, vol.58, p. 247-290,

1979.

GOLUBOVSKAYA I.N. Meiosis in maize: genes and conception of genetic control of meiosis. **Advances in Genetics**, vol.26, p. 149-192, 1989.

GOLDBLATT, P. Polyploidy in angiosperms: monocotyledons. In: LEWIS, W.H. **Polyploidy: biological relevance**. New York: Plenum. p. 219-239, 1980

ELLSTRAND, N. C.; ELAM, D. R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, vol. 24, p. 217-242, 1993.

HARPER, J. L.; HAWKSWORTH, D. L. Biodiversity measurement and estimation. London: **Chapman & Hall**, p.5-12, 1996.

HARPER, J. L. Population Biology of Plants. **Academic Press**, New York. 1977.

HELDRIK, P. W.; MILLER, P. S. Conservation genetics: techniques and fundamentals. **Journal of Applied Ecology**, vol. 2, P. 30-46, 1992.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, vol. 97, p. 1027-1031, 2002.

IVANAUSKAS, N. M.; MONTEIRO, R.; RODRIGUES, R. R. Similaridade florística entre áreas de floresta Atlântica no estado de São Paulo. **Brazilian Journal Ecology**, vol. 1, p. 71- 81, 2000.

JORGE, L. I. F.; OLIVEIRA, F.; KATO, E. T. M.; OLIVEIRA, I. Caracterização farmacognóstica das folhas e dos frutos de *Eugenia uniflora* L. Myrtaceae. **Lecta**, vol. 2, p. 103-120, 1994.

KAGEYAMA, P. Y. Conservação "in situ" de recursos genéticos de plantas. **Ipef**, n.35, p.7-37, 1986.

KAGEYAMA, P. Y. Mata Atlântica: ainda é possível salvar toda sua biodiversidade? **Jornal da SOS Mata Atlântica**, abr.-mai. p. 3. 1997.

KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B. Dinâmica de populações de espécies arbóreas para o manejo e a conservação. Illo **Simpósio de Ecossistemas da Costa Brasileira (ACIESP)**, **Anais**, p.1-9, 1993.

KAPOS, V. Effects of isolation on the water status of forest patches in the Brazilian Amazon. **Journal of Tropical Ecology**, vol. 5, p 173-185, 1989.

KALT, W.; MCDONALD, J.E.; DONNER, H. ANTHOCYANINS, phenolics and antioxidant capacity of processed lowbush blueberry products. **Journal of Food Science**, vol.65, p.390-393, 2000.

KOZERA, C.; DITTRICH V. A. O.; SILVA, S. M. Fitossociologia da componente arbórea de um fragmento de floresta ombrofila mista Montana. **FLORESTA**, vol. 36, n. 2, p. 225-238, 2006.

LAURENCE, W. F.; YENSEN, E. Predicting the impacts of edge effects in fragmented habitats. **Biological Conservation**, vol.55, n. 1, p. 77-92, 1991.

LEE, M. L.; NISHIMOTO, S.; YANG, L. L.; YEN, K. Y.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, Y. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. **Phytochemistry**, vol. 44, p. 1343-1349, 1997.

LEDERMAN, I.E.; BEZERRA, J.E.F; CALADO, G. A pitangueira em Pernambuco. Recife, PE.**IPA. Documentos**, vol. 19, p. 20, 1992.

LEITCH, I. J.; BENNET, M. D. Polyploidy in angiosperms. Trends in **Plant Science**, vol. 2, p. 470-476. 1997.

LEWIS, W. H. **Polyploidy in angiosperms: dicotyledons**. In: LEWIS, W.H. Polyploidy: biological relevance. New York:Plenum. 1980.

LIMA, V. L. A. G. de; MÉLO, E. de A.; LIMA, L. dos S.; NASCIMENTO, P.P. do. Caracterização físico-química e sensorial de pitanga roxa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol.22, p.382-385, 2000.

LOVE, R. A. Estudos citológicos preliminares de trigos Riograndenses. Porto Alegre. **Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul**, n.74, p.14, 1949.

LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A. Microsporogênese de Nove Acessos de *Syzygium cumini* (L.) *Myrtaceae* Oriundos do Rio Grande do Sul – Brasil. **Revista da FZVA**, vol.11, p. 95-106, 2004.

LOGUERCIO, A. P. **Microsporogênese, eletroforese e atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels oriundo do Rio grande do Sul**. Tese (Doutorado em agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2003.

LOVEJOY, T. E. Foreword. In: SOULÉ, M.E.; WILCOX, B.A.: Evolutionary-ecological perspective :eds. Conservation biology. **Sunderland: Sinauer Associates**, p.5-9, 1980.

LORCA, G. G., AMAT, A. G., GONZÁLES, C. Analisis comparativo de caracteres diagnósticos para la identificación de três especies argentinas de Myrtaceae empleadas en la medicina popular. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, vol.14, p. 81-86, 1995.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil**. 3ª ed. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum de Estudos de Flora LTDA., vol.2, p. 352, 2000.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, M. H. L.; DA SILVA, M. H. L.; ZOGHBI, M. G. B. A. New chemotype of *Eugenia uniflora* L. from North Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, vol.11, p.727-729, 1999.

MATSUMURA, T.; KASAI, M.; HAYASHI, A.; ARISAWA, M.; MOMOSE, Y.; ARAI, I., AMAGAYA-KOMATSU Y. Glucosidase inhibitors from paraguayan natural medicine, Ñangapiry the leaves of *Eugenia uniflora*. **Pharmaceutical Biology**, vol. 38, p. 302-307, 2000.

MAUHS J. A. **Fitossociologia e regeneração natural de um fragmento de floresta Ombrofila mista exposto a perturbações antropicas** :UNISINOS Centro de ciências da saúde Programa de Pós-Graduação em Biologia:Diversidade e Manejo de Vida Silvestre 2004.

MARIANO, R.; SANTOS A. R.; PELUZIO T. M. O.; GUZZO DOS SANTOS G. G. Evolução da fragmentação florestal na bacia hidrográfica do rio alegre, ES. **Anais XII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação** – Universidade do Vale do Paraíba, p.151-155, 2007.

MARTINS, P. S. Estrutura Populacional, Fluxo Gênico e Conservação “in situ”. Piracicaba, **Ipef**, n.35, p.71-78, 1987.

MARGIS, R.; FELIX, D.; CALDAS, J. F.; SALGUEIRO, F.; DE ARAUJO, D. S. D.; MOMOSE, Y. Pentahydoryndolizidine and -glucosidase inhibitors containing products of *Eugenia uniflora*. **Jpn. Kokai Tokkyo Koho**, vol. 72, p.770, 2000.

MORAIS, S. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; ALENCARJ.W.; MATOS, J. A. Volatiles constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil from northeastern Brazil. **Jornal Essential Oil**, vol.8, p. 449- 451, 1996.

NOSS, R. F. Corridors in real landscapes: a reply to Simberloff and Cox. **Conservation Biology**, vol. 1, n. 2, p.159-164, 1987.

NOGUEIRA, L. R.; BÜTTOW, M. V.; CASTRO, C. M.; COSTA, R. R. DA; DEGENHARDT, J. Avaliação da diversidade genética entre seleções de *Eugenia uniflora* através de análise da AFLP, **Anais UERGS XVI CIC**, p. 231-245, 2007.

OLIVEIRA, A. M. Avaliação química dos alcalóides da espécie *Eugenia uniflora*. In: 12 Encontro Regional De Química Ribeirão Preto. **Livro de resumos Sociedade Brasileira de Química**, 1999.

OLIVEIRA, E. S.; KURTZE B. C.; CRISTOPHER J.; ANDERSON R. J. Fitossociologia e produção de serrapilheira em um trecho de mata atlântica no município de angras dos reis. **Revista de Biologia e Farmácia**, vol.02 n. 1, p.10-29, 2008.

OTTO, S. P.; WHITTON, J. Polyploid incidence and evolution. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, vol.34, p. 401-437. 2000.

PAGLIARINI M.S, DEFANI M.A, WALTER F.M, PEREIRA J.E. Recurrence of meiotic abnormalities in maize genotypes from the same origin and their influence on productivity. **Crop Breed. Appl. Biotechnol.** 2002.

PAGLIARINI, M.S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular Biology**, London, vol.23, p.997-1002, 2000.

PAGLIARINI & POZZOBON, Meiose em vegetais: um enfoque para caracterização de germoplasma. II Curso de citogenética aplicada a recursos ganéticos vegetais, **documentos EMBRAPA**, p. 24-30, 2005.

PAGLIARINI M. S. **Avaliação da frequência de quiasmas em milho (*Zea mays* L.) e suas implicações com a capacidade de combinação para a produção de grãos**. PhD thesis, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, Piracicaba, 1989.

PAGLIARINI, M. S. Meiotic behavior and pollen fertility in *Aptenia cordifolia* (Aizoaceae). **Caryologia Firenze**, vol.43, p.157-162, 1990.

PAIVA, E. A. A. **Meiose em híbridos hexaplóides de capim-elefante e milheto**. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras 2006.

PAULA, A.; SILVA, A. F.; SOUZA, A. L.; SANTOS F. A. M. Composição florística e formações vegetais da Ilha dos Franceses,. **Revista científica da America latina e Portugal. Relacy revista árvore**, vol. 22 p.25-44, 2007.

PELACANI, M. G. N.; JESUS, A. R. G. DE; SPINA, S. M.; FIGUEIREDO, R. A. DE- Biología floral da pitangueira (*Eugenia uniflora* L., Myrtaceae). **Argumento**, n. 4, p. 17-20, 2000.

PEREIRA T. K.; CHAVES C. C.; MACHADO, N. C.; FLORIANI N.; MORO R. S. Fitossociologia do criadouro comunitário do faxinal taquari dos ribeiros, PR, **Anais Simpigeu**, p. 1-9, 2009.

PIMENTEL-GOMES, F. P. Curso de Estatística Experimental. 12.ed. Piracicaba: **Nobel**, 1987.

PIROLI, E. L., CHAFFE, P. P. Análise florística e determinação de volume das principais

espécies ocorrentes em uma Floresta Ombrófila Mista. **Anais 3^o Encontro de Energia no Meio Rural**, 2003 Disponível em:

<http://www.feagri.unicamp.br/energia/agre2000/Textos/1_1.doc>.

PIROLI, E. L.; TERRA A.R. Analysis and phytosociological structure of a Mixed Ombrophylous Forest fragment in the city of Sertão, RS, **Ambiência** Guarapuava, PR vol.4, n.1, p.91-103, 2008.

PROENÇA, C.E.B.; GIBBS, P.E. Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. **New Phytologist**, vol 126, p.343-354, 1994.

QUINTÃO SCALON, S.P; SCALON FILHO, H.; RIGONI, M. R.; VERALDO, F. Germinação e crescimento de mudas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) sob condições de sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, vol. 23, n. 3, p. 652-655, 2001.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical. **Biology & Medicine**, vol.20, p.933-956, 1996.

RICCI, G. C. L.; SILVA, N.; PAGLIARINI M. S.; SCAPIM C. A. Microsporogenesis in inbred line of popcorn(*Zea mays* L.). **Genetics and Molecular Researc**, vol. 6, n. 1, p. 137-143, 2007.

RISSO-PASCOTTO, C.; MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S.; BIONE, N. C. P.; VALLE, C. B. Comportamento citológico atípico durante a microsporogênese em *Brachiaria ruziziensis* e *B. decumbens*. **Embrapa Gado de Corte. Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 2003.

RISSO-PASCOTTO, R. ROMAGNOLO M. B. **Caracterização citogenética e morfologia de algumas espécies de plantas nativas da floresta semidecidual na estação ecologia do Caiuá, Paraná**, projeto de pesquisa, UNIPAR CAMPUS-PARANAVAÍ, 2008.

RIVERA, D.; OBON, C. The ethnopharmacology of Madeira and Porto Santo Island: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 46, n. 2, p. 73-93, 1995.

RODRIGUES E. R.; GALVÇÃO F. Florística e fitossociologia de uma área de reserva legal recuperada por meio de sistema agroflorestal na região do Pontal do Paranapanema, São Paulo, **Floresta**, vol. 36, n. 2, 2006.

RODRÍGUEZ-CABAL, M.A.; AIZEN, M.A; NOVARO, A.J. Habitat fragmentation disrupts a plant-disperser mutualism in the temperate forest of South, **America Biological Conservation**, vol. 39, p. 195-202, 2007.

ROMAGNOLO, M. B. **A família Myrtaceae na Planície Alagável do Alto Rio Paraná, Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná**, Tese de Doutorado Universidade de Maringá - UEM. 120 p. 2003.

ROMAGNOLO, M. B.; SOUSA, M. C. O. Gênero *Eugenia* L. (Myrtaceae) na planície alagável do Alto Rio Paraná, Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, vol. 20, n.3, 2006.

RÜCKER, G., ASSIS BRASIL E SILVA, G., BAUER, L., SCHIKARSKI, M. Neue inhaltsstoffe aus *Stenocalyx Michelii*. **Planta Medica**, vol.31,p.305-340, 1977.

SATUÉ-GRACIA, M.T.; HEINONEN, M.; FRANKEL, E.N. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome, systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol.45, p.3362-3367, 1997.

SANTOS, A. L. S.; PEREIRA, E. C. G.; CAVALCANTI ANDRADE L. H. :Foret fragmentation due to soil use and environmental degradation, in Junqueiro, AL municipality, **Caminhos de geografia**- revista on line disponível em: <http://www.ig.ufu.br/revista/caminhos.html> ISSN 1678-6343, 2008.

SANTOS, K.; KINOSHITA, L.S. Flora arbustivo-arbórea do fragmento de floresta estacional semidecidual do Ribeirão Cachoeira, município de Campinas, SP. **Acta Botânica Brasileira**, Porto Alegre, vol. 3, n. 17, p. 325-341, 2003.

SANTOS, P. R.; SANTOS, R. M. Estrutura e florística de um remanescente florestal na fazenda ribeirão no município de Juvelina, MG. **Departamento de Ciências Florestais/UFLA**. Lavras, 2004.

SALGUEIRO F.; FELIX, D.; CALDAS, J. F.; MARGIS-PINHEIRO, M.; MARGIS, R. Population differentiation for maternal and biparental gene markers in *Eugenia uniflora*, a widely distributed species from the Brazilian coastal Atlantic rain forest, **Diversity and Distributions**, vol. 10, p. 201-210, 2004.

SCHAPOVAL, E. E. S., SILVEIRA, S. M., ALICE, C. B., HENRIQUES, A.T. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. J. **Ethnopharmacol**, vol. 44, p.137-142, 1994.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; THEODULOZ, C.; FRANCO, L; FERRO, E. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. **Ethnopharmacol**, vol.21,p.183-186, 1987.

SLAVIERO, L. B.; MIOTTO, S. P.; KUBIAK, G. B.; AGUIAR, R. V. DE; ZANELLA, C. A.; GOLUNSKI, C. M.; ZBORALSKI F.; LERIN L. A.; BUDKE, J. C.; MOSSI, A. J.; CANSIAN, R. L. Variabilidade genética de *Eugenia uniflora* L. em áreas conservadas e em

regeneração.<http://www.seb-ecologia.org.br> on line em 2009.

STEBBINS, G.L. **Chromosomal evolution in higher plants** Reading: Addison-Wesley, 1971.

STEBBINS, G.L. Polyploidy in plants: unsolved problems and prospects. **Polyploidy: biological relevance**. New York: Plenum. 1980.

SILVA, A.L. G.; PINHEIRO, M. C. B. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia L.* (Myrtaceae) **Acta Botanica Brasiliensi**, vol. 21, p. 235-247, 2007.

SOUZA, J. A. DE; SCHUCH, M. W.; SILVA, L. C. DA; FERRI, J.; SOARES, G. C. solidificante no meio de cultura e tamanho do explante no estabelecimento da propagação in vitro de pitangueira (*Eugenia uniflora L.*). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, 2007.

SOUSA, F. V. **Microsporogênese em milho forrageiro (*Zea mays L.*)** Dissertação Universidade Estadual de Maringá, 2010.

SOFFIATTI, P.; ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Estudo anatômico comparativo do lenho e da casca de duas espécies de *Eugenia L.* (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, vol.22, p.275-284, 1999.

TECHIO, V. H. **Meiose e análise genômica em *Pennisetum spp.*** Tese (Doutorado em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG. 2002

TURNER, I. M. Species loss in fragments of tropical rain forest: a review of the evidence. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, vol. 33, n. 2, p. 200-209, 1996.

YOUNG, A.; BOYLE, T.J. Forest fragmentation. Forest conservation genetics: principles and practice. **Collingwood, Csiro Publishing**. p.123-132. 2000.

VENDRUSCOLO, G. S. ; MENTZ, L. A. Estudo da concordância das citações de uso e importância das espécies e famílias utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, RS, Brasil. **Acta botânica brasilica** vol 20(2), p. 367-382, 2006.

VISOTTO, M. Fitoquímicos em pitanga (*Eugenia uniflora L.*): seu potencial na prevenção e combate à doenças. III Simpósio nacional do morango. **II Encontro sobre pequenas frutas e Frutas nativas do Mercosul** especial. 40-42. 1992. ISSN 1806-9193, 2006. Documentos 171 On line, <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br>

VIANA, V. M.; TABANEZ, A. J. A.; MARTINEZ, J. L. A. Restauração e manejo de fragmentos florestais. In: **CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, 1992, São Paulo, SP. Conservação da biodiversidade: anais**. São Paulo: Instituto

Florestal, 1999

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol.44, p.701-705, 1996.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Oxigen radical absorbing capacity of anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol.45, p.304-309, 1997.

WYERSTAHL, P.; MARSCHALL-WYERSTAHL, H.; CHRISTIANSEN, C.; OGUNTMEIN, B. O.; ADEOYE, A. O. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* L. leaf oil. **Planta Medica**, vol.6, p.546-549, 1988.