



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Museu Nacional
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

**ANATOMIA E DESENVOLVIMENTO DA FLOR
DE *Eugenia neonitida* Sobral (MYRTACEAE).**

Rafael Ribeiro Pimentel

Orientadores: Dra. Lygia Dolores R. S. Fernandes
Dr. Joecildo Francisco Rocha

Rio de Janeiro
2010

**Universidade Federal do Rio de Janeiro
Museu Nacional
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)**

**ANATOMIA E DESENVOLVIMENTO DA FLOR
DE *Eugenia neonitida* Sobral (MYRTACEAE).**

**Orientadores: Dra. Lygia Dolores R. S. Fernandes
Dr. Joecildo Francisco Rocha**

**Rafael Ribeiro Pimentel
2010**

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Museu Nacional
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

**ANATOMIA E DESENVOLVIMENTO DA FLOR
DE *Eugenia neonitida* Sobral (MYRTACEAE).**

Rafael Ribeiro Pimentel

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Museu Nacional, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Botânica).

Orientadores: Dra. Lygia Dolores Ribeiro de Santiago Fernandes
Dr. Joecildo Francisco Rocha

Rio de Janeiro
2010

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Museu Nacional
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

**ANATOMIA E DESENVOLVIMENTO DA FLOR
DE *Eugenia neonitida* Sobral (MYRTACEAE).**

Rafael Ribeiro Pimentel

Aprovada por:



Dra. Bárbara de Sá Haiad (Presidente)



Profa. Dra. Silvia Rodrigues Machado



Prof. Dr. Joecildo Francisco Rocha

Suplentes:

Profa. Dra. Vania Gonçalves Lourenço Esteves

Profa. Dra. Ana Cláudia de Macêdo Vieira

Rio de Janeiro
2010

FICHA CATALOGRÁFICA

P644 Pimentel, Rafael Ribeiro.

Anatomia e desenvolvimento da flor de *Eugenia neonitida* Sobral (Myrtaceae) / Rafael Ribeiro Pimentel. Rio de Janeiro: UFRJ/MN, 2010. xi, 61f.: il. color. ; 30 cm.

Orientadores: Lygia Dolores Ribeiro de Santiago Fernandes e Joecildo Francisco Rocha.

Dissertação (Mestrado) – UFRJ/ Museu Nacional/ Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), 2010.

Referências Bibliográficas: f. 53-61.

1. Myrtaceae. 2. *Eugenia*. 3. *E. neonitida*. 4. Botânica - Anatomia. I. Santiago-Fernandes, Lygia Dolores Ribeiro de. II. Rocha, Joecildo Francisco. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro. IV. Museu Nacional (Brasil). Programa de Pós-Graduação em Botânica. V. Título.

CDD 583.42

À Emília Martins Ribeiro

AGRADECIMENTOS

À Inteligência suprema, causa primária de todas as coisas, por consentir a vida.

À Rosa Maria Ribeiro Pimentel, pelo apoio constante e incondicional.

À Samara dos Santos Pimentel, pela cumplicidade na vida e paciência no lar.

Aos meus Irmãos, pelo apoio e incentivo.

Aos meus sogros, cunhados e cunhadas, pela compreensão.

Aos meus sobrinhos e sobrinhas, por compreenderem os passeios menos frequentes nestes dois anos.

Aos meus orientadores, Profa. Dr^a. Lygia Dolores Ribeiro de Santiago Fernandes e Prof. Dr. Joecildo Francisco Rocha, pelas orientações de valor inestimável e pelos conhecimentos compartilhados de forma sempre prazerosa.

À Lygia, pelos puxões de orelha, por me apontar novos horizontes e pelos momentos de devaneios filosóficos transcendentais, nos quais, juntamente com a Bárbara, nos aventuramos a encontrar as respostas dos grandes mistérios do universo. Momentos estes que quase sempre culminavam em olhares perdidos num ponto que, fisicamente, correspondia a um do canto da sala.

Ao Joel, pelo companheirismo, pela prestatividade e apoio fraternal na vida, pelas oportunidades oferecidas e, principalmente, pela confiança depositada neste seu eternamente grato aprendiz. Que essa parceria frutífera possa permanecer muito além desta inadequada grandeza chamada tempo.

À Dr^a. Bárbara de Sá Haiad, pelas revisões.

À Bárbara, pelas dicas, conselhos, troca de informações e sobre tudo, pelo comprometimento desinteressado com este trabalho. Tudo isso sempre permeado pelo bom-senso e discrição.

Ao Dr. Marcelo da Costa Souza pela identificação da espécie estudada e pelas informações muito importantes, principalmente aquelas com vistas ao futuro deste e outros trabalhos.

Ao Marcelinho, pela paciência.

Ao Guilherme Sobrinho e ao Diego, Spala pela ajuda fundamental e pelo belo trabalho realizado na confecção das lâminas.

À André Luiz Guimarães, Bruno Lopes, Daniel Leal, Isabella Haddad, Max Barbosa, Rita Gama e Thiago Oliveira, pela parceria e troca de informações durante todo o trabalho.

Ao Daniel, por ter me treinado nas técnicas que eu não conhecia mas, principalmente pela parceria nas coletas e grandes roubadas.

A Diogo e Luana, pela amizade e momentos de trabalho e risadas.

A coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), em especial à Professora Mariângela Menezes, pela acessibilidade e empenho constante.

À Professora Maria Verônica Leite Pereira Moura, por me apresentar e estimular a trilhar o fascinante caminho da Botânica.

Às Professoras Maria Mercedes Teixeira Rosa, Dória Maria Saiter Gomes e Helena Regina Pinto Lima, da disciplina IB 610- Anatomia Vegetal- da UFRuralRJ, por serem parte fundamental no que me tornei até aqui. Estas carregarão para sempre a culpa de eu me tornar um anatomista.

À Helena, pelo auxílio sem o qual seria impossível o período de estágio que antecedeu ao Mestrado.

Ao Museu Nacional, pela oportunidade única que me foi concedida.

Ao Departamento de Botânica da UFRuralRJ, por ter permitido que parte desta pesquisa fosse realizada em suas instalações, em uma parceria que possibilitou uma troca muito grande de experiências e tornou possível a execução do trabalho.

À CAPES, pela Bolsa de Mestrado e pelo auxílio PROAP para o desenvolvimento do trabalho.

Aos funcionários do Museu Nacional, pela presteza.

A todo cidadão brasileiro que, através de seus impostos, me proporcionou uma oportunidade ímpar, sobretudo àqueles cujos filhos não têm as mesmas oportunidades que eu tive. A estes, empenho minha palavra, na certeza de que restituirei a confiança em mim depositada na forma de produção de conhecimento. E que este conhecimento possa me trazer sabedoria e evolução à humanidade.

RESUMO

Eugenia L., gênero de Myrtaceae Juss. com maior riqueza de espécies, tem apenas uma - *Eugenia uniflora* L. - analisada do ponto de vista da anatomia e desenvolvimento floral. Dentre as outras espécies nativas, encontra-se *E. neonitida* Sobral, conhecida vulgarmente como “pitangão”, de ocorrência restrita às restingas do Rio de Janeiro e Espírito Santo e ameaçada de extinção. O presente trabalho visa fornecer dados relativos à anatomia e ontogênese da flor de *E. neonitida* e contribuir para o esclarecimento de algumas questões fundamentais no grupo. A espécie apresenta meristemas de inflorescência, floral e vegetativo protegidos por apêndices, na base dos quais foi registrada a ocorrência de coléteres. Cavidades esquizógenas secretoras de óleo estão presentes em todo o eixo reprodutivo. A ordem de diferenciação do perianto é centrípeta seguida pelo gineceu, que antecede o androceu. A microsporogênese é simultânea, concomitante com a megasporogênese. O gineceu é bicarpelar, a placenta tem origem caulinar e óvulos bitegmos. A vascularização é feita por oito feixes anficrivais que percorrem o hipanto, onde uma parte diverge para cada verticilo e outra penetra invertida o septo ovariano, de modo a vascularizar a placenta. Os estames apresentam variações no desenvolvimento. Durante a microsporogênese a formação de tétrades foi incompleta em certas lojas, onde foi observada a presença de núcleos extranumerários em alguns microgametófitos. Pôde-se concluir que *E. neonitida* e *E. uniflora* têm semelhanças estruturais, tais como a presença de coléteres, o número de carpelos, a origem caulinar da placenta, o processo de formação do septo ovariano e a vascularização placentária transeptal além das alterações na formação do pólen. Diferenças relativas ao processo de formação das cavidades secretoras, à altura em que a placenta se insere no septo e ao número de tegumentos dos óvulos apontam para uma diversidade estrutural dentro do grupo, o que evidencia a necessidade de mais estudos nesta área para a família.

ABSTRACT

Eugenia L., the most species-rich genus of Myrtaceae Juss., has only one - *Eugenia uniflora* L. - analyzed from the floral anatomy and developmental point of view. *E. neonitida* Sobral, one of the several other native species, known as "pitangão", is threatened and restricted to the *restingas* of Rio de Janeiro e Espírito Santo states. The goal of this work is to provide data of *E. neonitida* related to flower anatomy and ontogeny meaning to contribute to clarify some fundamental questions in the group. The species presents inflorescence, floral and vegetative meristems protected by appendices, in which base coleters occur. Schizogenous cavities secreting oil are present along the reproductive axle. Perianth differentiation is centripetous, followed by gynoecium which precedes androecium. Microsporogenesis is simultaneous and concomitant with megasporogenesis, presenting variations during development. Gynoecium is bicarpelar, with a placenta of caulinar origin and bitegmic ovules. Vasculature is composed by eight amphycribal bundles which runs through the hypanthium where part diverges to each whorl and part inverts and penetrate the ovarian septum, vascularizing the placenta. The stamens present variations in development. During microsporogenesis tetrad formation is incomplete in some loculi, where the presence of extranumerary nuclei has been observed in several microgametophytes. We concluded that *E. neonitida* and *E. uniflora* have several structural similarities, named colleters, the number of carpels, the caulinar origin of placenta, the formation of ovarian septum, the transeptal vascularization of placenta and the vaiations in pollen formation. Differences related to the process of secretory cavities, to the height of placenta insertion in the septum and to the number of ovule teguments points to a structural diversity inside the group, and the necessity of other analyses in the area in the family.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Locais de coleta e hábito dos espécimes estudados.....	23
Figura 2: Inflorescência.....	24
Figura 3: Peças protetoras do meristema da inflorescência	25
Figura 4: Coléteres.....	26
Figura 5: Cavidades secretoras	27
Figura 6: Organogênese floral.....	28
Figura 7: Perianto	29
Figura 8: Androceu.....	30
Figura 9: Androceu.....	31
Figura 10: Androceu e gineceu	32
Figura 11: Gineceu em secção longitudinal.....	33
Figura 12: Secção longitudinal do gineceu.....	34
Figura 13: Gineceu.....	35
Figura 14: Vascularização do gineceu	36
Figura 15: Anomalias no desenvolvimento do androceu	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Local de coleta e habitat dos indivíduos estudados.....	9
Tabela 2: Informação de Voucher dos seis indivíduos de <i>E. neonitida</i> estudados, procedentes da Restinga da Marambaia.....	9

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 MATERIAL E METODOLOGIA	7
3 RESULTADOS	10
3.1 <i>A INFLORESCÊNCIA</i>	10
3.1.1 <i>Ferófilos</i>	10
3.1.2 <i>Prófilos</i>	12
3.1.3 <i>Coléteres</i>	12
3.1.4 <i>Cavidades secretoras</i>	13
3.2 <i>ORGANOGENESE FLORAL</i>	14
3.3 <i>MATURAÇÃO FLORAL</i>	15
3.3.1 <i>Perianto</i>	15
3.3.2 <i>Verticilos reprodutivos</i>	16
a) <i>Androceu</i>	16
b) <i>Gineceu</i>	18
3.4 <i>ANOMALIAS NO DESENVOLVIMENTO ANDROCEU</i>	21
4 DISCUSSÃO	38
5 CONCLUSÕES	50
6 PERSPECTIVAS	51
7 REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

Myrtaceae Juss. abrange 131 gêneros e 4.620 espécies (Stevens, 2001). A família apresenta distribuição pantropical e subtropical (Souza & Lorenzi 2005) tendo, segundo Barroso *et al.* (1984), os maiores centros de diversidade na América Tropical e Austrália. A família é representada por árvores ou arbustos, raramente subarbustos, que apresentam troncos geralmente com córtex esfoliante (Souza & Lorenzi 2005) e pequenos pontos translúcidos nas folhas, flores, frutos e sementes (Barroso *et al.*, 1984), que são definidos anatomicamente por Fontenelle *et al.* (1994) como cavidades secretoras produtoras de óleo. A filotaxia é oposta, raramente alterna (Candolle 1828), e as inflorescências são do tipo panícula ou reduções desta, que levaram à formação de racemo, dicásio trifloro ou à uma única flor (Briggs & Johnson, 1979). As flores são geralmente brancas, bissexuadas, actinomorfas, diclamídeas. Os estames são longamente exsertos e vistosos, geralmente numerosos e livres, com anteras rimosas, raramente porcidas (Souza & Lorenzi, 2005). O ovário é sempre ínfero, com número variável de lóculos e de óvulos. As flores apresentam um hipanto pouco ou não projetado acima do ovário (Barroso *et al.*, 1984). Os frutos são do tipo baga, drupa, cápsula ou núcula (Souza & Lorenzi, 2005). A família abrange espécies que se destacam do ponto de vista econômico, industrial, ornamental e alimentar como o “eucalipto”, o “cravo-da-índia”, e frutíferas como a “goiabeira”, a “jabuticabeira” e a “pitangueira” (Souza & Lorenzi, 2005).

No Brasil ocorrem 23 gêneros e aproximadamente 1000 espécies de Myrtaceae, caracterizando-se como uma das famílias mais representativas na flora do país, com destaque para a Mata Atlântica, sobre tudo, na fisionomia Restinga (Souza & Lorenzi, 2005). A família está entre aquelas de maior riqueza de espécies na Restinga da Marambaia, com 30 espécies subordinadas a onze gêneros, os quais se distribuem entre as subtribos *Eugeniinae* O. Berg, *Myrciinae* O. Berg e *Myrtinae* Burnett (Souza, 2005). O gênero com maior riqueza de espécies é *Eugenia* L., com treze espécies. Da totalidade de espécies vegetais levantadas para a Marambaia, quarenta e uma encontram-se incluídas na lista de espécies ameaçadas de extinção no município do Rio de Janeiro (Conde *et al.*

2005). Dentre estas se encontra *E. neonitida* com ocorrência na formação herbácea fechada de cordão arenoso, na arbustiva aberta não inundável, na arbustiva fechada de cordão arenoso, na arbustiva fechada de pós-praia e na floresta de duna (Souza, 2005).

Myrtaceae é uma família bem delimitada, porém com problemas na circunscrição de grupos infrafamiliares os quais têm sido alvo de investigação por parte de pesquisadores como Candolle (1828), Johnson & Briggs (1984), Wilson *et al.* (2001, 2005) e Lucas *et al.* (2005, 2007). O trabalho de identificação das espécies de Myrtaceae é difícil e tedioso (McVaugh 1963) pela semelhança da maioria de seus caracteres. Uma delimitação mais confiável dos diferentes táxons só pode ser alcançada através de levantamento cuidadoso das espécies de cada região, aliado a estudos de biosistemática (Barroso *et al.* 1984). Estas dificuldades também são destacadas por Kawasaki (1989) e Proença (1990). Barroso & Peixoto (1995) atribuem as referidas dificuldades taxonômicas ao que denominam de “forte paralelismo filogenético”, às diferentes interpretações dos caracteres morfológicos e às coleções pouco representativas em relação à variabilidade e à distribuição geográfica das espécies.

Candolle (1828) dividiu inicialmente a família com base no tipo de fruto em três tribos – *Myrteae* DC., *Leptospermeae* DC. e *Chamelaucieae* DC. - que incluíam gêneros com, respectivamente, frutos carnosos multiloculares, secos multiloculares e secos com um único lóculo. Esta classificação, com pequenas variações, permaneceu vigente até o final do século XX. Kausel (1956, 1966 *apud* Lucas *et al.*, 2007 p.1105-1107) propôs uma divisão em dois grupos e cinco subfamílias, baseada no tipo de germinação. No entanto, a maioria dos autores reconhecia apenas as tribos *Leptospermeae*, com frutos capsulares e distribuição paleotropical e *Myrteae*, com frutos carnosos e com a maioria das espécies ocorrendo na América do Sul (Lucas *et al.*, 2005).

As subfamílias de Myrtaceae foram primeiramente contestadas por Johnson & Briggs (1984), ao utilizarem caracteres morfológicos e anatômicos como a vascularização do óvulo. Posteriormente, dados morfológicos e moleculares foram combinados em estudos filogenéticos (Wilson *et al.* 2001).

Análises moleculares trouxeram novas contribuições à sistemática da família. Embora a família tenha sido reconhecida como monofilética, foi proposta a redefinição dos táxons infrafamiliares, dada a inconsistência dos caracteres tradicionalmente utilizados nas delimitações. O fruto carnosos, considerado típico de *Myrtoideae*, provavelmente surgiu independentemente em três ocasiões distintas na evolução da família, não sendo, portanto, confiável como caráter taxonômico (Wilson *et al.* 2001). Em uma nova proposta, os gêneros anteriormente pertencentes às famílias Chamelauciaceae F. Rudolphi, Heteropyxidaceae Engl. & Gilg, Kaniaceae Nakai, Leptospermaceae F. Rudolphi, Melaleucaceae Vest, Myrrhniaceae Arn., e Psiloxylaceae Croizat, passam a integrar a família Myrtaceae *sensu lato*, dividida em duas subfamílias: *Myrtoideae* com quinze tribos e *Psiloxylloideae* com duas tribos (Wilson *et al.* 2005).

Incluído em *Myrtoideae (sensu Wilson)*, *Eugenia* L. é um gênero com cerca de 1000 espécies, a maioria de ocorrência nas Américas Central e do Sul (Van der Merwe *et al.*, 2005). O número total de espécies incerto é devido aos vários problemas nomenclaturais envolvidos (Souza, 2005). Para o Brasil estima-se em 350 o número de espécies (Landrum & Kawasaki 1997). O gênero está representado por arbustos ou árvores com inflorescências em díades, fascículos, ou racemo tipo stenocalyx (Souza, 2005). As flores possuem quatro sépalas e quatro pétalas. Os botões apresentam cálice aberto deixando o ápice do globo petalífero visível ou oculto pelos lobos do cálice. O ovário é bilocular, pluriovulado. O fruto é do tipo bacáceo globoso, elipsóide ou piriforme, amarelo, vermelho ou atropurpureo quando maduro, com cálice persistente (Souza 2005). Os dados morfológicos e anatômicos existentes até o momento não auxiliaram a aprimorar a classificação do gênero principalmente porque as espécies são muito similares, sendo *Eugenia* um dos gêneros de tratamento mais difícil dentre as Angiospermas (Van der Merwe *et al.*, 2005). Dada à homoplasia de muitos dos caracteres morfológicos de Myrtaceae e da tribo *Myrteae* em particular, à qual está subordinado o gênero *Eugenia*, este grupo necessita de mais estudos para que caracteres estruturais possam ser utilizados em estudos filogenéticos (Lucas *et al.*, 2007).

As espécies de *Eugenia* apresentam grãos de pólen como recurso floral (Faegri & Pijl, 1979; Proença & Gibbs, 1994; Lughadha & Proença, 1996) desempenhando, segundo Silva & Pinheiro (2007), um importante papel na manutenção deste recurso nas restingas. O número de sementes varia de um a dois (Souza, 2005) como é característico da família (Pizo, 2002).

A primeira contribuição relativa à anatomia floral para o gênero *Eugenia* foi de Lopes (2008) que descreveu para *Eugenia uniflora* L. pela primeira vez na família, a estrutura dos coléteres coléteres, estabeleceu o gineceu como bicarpelar e o óvulo como unitegmo. O autor relata ainda, para alguns indivíduos com grande incidência de galhas, variações no desenvolvimento floral tais como: ausência do tecido transmissor no septo ovariano, óvulos com nucelos sem qualquer evidência da presença de saco embrionário, a presença de dois sacos embrionários lado a lado, anteras com tapete degradado e grãos de pólen completamente colapsados ou com proliferação de células formando uma massa multicelular amorfa. Embora *E. uniflora* tenha evoluído a partir de um grupo com placentação na região mediana do septo (Lucas *et al.*, 2007), Lopes (2008) descreve para esta espécie óvulos com placentação axial basal, como consequência de uma origem septal mista.

Conhecida vulgarmente como “pitangão” ou “pitangatuba”, *Eugenia neonitida* Sobral tem ocorrência restrita às restingas do Rio de Janeiro e Espírito Santo, distribuindo-se pela Restinga da Marambaia, Grumari, Jacarepaguá, Maricá, Cabo Frio, Barra de São João e Macaé (Souza, 2005), sendo seus frutos amplamente apreciados pelas populações locais, representando uma ótima fonte de macro e micronutrientes para alimentação humana (Vilar *et al.*, 2006), usado *in natura* ou no preparo de bebidas (Souza, 2005). Tratam-se de arbustos de até 2,5 metros de altura, com folhas elípticas de ápice curto e bordo revoluto. A inflorescência é do tipo racemo stenocalyx axilar terminal, que apresenta raque com 1-2 pares de flores; ferófilos elíptico-ovados na base do antopódio e prófilos elípticos ou ovados ocultando o ovário. Os botões florais são globosos, com até 8 x 8 mm, com cálice ocultando o globo petalífero (Souza, 2005). As flores são bissexuais, com quatro pétalas alvas curvadas sobre o hipanto e quatro sépalas também flexionadas sobre esta estrutura, proporcionando um maior destaque ao

androceu. O androceu é polistêmone, os estames estão distribuídos sobre o hipanto, ao redor do estilete, e apresentam filetes filiformes e anteras globosas, bitecas de deiscência longitudinal e coloração branca. O estigma é diminuto, seco e formado por papilas. (Silva & Pinheiro, 2007). Frutos oblongos, em média com 3 cm de comprimento e 2,5 cm de largura. Durante o processo de amadurecimento, a cor dos frutos passa do verde até o amarelo vivo (Vilar *et al.*, 2006).

As flores de *E. neonitida* são, como as demais do gênero, generalistas e subordinadas à categoria de “flores-pólen”. A antese é diurna, por apenas um dia, sendo as flores visitadas por uma ampla variedade de insetos, incluindo himenópteros, dípteros, coleópteros e neurópteros, totalizando 29 espécies. As abelhas são os visitantes mais comuns e, dentre elas, *Apis mellifera* Linnaeus, 1758, é considerada o polinizador efetivo da espécie. A floração é anual e em massa, ocorrendo do final de agosto até início de dezembro, com frutificação de outubro até início de janeiro (Silva & Pinheiro 2007). O período de floração é varia segundo diferentes autores: de setembro a fevereiro com frutificação de outubro a março (Souza, 2005), ou de outubro a novembro com frutificação de novembro a janeiro (Vilar *et al.* 2006).

E. neonitida encontra-se incluída por Di Maio & Silva (2000) na categoria “Vulnerável (VU)” da lista de espécies ameaçadas de extinção no município do Rio de Janeiro, onde aparece referida pelo sinônimo *Eugenia nitida* Cambess. Sua inclusão na categoria vulnerável, o habitat restrito, o potencial nutritivo e a falta de dados anatômicos, tornam urgente conhecê-la mais profundamente.

Lucas e colaboradores (2005) apontam *E. neonitida* (referida novamente por *Eugenia nitida* Cambess.) e *E. uniflora* como estreitamente relacionadas. *E. neonitida*, *E. uniflora* e *E. sulcata* compartilham caracteres morfológicos como hipanto e fruto 8-costado (Souza 2005). Considerando a proximidade filogenética dos táxons, o presente trabalho objetiva analisar a anatomia e a ontogênese da flor de *E. neonitida*, formulando a hipótese de que a espécie compartilha os mesmos estados dos caracteres apontados por Lopes (2008) para *E. uniflora*. Num contexto mais amplo, busca-se fornecer dados estruturais mais aprofundados sobre o desenvolvimento floral em *Eugenia* de modo a contribuir

para o esclarecimento de questões fundamentais como o número de carpelos, a origem do septo e a natureza da placentação no grupo.

2 MATERIAL E METODOLOGIA

O material analisado consta de amostras de seis indivíduos de *E. neonitida* ocorrentes em populações naturais (Fig.1 A-G) de diferentes locais da Restinga da Marambaia (tabela 1). Localizada na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, a Marambaia compreende uma faixa de terra estreita, plana, arenosa com cerca de 40Km de extensão conhecida localmente como Restinga da Marambaia e uma parte alargada, montanhosa, de formato triangular, com cerca de 6Km na sua porção norte/sul, denominada localmente de Ilha da Marambaia. Entre a Restinga e a Ilha há um trecho alargado e uma baía formada pela projeção de um esporão arenoso, a Ponta da Pombeba (23°04S / 43°53W). A porção norte da Marambaia está voltada para a Baía de Sepetiba e sua porção sul é banhada pelo Oceano Atlântico. É separada do continente pelo canal do Bacalhau, na Barra de Guaratiba, município do Rio de Janeiro. (Conde *et al.* 2005).

Foram confeccionadas excicatas com material botânico correspondente a cada indivíduo estudado, que se encontram depositadas no herbário do Museu Nacional (R) (Tabela 2).

Primórdios de inflorescência, botões florais e flores coletados em vários estádios de desenvolvimento, foram mensurados, fixados em solução composta por paraformaldeído 4% + glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,05M pH 7,2, desidratados em série etanólica e emblocados em Histoiresin (Leica®). Secções seriadas de 1-3µm de espessura, obtidas com navalha de vidro em micrótomo rotativo Spencer, foram coradas com Azul de Toluidina (Gahan, 1984).

Os materiais foram mensurados levando-se em consideração a maior largura e agrupados nas seguintes classes de tamanho: a) menores que 1mm, b) 1mm (de 1,0 a 1,9mm); c) 2mm (de 2,0 a 2,9mm); d) 3mm (de 3,0 a 3,9mm); e) 4mm (de 4,0 a 4,9mm); f) 5mm (de 5,0 a 5,9mm); g) 6mm (de 6 a 6,9mm); h) 7mm (de 7 a 7,9mm); i) 8mm (de 8,0 a 8,9mm); j) 9mm (de 9 a 9,9mm) e k) flor aberta.

Materiais frescos e fixados em FAA 70 (Johansen 1940) foram seccionados em micrótomo de Ranvier ou emblocados em resina e tratados com Sudan IV (Johansen 1940) e Sudan Black B (Pearse 1980) para detectar a presença de lipídeos em geral; cloreto férrico a 10% (Johansen 1940) e dicromato de potássio 10% (Gabe 1968) para compostos fenólicos; Vermelho de Rutênio para substâncias pécticas (Johansen 1940; Jensen 1962); reagente de Fehling para açúcares redutores (Purvis *et al.* 1964); Lugol para amido (Johansen 1940); ácido periódico/ reagente de Schiff (PAS) para polissacarídeos neutros (Taboga & Vilamaior 2001; Amaral *et al.* 2001); ácido acético e ácido clorídrico para identificar cristais de oxalato de cálcio (Howart & Horner 1959) e solução de azul mercúrio de bromofenol para proteínas (Mazia *et al.* 1953). Foi aplicado tratamento controle para os testes histoquímicos de acordo com a indicação dos respectivos autores acima citados.

As observações foram realizadas em microscopia óptica em campo claro, utilizando-se os equipamentos Leitz Orthoplan e Olympus BX-51, este com sistema de captura de imagens composto por câmera Q color 5 e software Image-Pro Express. Quando necessário, as imagens foram editadas no software PHOTO-PAINT 12 e as pranchas montadas utilizando o CorelDRAW[®]12.

A terminologia referente à morfologia da inflorescência está de acordo com Briggs & Johnson (1979).

As referências bibliográficas seguem as normas do periódico *Annals of Botany* para onde, pelo menos um dos artigos, originados desta dissertação será encaminhado.

Indivíduo	Local	Posição geográfica	Observações
1	Linha II	23°02.927 S 43°37.942 W	Nível do mar. Indivíduo isolado
2	Estrada principal	23°03.072 S 43°35.105 W	1m de altitude. Mata do primeiro cordão arenoso
3	Estrada principal	23°03.012 S 43°35.299 W	3m de altitude. Borda da mata, na beira da estrada
4	Estrada principal	23°02.938 S 43°35.587 W	11m de altitude. Borda da mata, na beira da estrada
5	Linha II	23°02.867 S 43°37.915 W	9m de altitude Borda da mata, área restrita.
6	Linha IV	23°02.753 S 43°35.679 W	14m de altitude, Interior da floresta sobre duna

Tabela 1: Local de coleta e habitat dos indivíduos estudados

Indivíduo	Data de coleta	Coletor, nº de coleta e herbário (acrônimo)	Nº de registro (R)
1	06/IX/2008	R.R.Pimentel 001 (R)	209576
2	06/IX/2008	R.R.Pimentel 002 (R)	209577
3	06/IX/2008	R.R.Pimentel 003 (R)	209578
4	06/IX/2008	R.R.Pimentel 004 (R)	209575
5	06/IX/2008	R.R.Pimentel 005 (R)	209579
6	06/IX/2008	R.R.Pimentel 006 (R)	209580

Tabela 2: Informação de Voucher dos seis indivíduos de *E. neonitida* estudados, procedentes da Restinga da Marambaia.

3 RESULTADOS

3.1 A INFLORESCÊNCIA

As flores de *E. neonitida* estão dispostas em conflorescências racemiformes, cujo eixo principal tem desenvolvimento indeterminado (Fig. 2A) e consiste em um módulo formado por um entrenó curto e dois nós. Durante seu desenvolvimento o meristema da conflorescência, recoberto por ferófilos, dá origem aos dois meristemas florais laterais das uniflorescências, cada qual protegido por prófilos, formando o nó proximal. A partir deste ponto, o meristema da conflorescência forma o entrenó e assume função vegetativa, dando origem ao nó distal onde se desenvolvem folhas protegidas por catafilos. As flores e o eixo vegetativo podem se desenvolver simultaneamente ou não. Neste caso cada um dos meristemas – os dois florais e o da conflorescência - encontra-se em fase diferente de desenvolvimento. (Figs. 2 B-E).

A filotaxia oposta, encontrada no eixo vegetativo é mantida no eixo reprodutivo (Fig. 2B e C). Cada um dos verticilos da conflorescência, desde os ferófilos até os carpelos, apresenta-se em pares opostos decussados.

As flores são diclamídeas, perfeitas com quatro sépalas verdes e quatro pétalas alvas. No botão floral, o cálice aberto torna o globo petalífero visível. O androceu está representado por numerosos estames dispostos sobre o hipanto e radialmente em relação ao estilete formando um “brush”. Os estames apresentam filetes filiformes e anteras brancas, bitecas de deiscência rimosa. O hipanto apresenta forma quadrangular e superfície reta. O ovário é ínfero, bilocular, plurióvulado. O estilete é longo e encontra-se curvado no botão floral. Apesar do estilete não ultrapassar o comprimento dos estames, o estigma papiloso é projetado acima dos estames pela deflexão dos mesmos.

3.1.1 Ferófilos

Os ferófilos que protegem os primórdios da confloração apresentam, em secção transversal, contorno concavo-convexo e, anatomicamente, são revestidos na face abaxial, por epiderme uniestratificada, formada por células de diâmetros pequenos (Fig. 3A) cujas paredes periclinais externas apresentam-se retas a convexas e cutícula delgada. Tricomas tectores unicelulares longos contendo substâncias fenólicas foram observados distribuídos entre as células epidérmicas fundamentais da face abaxial (Fig. 3A e B). Tais tricomas têm origem de células protodérmicas que apresentam núcleo evidente e citoplasma mais denso que as demais (Fig. 3C-E). Com o alongamento celular há uma migração do núcleo, que deixa a base do tricoma (Fig. 3B). Os tricomas exibem paredes espessas, que não se coram com o azul de toluidina (Fig. 3F), impregnadas por lipídios e substâncias fenólicas, também presentes no protoplasto das células tricomáticas, diluídas no vacúolo ou em forma de pequenas esferas (Fig. 3G).

Substâncias fenólicas estão presentes também em outras estruturas do eixo reprodutivo como em idioblastos no parênquima de ferófilos prófilos e sépalas ou junto aos feixes condutores. Tal presença também pode se dar em tecidos como um todo, como no caso do epitélio das cavidades secretoras e das epidermes dos prófilos e ferófilos onde é detectada, preenchendo o vacúolo de forma homogênea, na face abaxial na forma granular, na adaxial. Nas sépalas este conteúdo só é observado na face abaxial. Os fenóis foram detectados ainda na mucilagem dos coléteres, no lume das cavidades secretoras e nos grãos de pólen.

O mesofilo varia em espessura desde a base, mais espessa, até o ápice delgado. É composto por parênquima formado por células de tamanhos e formas variadas. As paredes destas células são delgadas e de natureza pecto-celulósica, deixando entre si meatos de tamanhos variados. Inúmeros idioblastos drusíferos são observados por todo o parênquima (Fig. 3A). Entremeados a este parênquima, junto à face abaxial, são encontradas cavidades secretoras de óleo que serão detalhadas mais adiante. O sistema condutor dos ferófilos é representado por um feixe central do tipo colateral. O xilema é composto por elementos traqueais que apresentam espessamento anelar e espiralado, células parenquimáticas e fibras. O floema é composto dos elementos de tubo crivado, células companheiras e

células parenquimáticas. A epiderme na face adaxial apresenta características semelhantes às das da face abaxial, diferindo por ser glabra (Fig. 3A).

3.1.2 Prófilos

Anatomicamente os prófilos assemelham-se aos ferófilos. Exibem, em secção transversal, um contorno concavo-convexo e são revestidos, na face abaxial, por epiderme uniestratificada, formada por células de diâmetro pequeno e que apresentam paredes periclinais externas convexas. Nesta face estão presentes tricomas semelhantes aos descritos para os ferófilos (Fig. 3H). O mesofilo é composto por parênquima formado por células de tamanho e forma variados, frouxamente dispostas. As paredes celulares são delgadas, de natureza pecto-celulósica. Junto à face abaxial notam-se cavidades secretoras de óleo (Fig. 3H). Nas camadas subepidérmicas da face abaxial são observados plastídeos. Idioblastos drusíferos são observados de forma esparsa por todo o parênquima (Fig. 3H). O feixe condutor é do tipo biclateral. A epiderme na face adaxial é glabra, uniestratificada e apresenta células com paredes periclinais externas retas a convexas.

3.1.3 Coléteres

Na base dos prófilos e ferófilos, notam-se coléteres (Fig. 4A). Estas estruturas também são observadas na base do par de catáfios que protegem a gema vegetativa, na base dos primórdios foliares do ápice da confluência (Fig. 4B).

Os coléteres são formados por oito a dez séries de células de aspecto semelhante que diminuem em número em direção ao ápice (Fig. 4C e D). Estas células são alongadas, com paredes delgadas, citoplasma denso, núcleos evidentes e numerosos vacúolos de tamanho reduzido (Fig. 4C). Nota-se que algumas células sofrem afastamento, deixando entre si grandes espaços intercelulares preenchidos por secreção mucilaginosa (Fig. 4D-F) composta por

polissacarídeos ácidos e neutros, substâncias lipofílicas e fenólicas. Esta mesma mucilagem é encontrada entre os coléteres, envolvendo os tricomas tectores (Fig. 4E).

Inseridos na região da depressão entre os primórdios dos prófilos e da sépala, os coléteres têm origem exclusivamente protodérmica (Fig. 4G e H) a partir de divisões periclinais seguidas de sucessivas divisões anticlinais e oblíquas. Adjacente aos prófilos, a diferenciação dos coléteres ocorre simultaneamente com a formação das sépalas. Durante o processo de senescência o vacuoma se torna mais desenvolvido e há um aumento no acúmulo de substâncias fenólicas. (Fig. 4A).

3.1.4 Cavidades secretoras

As cavidades estão presentes em todo o eixo reprodutivo, localizando-se na face abaxial dos ferófilos, prófilos, sépalas e pétalas, na periferia do hipanto, no conectivo das anteras e ao longo do estilete. As cavidades têm início a partir de uma célula protodérmica que se diferencia das demais pelo citoplasma denso e núcleo conspícuo. Esta célula sofre uma primeira divisão no sentido periclinal e, através de sucessivas divisões mitóticas são formados grupos de células com as mesmas características da célula original (Fig. 5A e B). O aumento do volume deste grupo de células parece comprimir as células parenquimáticas adjacentes, formando uma bainha de células alongadas ao redor das cavidades (Fig. 5C e D). Em um certo momento as células que darão origem ao epitélio começam a se afastar da região central, deixando entre si espaços intercelulares que darão origem ao lume (Fig. 5E e F). Na maturidade as cavidades são formadas pelo lume de origem esquizógena, epitélio secretor composto por células tabulares pouco vacuolizadas e bainha parenquimática formada por um a dois estratos de células (Fig. 5G). O processo de desenvolvimento das cavidades é basípeto em cada verticilo e acompanha a ordem de diferenciação dos verticilos. Com a maturação do órgão pode haver a internalização da cavidade no tecido parenquimático (Fig. 5H), através da multiplicação das células parenquimáticas situadas entre a epiderme e a cavidade, bem como a fusão de duas ou mais

cavidades. No estágio pós-secretor as células do epitélio apresentam-se fortemente vacuolizadas e colapsadas (Fig. 5H) podendo haver lise das mesmas. Os testes histoquímicos revelaram a presença de lipídeos e de polissacarídeos ácidos e neutros nas células epiteliais e no lume das cavidades.

3.2 ORGANOGÊNESE FLORAL

1º Estádio – Estabelecimento do domo do meristema floral, protegido pelo ferófilos adjacentes, coléteres, tricomas simples e mais internamente, pelos primórdios dos prófilos (Fig. 6A).

2º Estádio - A diferenciação dos verticilos florais tem início a partir das sépalas, em botões com menos de 1,0 mm de espessura. Nesta fase são observados os primórdios dos prófilos cujas células protodérmicas encontram-se caracteristicamente com núcleos na posição mediana. Os primórdios das sépalas são vistos como pequenos lobos que se projetam do meristema floral que, nesta fase, apresenta-se côncavo (Fig. 6B e C).

3º Estádio - Inicia-se a diferenciação das pétalas. Os prófilos já apresentam epiderme diferenciada exibindo, na face abaxial, tricomas semelhantes aos descritos para os ferófilos. Tanto nos tricomas como nas células epidérmicas fundamentais nota-se conteúdo de natureza fenólica. Os elementos condutores estão em fase de diferenciação, ocorre o espessamento dos elementos de vaso. Junto à face abaxial, cavidades secretoras podem ser observadas em fase inicial de formação na porção basal dos prófilos e em fase de afastamento das células epiteliais na posição distal dos mesmos. As sépalas apresentam epiderme em diferenciação com núcleos na posição central e intensa atividade de divisão no sentido anticlinal. O procâmbio pode ser observado em início de diferenciação. As pétalas são vistas como pequenos lobos que se projetam da região meristemática junto à base das sépalas (Fig 6D).

4º Estádio - Quando as pétalas ainda são vistas como pequenos lobos meristemáticos tem início a formação do gineceu (Fig 6E), interrompendo desta

forma o desenvolvimento sequencial dos verticilos. Nesta fase o gineceu aparece, em secções longitudinais, como duas pequenas protuberâncias no meristema apical, originadas por divisões nos sentidos periclinal e oblíquo na L2 (Fig 6F).

5º Estádio - Na fase seguinte, em botões ainda menores que 1,0 mm, inicia-se a formação do androceu. Nesta fase as sépalas exibem tricomas na face abaxial e cavidades secretoras em início de formação. As pétalas apresentam estrutura dorsiventral e se recurvam umas sobre as outras (Fig 6G) exibindo um ápice meristemático e uma região basal parenquimática em intenso processo de divisão celular. Os estames encontram-se ainda na fase de primórdios, localizados na depressão formada entre os lóbulos petalíferos e o gineceu. Nesta fase o gineceu exibe os dois carpelos com ápices livres e base adnata. Evidencia-se no gineceu uma porção interna com características meristemáticas (Fig 6H).

3.3 MATURAÇÃO FLORAL

3.3.1 Perianto

Botões de 2,0 mm – Os botões apresentam sépalas e pétalas recurvadas (Fig. 7A), ou as sépalas estão mais eretas (Fig. 7B). As sépalas exibem epiderme uniestratificada formada por células pequenas (Fig. 7C) com paredes periclinais externas retas ou pouco convexas. Na face abaxial notam-se estômatos e tricomas tectores (Fig. 7C). O mesofilo das sépalas nesta fase apresenta de quinze a dezesseis estratos de células parenquimáticas, muitas em divisão, de formas e tamanhos variados e de arranjo compacto. Junto à face abaxial, notam-se algumas cavidades secretoras em fase de formação do lume e outras completamente formadas (Fig. 7B e C). O sistema condutor está totalmente diferenciado e apresenta feixes do tipo anficrival. As pétalas estão em estágio precoce de desenvolvimento. A protoderme apresenta núcleos na posição central na face abaxial (Fig. 7C). As cavidades secretoras estão na fase de início de diferenciação das células que darão origem ao epitélio secretor. No procâmbio elementos condutores já estão em diferenciação (Fig. 7C).

Botões de 4,0 mm - As sépalas encontram-se eretas, distendidas e quase se tocam pelos ápices, enquanto as pétalas estão recurvadas formando o globo petalífero (Fig. 7D). Sépalas e pétalas exibem estrutura anatômica semelhante. A epiderme e os feixes vasculares encontram-se totalmente diferenciados (Fig. 7E e F). O arranjo de ambas mostra-se compacto (Fig. 7E e F). Nas sépalas algumas cavidades estão totalmente desenvolvidas enquanto novas continuam a surgir (Fig. 7E). Nas pétalas as cavidades da porção mais basal estão em fase de formação do lume enquanto as cavidades do ápice estão em fase de diferenciação das células do epitélio (Fig. 7F).

Botões de 6,0 mm – As peças dos verticilos protetores completaram sua maturação. Na face abaxial a epiderme das sépalas apresenta uma grande quantidade de conteúdo fenólico sob forma esférica. Nesta face são observados estômatos (Fig. 7G). O mesofilo é formado por 21 a 22 estratos de células parenquimáticas frouxamente dispostas. Nas camadas subepidérmicas junto à face abaxial das sépalas nota-se a presença de plastídeos (Fig. 7G). Algumas cavidades apresentam sinais de senescência: aumento do vacúolo e lise das células do epitélio. Pétalas e sépalas apresentam arranjo semelhante, diferindo basicamente pela ausência, nas pétalas, de plastídeos, estômatos e pela epiderme glabra e sem conteúdo evidente (Fig. 7H). O mesofilo apresenta de 12 a 14 estratos de células parenquimáticas que deixam entre si muitos espaços, proporcionando um arranjo frouxo a este tecido. Algumas cavidades aparecem íntegras (Fig. 7H).

3.3.2 Verticilos reprodutivos

a) Androceu

O androceu é formado por vários verticilos de estames e apresenta desenvolvimento centrípeto. O primeiro verticilo a surgir apresenta quatro primórdios estaminais e a flor em antese possui em torno de 200 estames. Esta

característica faz com que, durante o processo de maturação, o androceu exiba um gradiente de fases de diferenciação.

Botões de 1,0 mm - O androceu apresenta quatro primórdios em posição alternipétala que formam o primeiro e mais externo verticilo estaminal.

Botões de 2,0 mm - O androceu exhibe aproximadamente seis verticilos estaminais. Nos verticilos mais externos filetes e anteras estão em diferenciação, enquanto nos mais internos observam-se apenas protuberâncias meristemáticas. (Fig. 8A)

Botões de 4,0 mm – Há diferenciação entre filete e antera em todos os verticilos estaminais. Em algumas anteras, o tecido arqueespórico ainda não iniciou a individualização do tapete e do tecido esporogênico (Fig. 8B). No ápice do conectivo podem ser observadas cavidades secretoras em estágio de afastamento das células, que darão origem ao epitélio (Fig. 8C). O conectivo é parenquimatoso e o feixe vascular é procambial (Fig. 8B). Nesta fase ocorre um característico aumento no número e no tamanho dos estames, enquanto as células do hipanto estão em processo de divisão celular acelerado (Fig. 8D).

Botões de 5,0 mm – Esta fase marca o início da microesporogênese. A parede das anteras apresenta epiderme e dois a três estratos parenquimatosos. Nas células parenquimatosas do conectivo são observados cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (Fig. 8E). O feixe condutor diferenciado é do tipo anficrival. Nesta fase a diferenciação entre o tapete e tecido esporogênico já ocorreu (Fig. 8E-H). Esta diferenciação parece se dar simultaneamente em toda a extensão da loja de uma mesma antera. O tapete encontra-se totalmente diferenciado destacando-se do tecido esporogênico pela posição e pela reação mais intensa ao corante. Suas células são volumosas, com citoplasma denso e muitas vezes se projetam para o interior da loja (Fig. 8E-H). No tecido esporogênico iniciou-se a deposição da parede de calose. As anteras e as lojas de uma mesma antera estão em diferentes fases da meiose (Fig. 8E-H). Notam-se a prófase meiótica do microsporócito, caracterizada pela presença de vacúolos nucleares (Fig. 8E),

anáfase (Fig. 8F), díades (Fig. 8G) e tétrades (Fig. 8H). A formação das paredes ocorre simultaneamente nas tétrades ao final da meiose.

Botões de 7,0 mm – As anteras exibem epiderme, endotécio e as camadas internas da parede comprimidas. Nota-se o início da degradação do tapete (Fig. 9A-C). Observam-se, nesta fase, lojas contendo apenas tétrades (Fig. 9A), lojas com tétrades e grãos de pólen livres (Fig. 9B) e, ainda, lojas que exibem apenas grãos de pólen livres (Fig. 9C). Nestas últimas pode-se observar desde a divisão do núcleo da célula vegetativa até o estágio de grão de pólen binuclear (gametófito imaturo) (Fig. 9C).

Botões de 9,0 mm – No hipanto são observadas cavidades secretoras e tricomas tectores junto à base dos filetes, os quais apresentam uma região meristemática (Fig. 9D). Nas proximidades da antera, o filete, com feixes anficrivais, é envolvido pela base do conectivo e ambos se fundem em direção ao ápice (Fig. 9E-I). A epiderme das anteras apresenta-se com as células distendidas e cutícula espessa. As paredes do endotécio sofreram espessamento marcante em relação à fase anterior. Os estratos parietais encontram-se colapsados (Fig. 10A). A região do estômio está completamente delimitada (Fig. 10 B). O parênquima do conectivo apresenta drusas (Fig. 9G e H) e grãos de amido. As lojas das anteras encontram-se unidas pela base (Fig. 9E). O tapete pode estar íntegro ou degradado e todas as lojas exibem grãos de pólen livres.

Flor – Os grãos liberados reagem positivamente para lipídeos, substâncias fenólicas e polissacarídeos ácidos e neutros.

b) Gineceu

Os carpelos em número de dois surgem com bases adnatas e ápices livres (Fig. 10 C-E) que assim permanecem durante o desenvolvimento do gineceu e dão origem à fenda do estigma (Fig. 10 F-H).

Botões de até 1,0 mm - O primórdio do gineceu se apresenta como dois lóbulos revestidos de protoderme (Fig. 10 C-E e I). Estes lóbulos delimitam uma

pequena câmara cuja base apresenta-se levemente convexa com células adjacentes meristemáticas. (Fig. 10 I). Entre os dois lóbulos, correspondentes às folhas carpelares, surge um eixo que tem origem no meristema da base da câmara (Fig. 10J).

Botões de 2,0 mm - Ocorre a diferenciação da superfície estigmática caracterizada pela formação de papilas (Fig. 10F-H e 11A). A superfície interna dos carpelos exibe um tecido formado por células de parede delgada, citoplasma denso, núcleos conspícuos e vacúolos pequenos e numerosos (Fig. 11A e B). Esse tecido dará origem ao tecido transmissor. Nota-se no espaço entre os carpelos uma secreção que se tingem de rosa quando submetida ao azul de toluidina (Fig. 11A e B). O eixo, de origem caulinar, apresenta-se revestido pela protoderme abaixo da qual notam-se duas camadas de células com características meristemáticas e na porção mais basal nota-se células em intensa atividade de divisão do sentido periclinal (Fig. 11B). Tal eixo, nesta fase, aparece fundido com os bordos dos carpelos formando um septo. (Fig. 11B).

Botões com 4,0 mm - O estilete encontra-se mais alongado e pode-se observar o procâmbio e idioblastos drusíferos. Os lóculos do ovário estão totalmente delimitados (Fig. 11C) e exibem placenta com vários primórdios de óvulos com traços em fase procambial (Fig. 11D).

Nos botões de 5,0 mm o estilete apresenta o tecido transmissor diferenciado com uma fenda logitudinal no interior de sua porção basal. Alguns dos feixes vasculares que contornam o ovário sobem em direção à porção distal do estilete e estão dispostos em torno do tecido transmissor (Fig. 11E). Notam-se cavidades na base do estilete (Fig. 11E). O tecido transmissor se estende até a região do compito onde diverge para cada um dos dois lóculos. Nesta região do septo não há fusão entre a porção deprimida do estilete (com o tecido transmissor) e a porção que teve origem da fusão do eixo caulinar com os bordos dos carpelos, e a qual dá origem à placenta. (Fig. 11F). Os lóculos do ovário estão mais dilatados e os óvulos apresentam um sincronismo no desenvolvimento. Todos os óvulos nesta fase apresentam o nucelo totalmente recoberto e a micrópila é formada por dois tegumentos. (Fig. 11G). O tegumento

externo apresenta epiderme formada por células mais alongadas no sentido anticlinal, notando-se nesta fase uma polarização destas células, com o vacúolo posicionado adjacente à parede periclinal externa e o citoplasma, à interna. As células do tegumento externo são maiores e mais vacuolizadas, quando comparadas às do tegumento interno. O tegumento interno, nesta fase, é mais delgado e formado por células de dimensões reduzidas, citoplasma denso, núcleos conspícuos e reduzidos vacúolos. Os óvulos são crassinucelados, e exibem o megasporócito já diferenciado e em fase de prófase, posicionado a três camadas abaixo da epiderme (Fig. 11H).

Botões de 7,0 mm – O tecido transmissor do estilete é formado por células estreitas e muito alongadas, de parede delgada, citoplasma denso, núcleos alongados e pouco vacuolizadas. Na fenda existente no interior do tecido transmissor nota-se uma secreção que se torna rosada quando corada com o Azul de Toluidina (Fig. 12A). No óvulo, o nucelo estende-se além dos dois tegumentos. O tegumento externo está mais espesso e o tegumento interno, agora com células mais vacuolizadas do que na fase anterior, se alonga além do tegumento externo (Fig. 12B e E). Nesta fase percebe-se um desenvolvimento desigual dos óvulos entre botões da mesma classe de tamanho. Nos óvulos de alguns botões o esporócito está em divisão meiótica, ou o megásporo funcional já se estabeleceu (Fig. 12C e D), enquanto que, em outros botões, o saco embrionário, em posição centralizada no nucelo, já iniciou o desenvolvimento (Fig. 12E).

Botões de 9,0 mm – Os botões atingem a pré-antese. O tecido transmissor e o parênquima a ele adjacente são ricos em grãos de amido (Fig. 12F). Os óvulos são anátropos, crassinucelados (Fig. 12G) e bitegmentados (Fig. 12H). As células do nucelo próximas ao saco embrionário são ricas em grãos de amido e possuem citoplasma mais denso, se comparadas às células da periferia (Fig. 12I).

Flor - O tecido transmissor desce até a região do compito como um cilindro único, e a partir daí, diverge lateralmente em direção aos lóculos (Fig. 13A). O compito é observado no ápice da região de fusão entre a placenta e o septo (Fig.

13B). Os óvulos aumentaram de volume, preenchendo quase todos os espaços dos lóculos (Fig. 13C). Nesta fase eles são tipificados como anacampilótropos (Fig. 13D e F). A micrópila é formada pelo tegumento interno (Fig. 13D e E). Notam-se grãos de amido nas células do nucelo, dos tegumentos e funículo (Fig. 13D, F-H). O saco embrionário é estreito e alongado e possui sete células e oito núcleos (Fig. 13F e G). A oosfera apresenta o núcleo centralizado e citoplasma denso (Fig. 13H).

Vascularização – A vascularização do gineceu tem origem no feixe condutor bicolateral do pedúnculo. Na base do hipanto esse feixe se divide em oito feixes anficrivais (Fig. 14A) que percorrem o hipanto até seu ápice, aonde divergem em direção às sépalas, pétalas e estames. Na altura da base do ovário é observada uma vascularização muito incipiente, pequenos agrupamentos de floema, que por vezes penetram transversalmente o septo (Fig. 14B). A vascularização da placenta é feita por vários feixes se originam em diferentes níveis do tubo floral, penetram nos bordos carpelares fundidos e se unem na sua maior parte formando dois grandes feixes compostos que descem, invertidos, até a placenta (Fig. 14C). Nesta região formam um plexo que consiste em uma massa sólida de xilema e floema (Fig. 14D e E) de onde seguem os feixes ovulares (Fig. 14F). No terço superior do ovário ocorre a divergência entre os feixes direcionados à placenta (Fig. 14C e F) e aqueles que seguem para o estilete (Fig. 14C e G).

3.4 ANOMALIAS NO DESENVOLVIMENTO ANDROCEU

Durante o desenvolvimento do androceu de alguns indivíduos foram observadas anomalias. No indivíduo 2 algumas células do tecido arquesporral degeneraram nos botões de 2,0mm (Fig. 15A). Estes botões se apresentam em fase de desenvolvimento semelhante a dos botões de 4,0 mm já descritos. No indivíduo 1, nos botões de 7,0 mm, ocorre maior número de anomalias na

formação dos grãos de pólen. Alguns grãos de pólen deste indivíduo apresentaram além do núcleo generativo e do núcleo da célula vegetativa, várias estruturas de contorno circular similares a núcleos. Estas se coram com Azul de Toluidina na mesma intensidade e tonalidade que o núcleo vegetativo. (Fig. 15B-D).

Em algumas anteras de desenvolvimento aparentemente normal, algumas lojas apresentaram tétrades e grãos com formas irregulares (Fig. 15E). Estas formas assemelham-se a tétrades cujas paredes não se formaram totalmente, separando apenas parcialmente os micrósporos (Fig. 15F e G). As lojas de desenvolvimento normal da mesma antera apresentavam micrósporos livres.

Algumas lojas deste indivíduo apresentaram quase a totalidade dos grãos de pólen abortados, caracterizados pela intensa vacuolização de suas células, chegando mesmo à perda total do conteúdo (Fig. 15H). Nas anteras que apresentam anomalias na formação dos grãos de pólen, nota-se a degradação das células do tapete (Fig. 15 B e C; F-H).



Figura 1: Locais de coleta e hábito dos espécimes de *Eugenia neonitida* estudados. A - Vista geral da área com os pontos de coleta; B a G - hábito; B - indivíduo 1; C - indivíduo 2; D - indivíduo 3; E - indivíduo 4; F - indivíduo 5; G - indivíduo 6.

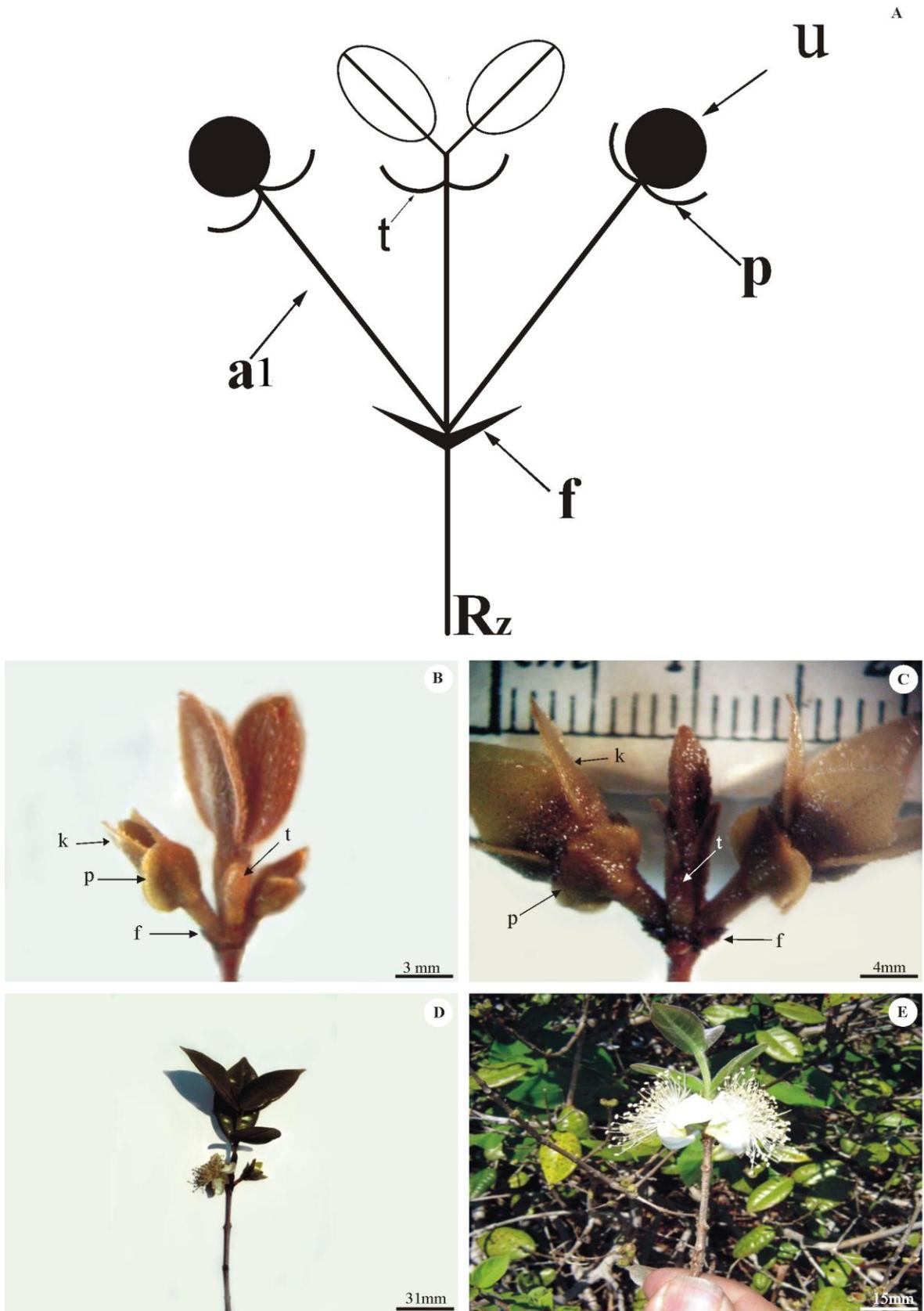


Figura 2: linflorescência. A- Esquema da conflorescência; B a E - Conflorescências em diversos estádios de desenvolvimento. Rz- eixo principal; a1- eixo primário da uniflorescência; f- ferófilos; p- prófilos; t- catáfilos; u- uniflorescência; k- sépala.

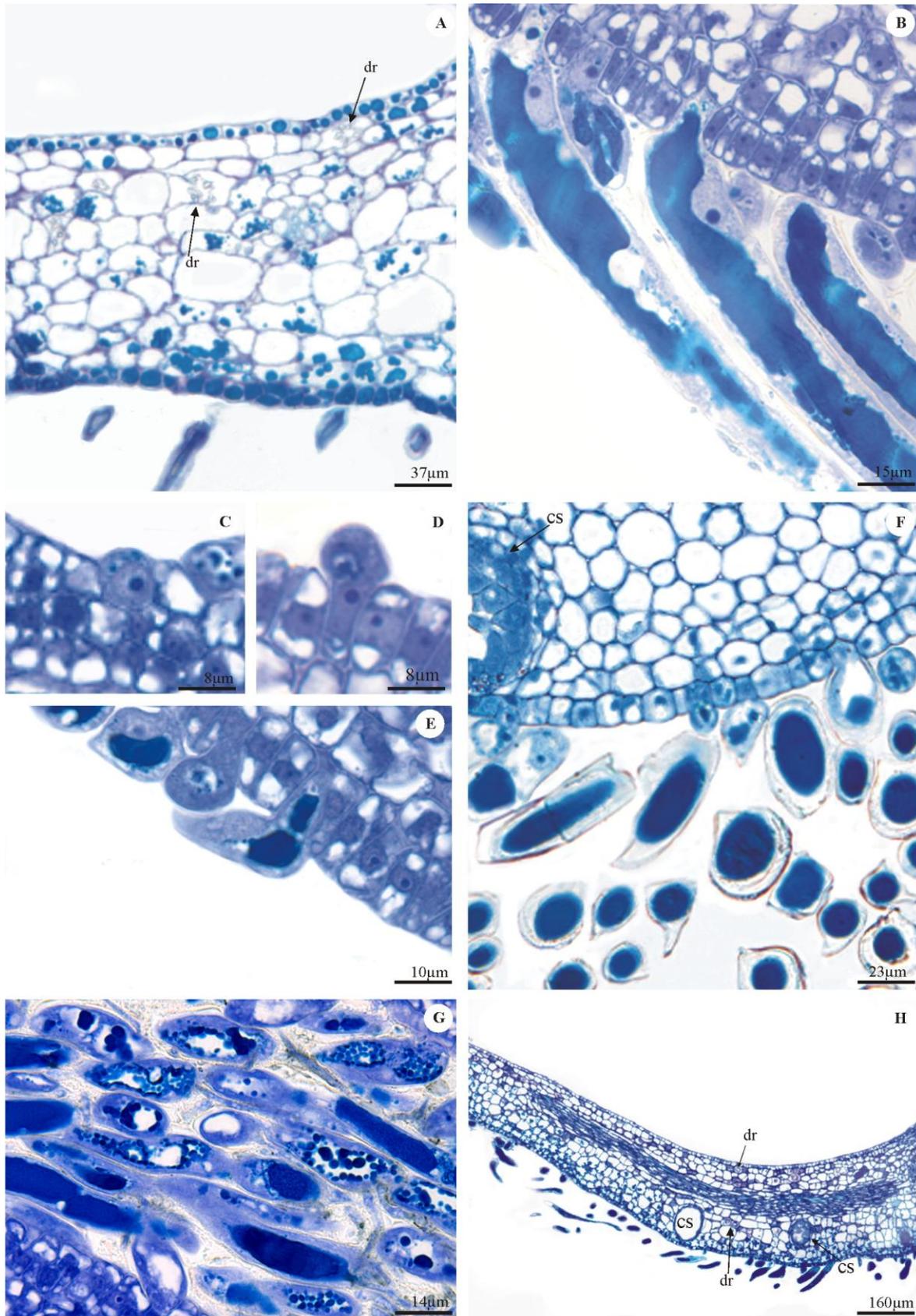


Figura 3: Peças protetoras dos meristemas da inflorescência. A- secção longitudinal do ferófilo; B- tricomas tectores; C a E- início da diferenciação dos tricomas; F- secção transversal do ferófilo evidenciando a parede dos tricomas; G- detalhe do conteúdo dos tricomas; H- secção longitudinal do prófilo; cs- cavidade secretora; dr- drusa.

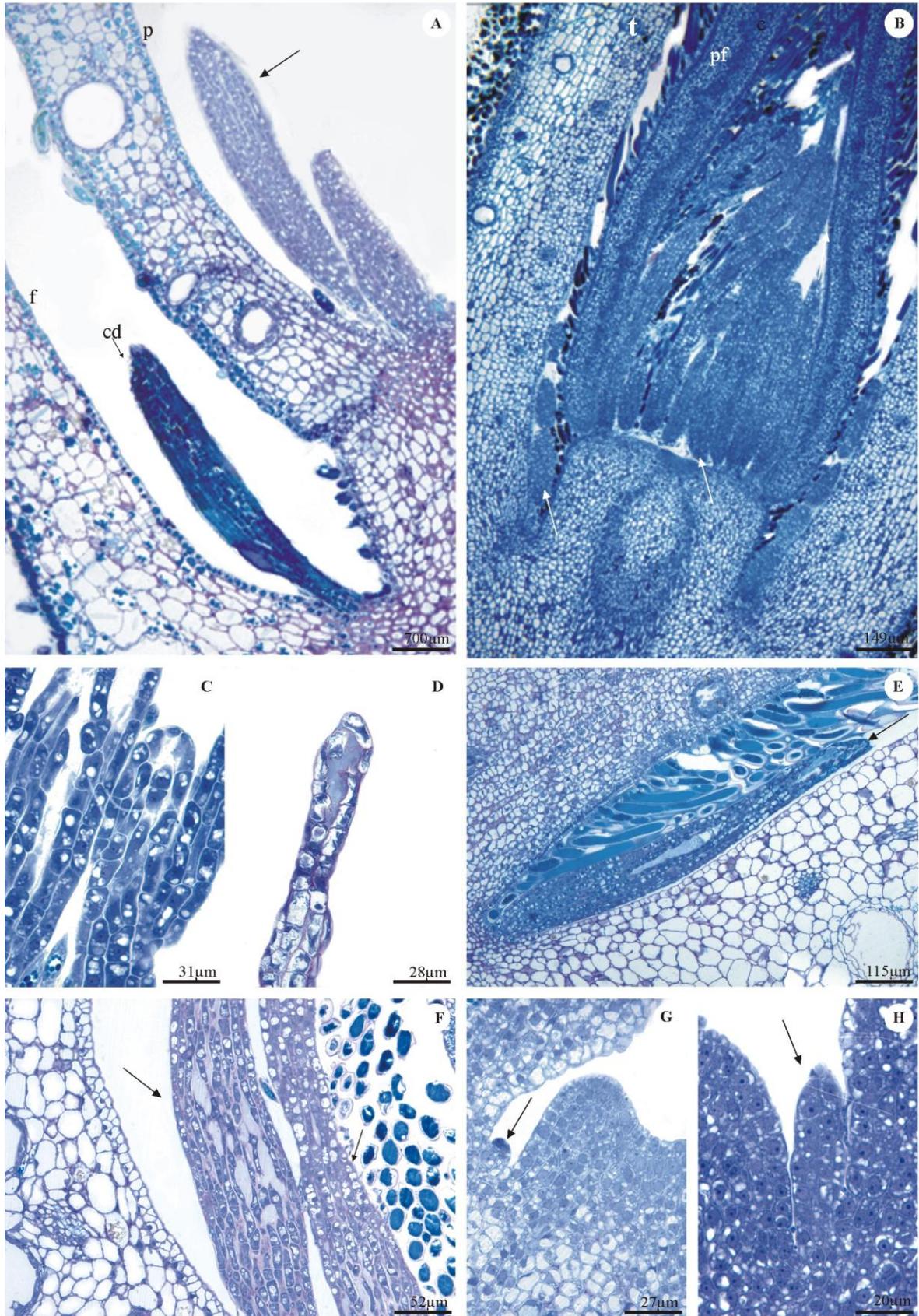


Figura 4: Coléteres. A- secção longitudinal da base da confluência mostrando coléteres senescente (cd) e funcional; B- secção longitudinal do ápice da confluência; C a F detalhes dos coléteres; G e H - primódios dos coléteres; f- ferófilos; p- prófilos; t- catáfilos; pf- primórdios foliares .

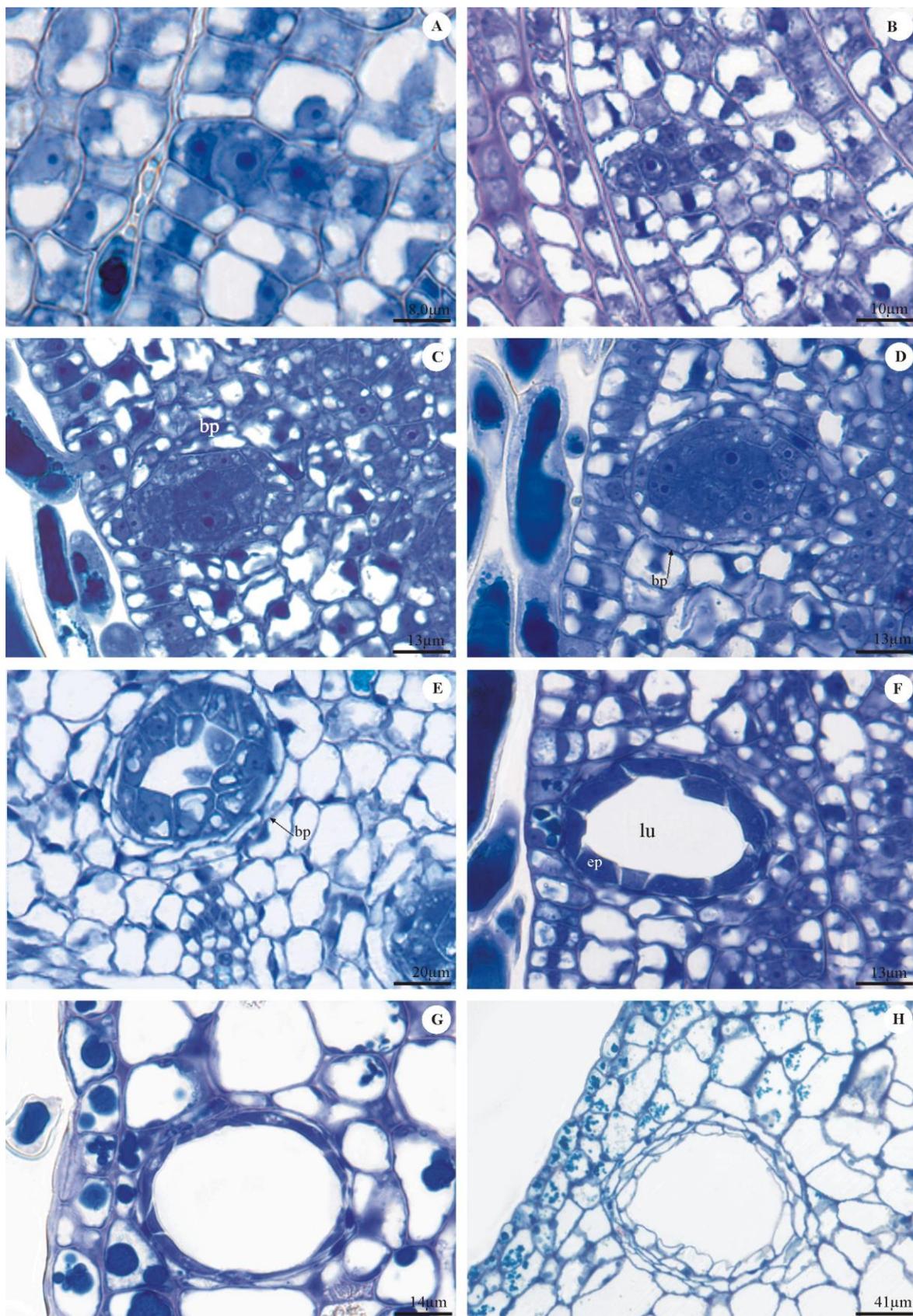


Figura 5: Cavidades secretoras. A e B- início da diferenciação das células secretoras; C e D- formação da bainha parenquimática; E e F- formação do lume; G- cavidade totalmente expandida em fase secretora; H- cavidade em fase pós-secretora; bp- bainha parenquimática; ep-epitétio; lu- lume.

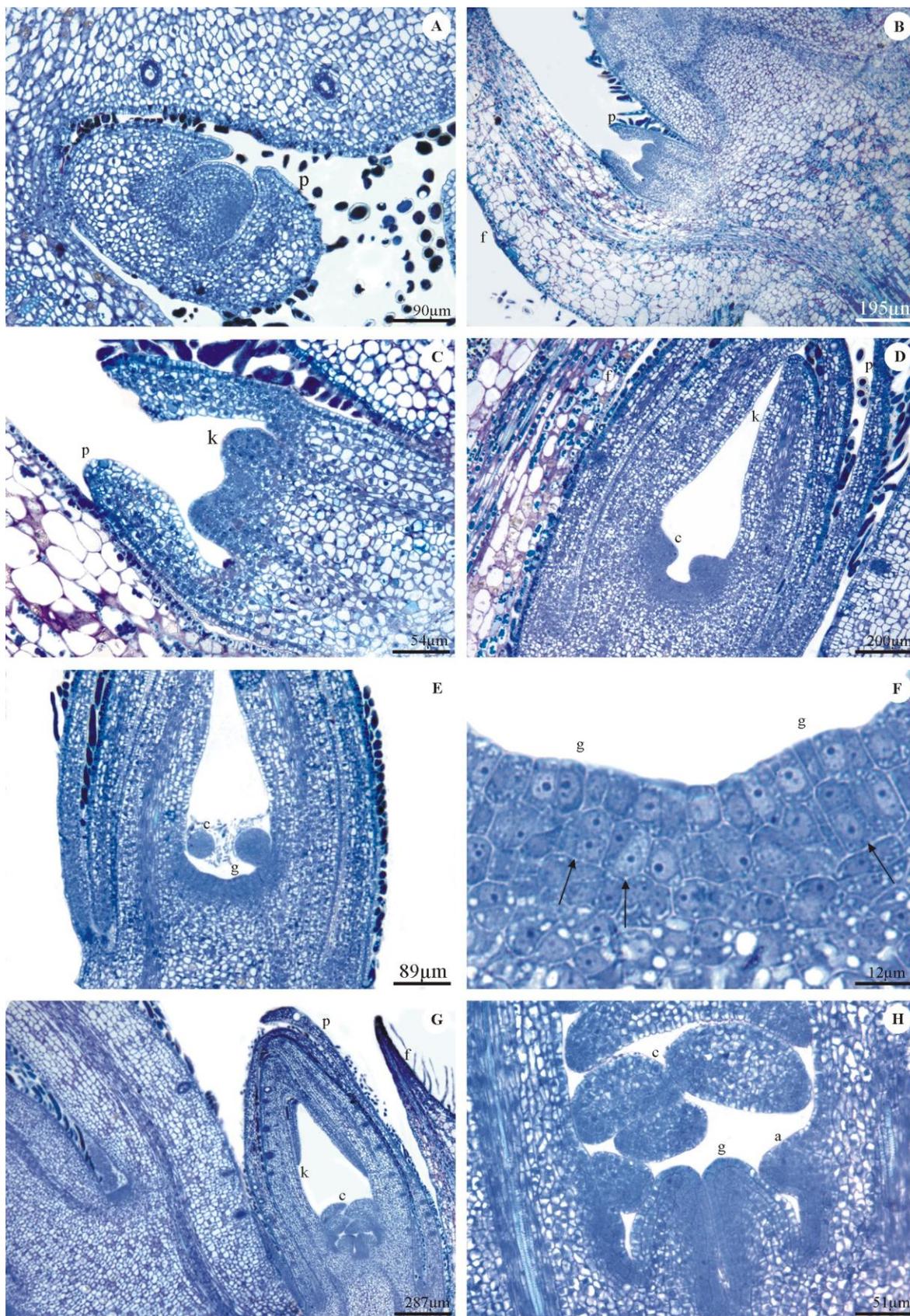


Figura 6: Organogênese floral. A a H - Secções longitudinais do botão floral; A- estabelecimento do domo meristemático; B e C- formação do cálice; D- diferenciação das pétalas; E e F- primórdios do gineceu; F- detalhe das divisões celulares anticlinais e oblíquas na L2 (setas); G - botão floral em estágio inicial de formação do androceu; H- primórdios do androceu e do gineceu; f- ferófilo; p- prófilo; k- sépala; c- pétala, g- gineceu; a- androceu.

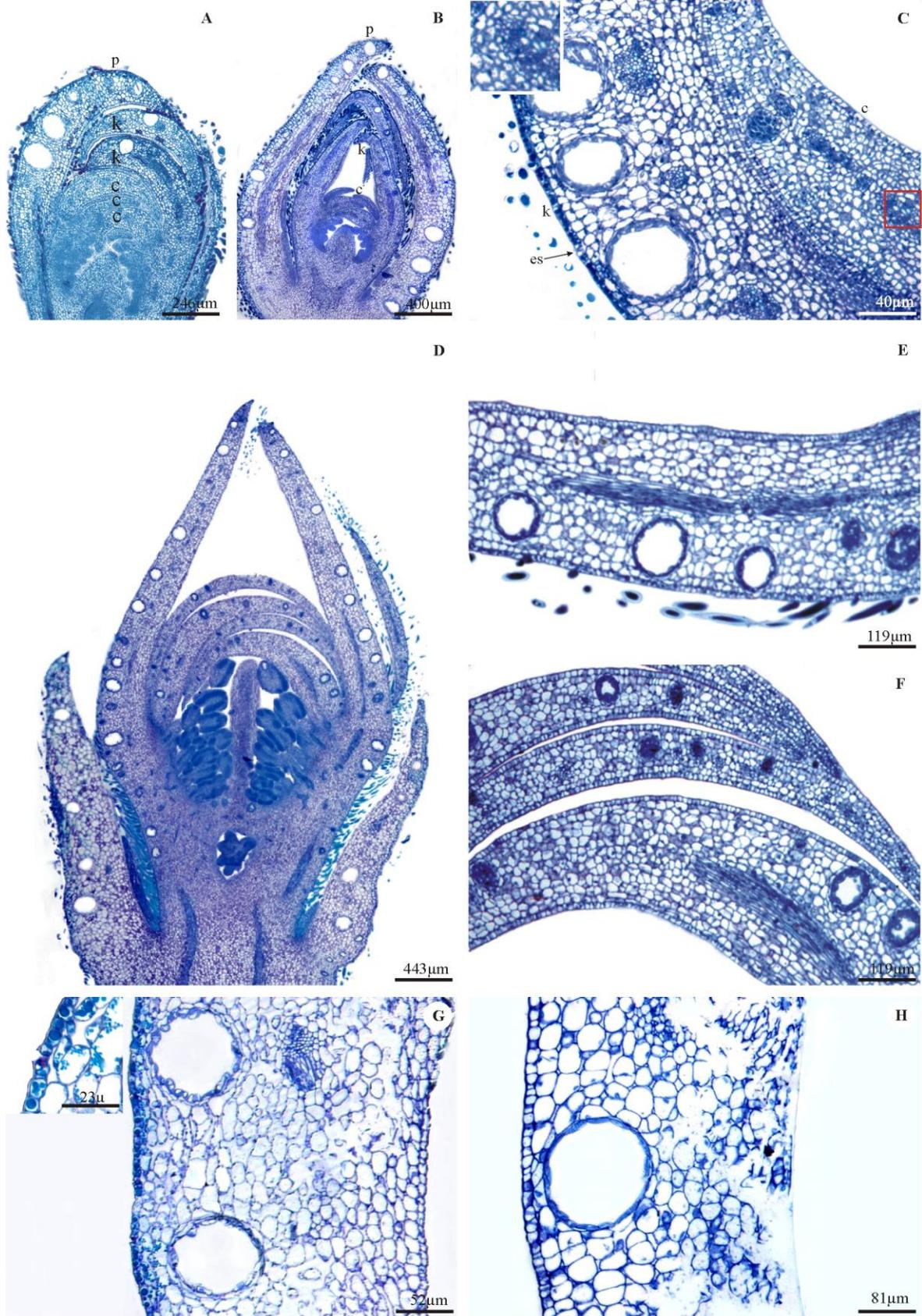


Figura 7: Perianto. A a C- botões de 2,0 mm; A e B- secção longitudinal; C- secção transversal com detalhe do sistema condutor da pétala com xilema diferenciado; D a F- botão de 4,0 mm em secção longitudinal; D- vista geral; E- sépala; F- pétalas; G e H- botão de 6,0 mm em secção transversal; G- sépala mostrando detalhe do estomato; H- pétala; p- prófalo; k- sépala; c- pétala; es- estômato.

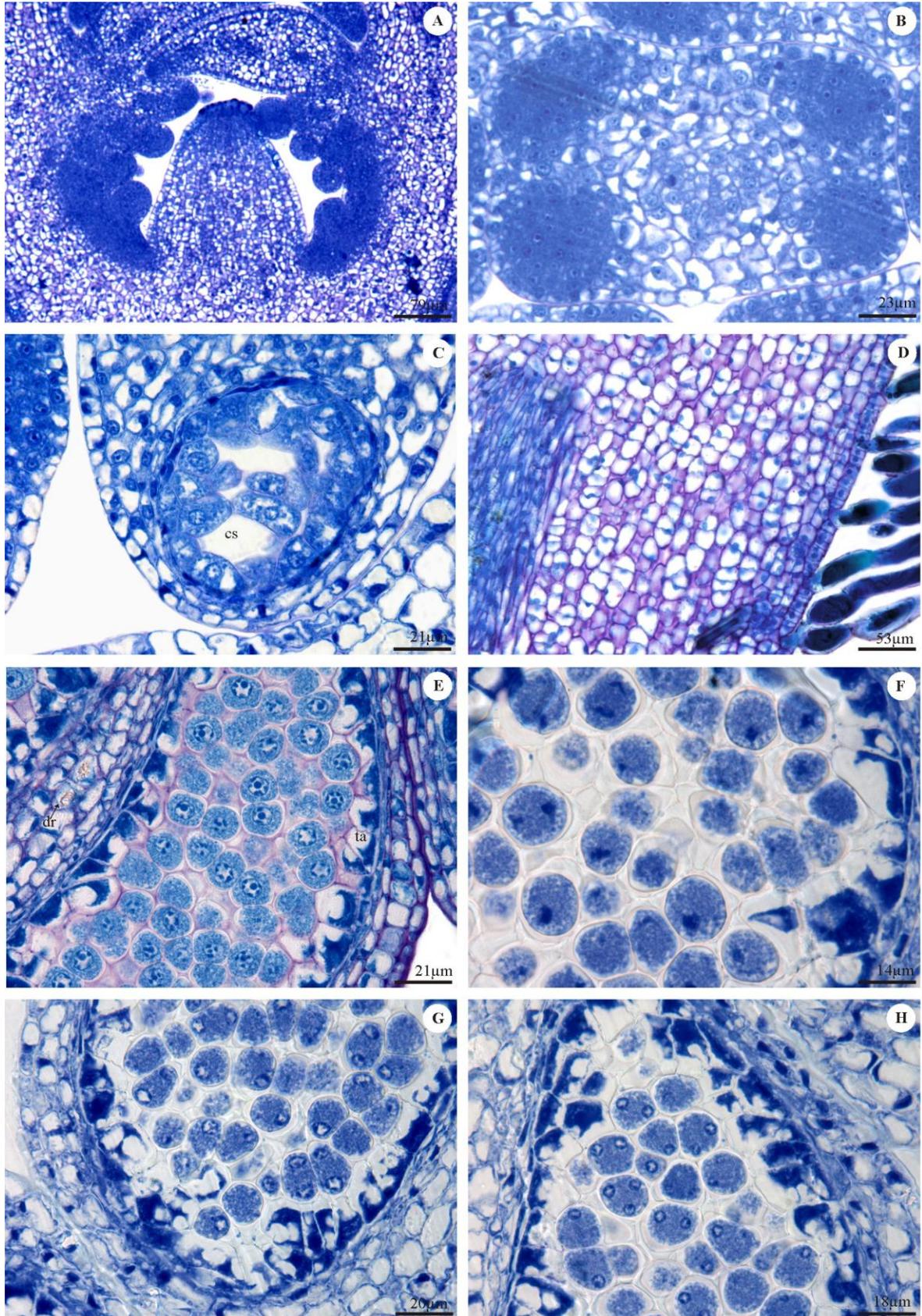


Figura 8: Androceu. A- botão de 2,0 mm em secção longitudinal; B a D - botão de 4,0 mm; B- secção transversal da antera; C- cavidade secretora no ápice do conectivo; D- secção longitudinal do hipanto; E a H- botão de 5,0 mm: secções oblíquas mostrando fases da microsporogênese; E- Profase I; F- Anáfase I; G- diades; H- Tétrades; cs- cavidade secretora; dr- drusa; ta- tapete.

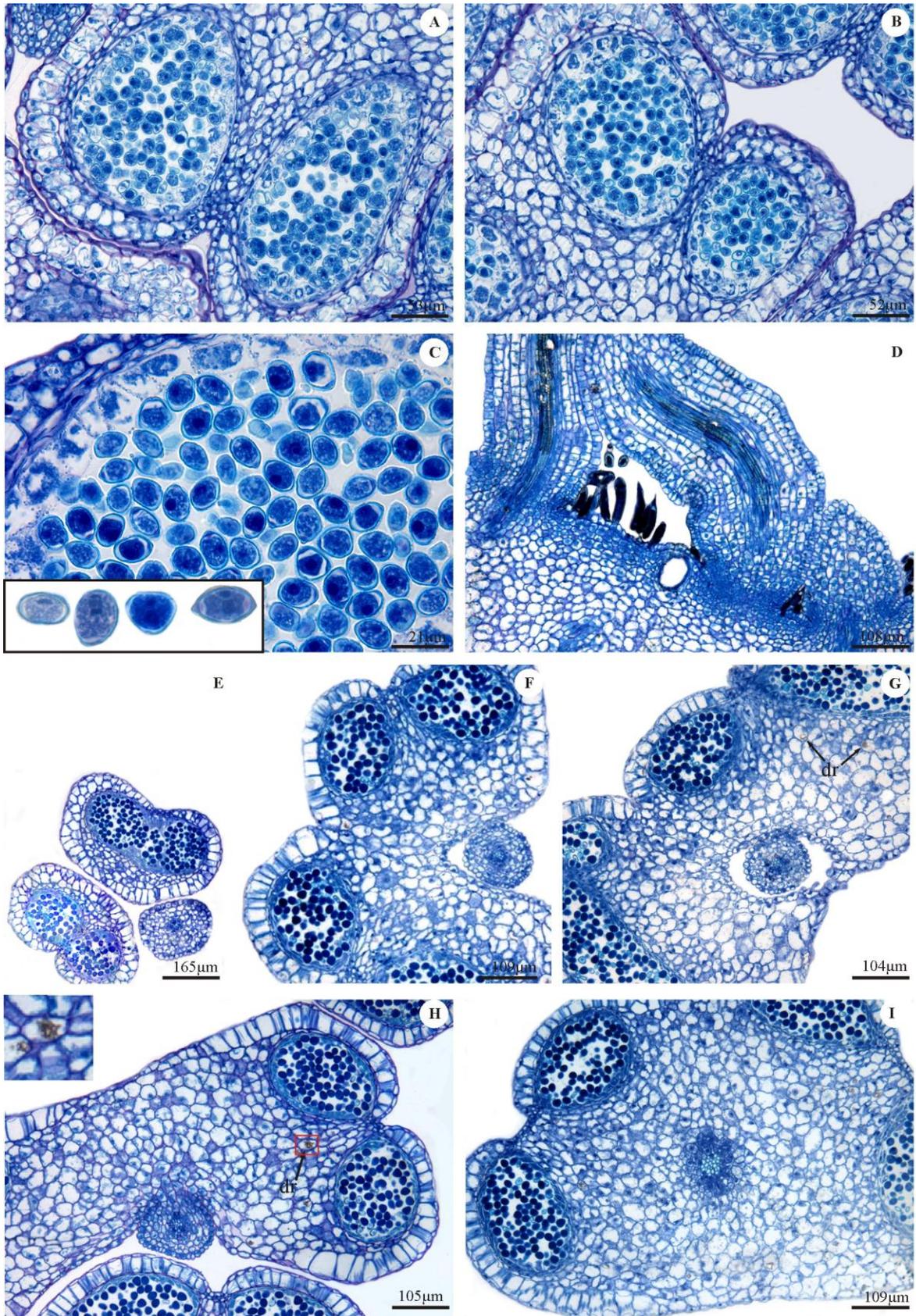


Figura 9: Androceu. A a C - botão de 7,0 mm; A- lojas com tétrades; B- lojas com tétrades e grãos de pólen livres; C- anteras com grão livres, em detalhe divisão da célula vegetativa; D a I- botão de 9,00 mm; D- base dos filetes; E a I- aproximação e fusão do filete ao conectivo; dr- drusa.

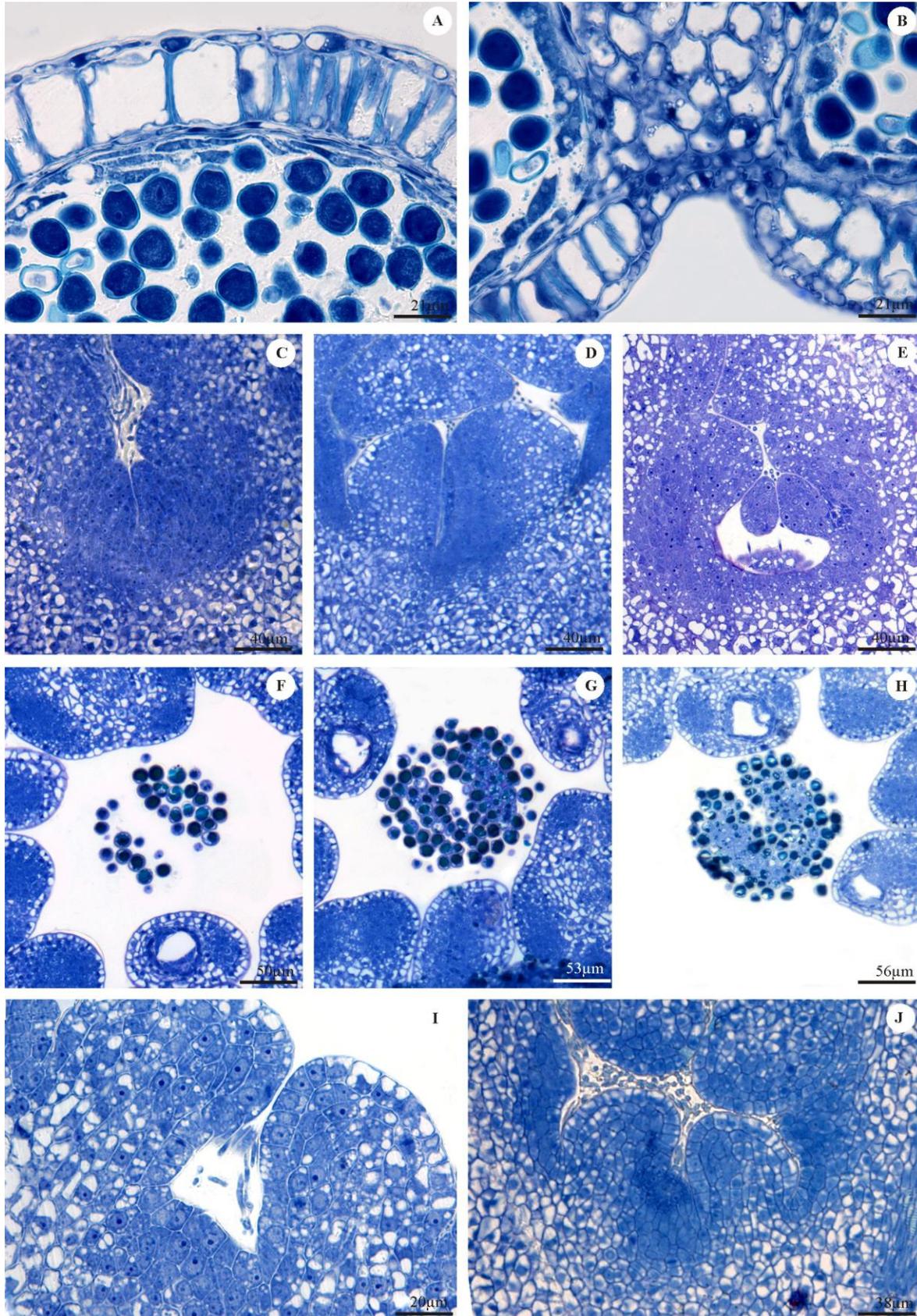


Figura 10: Androceu e gineceu. A e B- Androceu do botão de 9,0 mm; C a J- gineceu. A- detalhe da parede da antera; B- secção transversal da região do estômio; C a E- sequência de secções longitudinais em diferentes posições (proximal, mediana e distal) do mesmo botão menor que 1,0 mm; F a H- sequência de secções transversais do estigma em botão de 2,0mm; I e J- secções longitudinais; I- botão menor que 1,0 mm; J- botão de 2,0 mm.

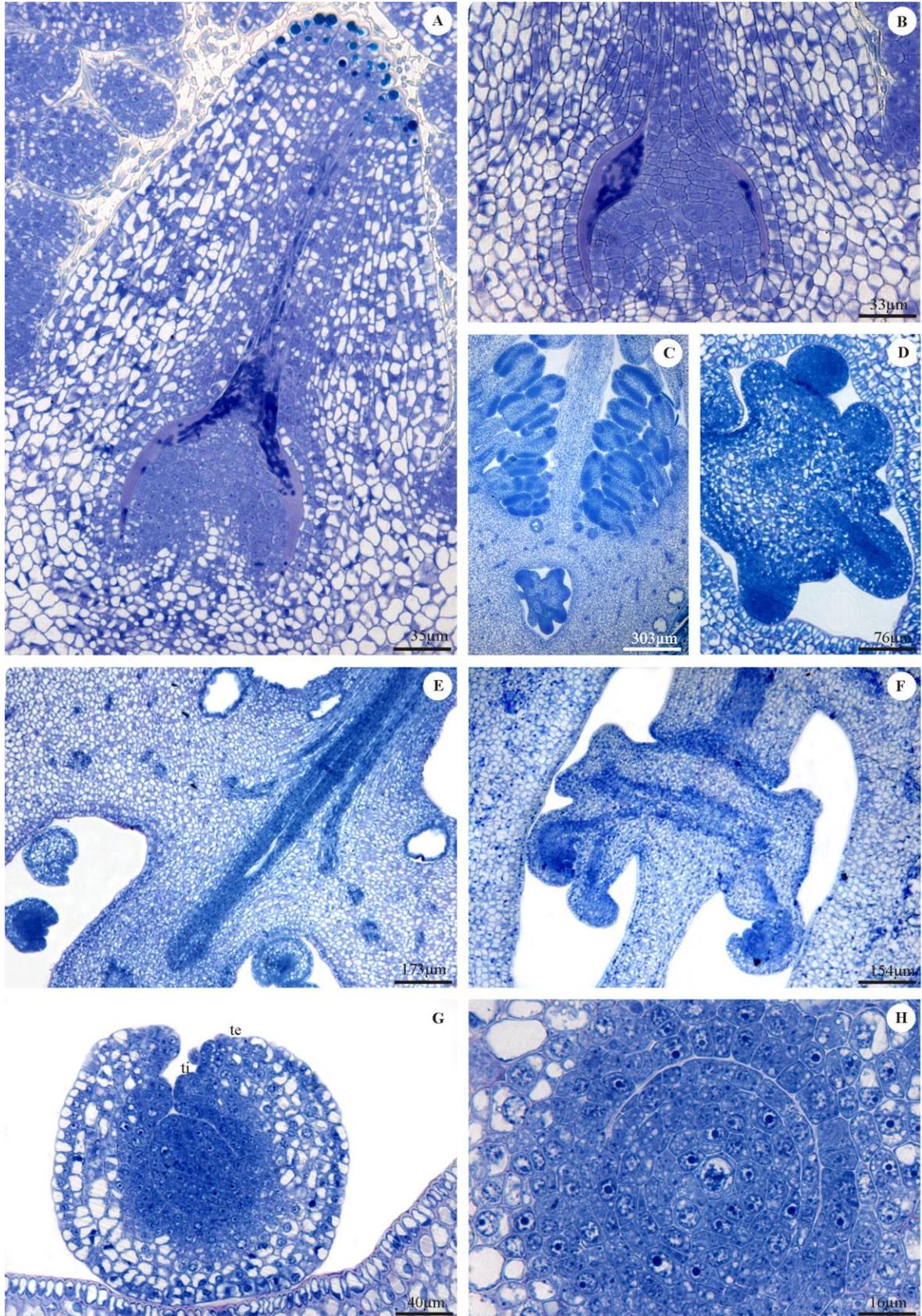


Figura 11: Gineceu em secção longitudinal. A e B- botão de 2,0 mm; C e D- botão de 4,0 mm; C- vista geral; D- detalhe da placenta e primórdios dos óvulos; E a H- botão de 5,0 mm; E- ápice do ovário; F- região do compto; G- óvulo; H- secção oblíqua do óvulo com esporócito; te- tegumento externo; ti- tegumento interno.

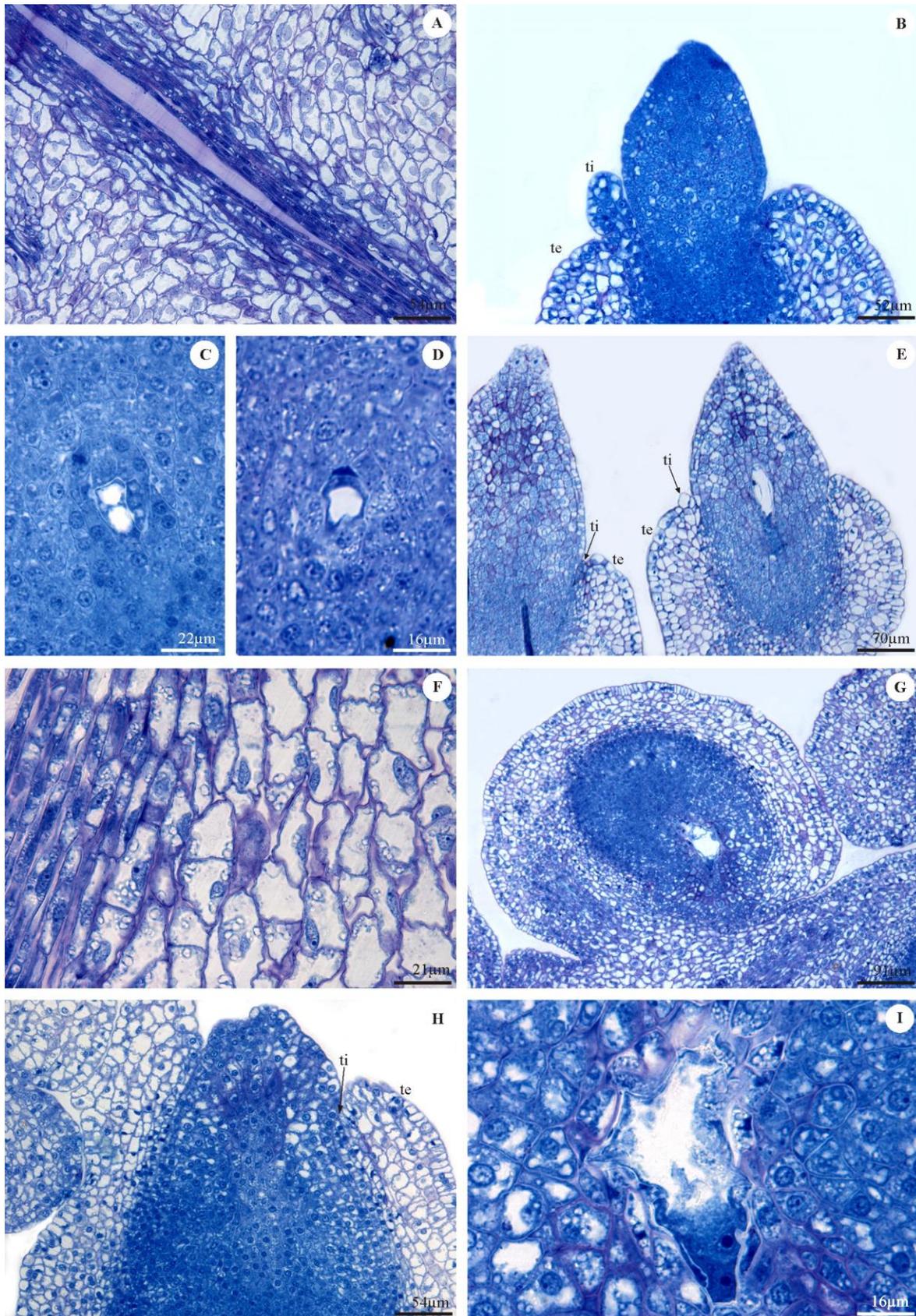


Figura 12: Gineceu em secção longitudinal. A a E- botões de 7,0 mm; A- detalhe do tecido transmissor; B a E- óvulos; F a I - botão de 9,0 mm; F- detalhe do tecido transmissor; G a I óvulos; I- detalhe do saco embrionário; te- tegumento externo; ti- tegumento interno.

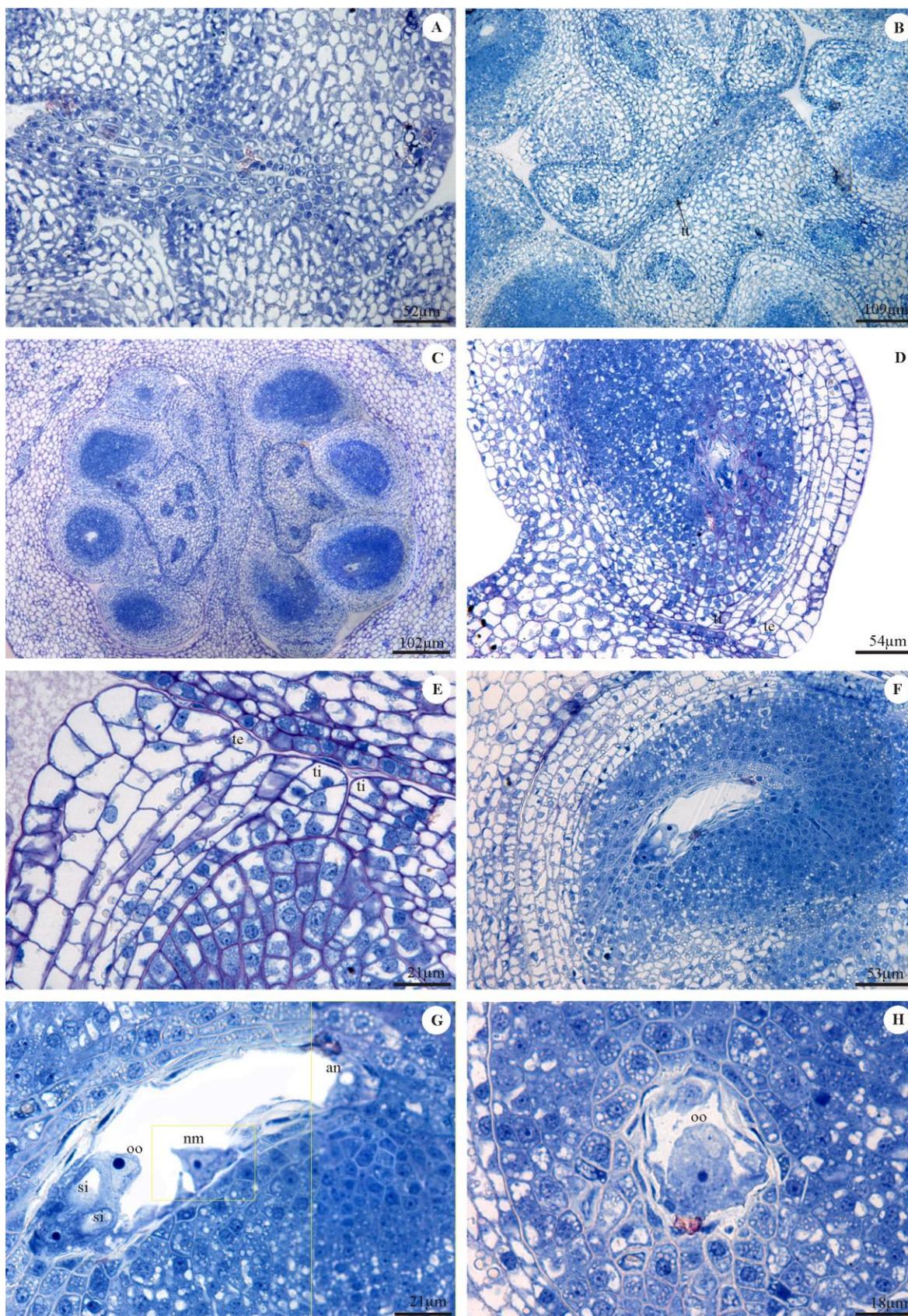


Figura 13: Gineceu. A a C- seção transversal do ovário; A- detalhe do tecido transmissor chegando a região do compto; B- região do compto mostrando fenda com tecido transmissor; C- vista geral dos óvulos; D a G- seção longitudinal dos óvulos; D- visão geral; E- detalhe da micrópila; F- saco embrionário; G- montagem permitindo visualização total do saco embrionário (as imagens destacadas foram obtidas em outros planos do mesmo óvulo); H- seção oblíqua da oosfera; tt- tecido transmissor; te- tegumento externo; ti- tegumento interno; si- sinérgide; oo- oosfera; nm- núcleo da célula média; an- antípoda.

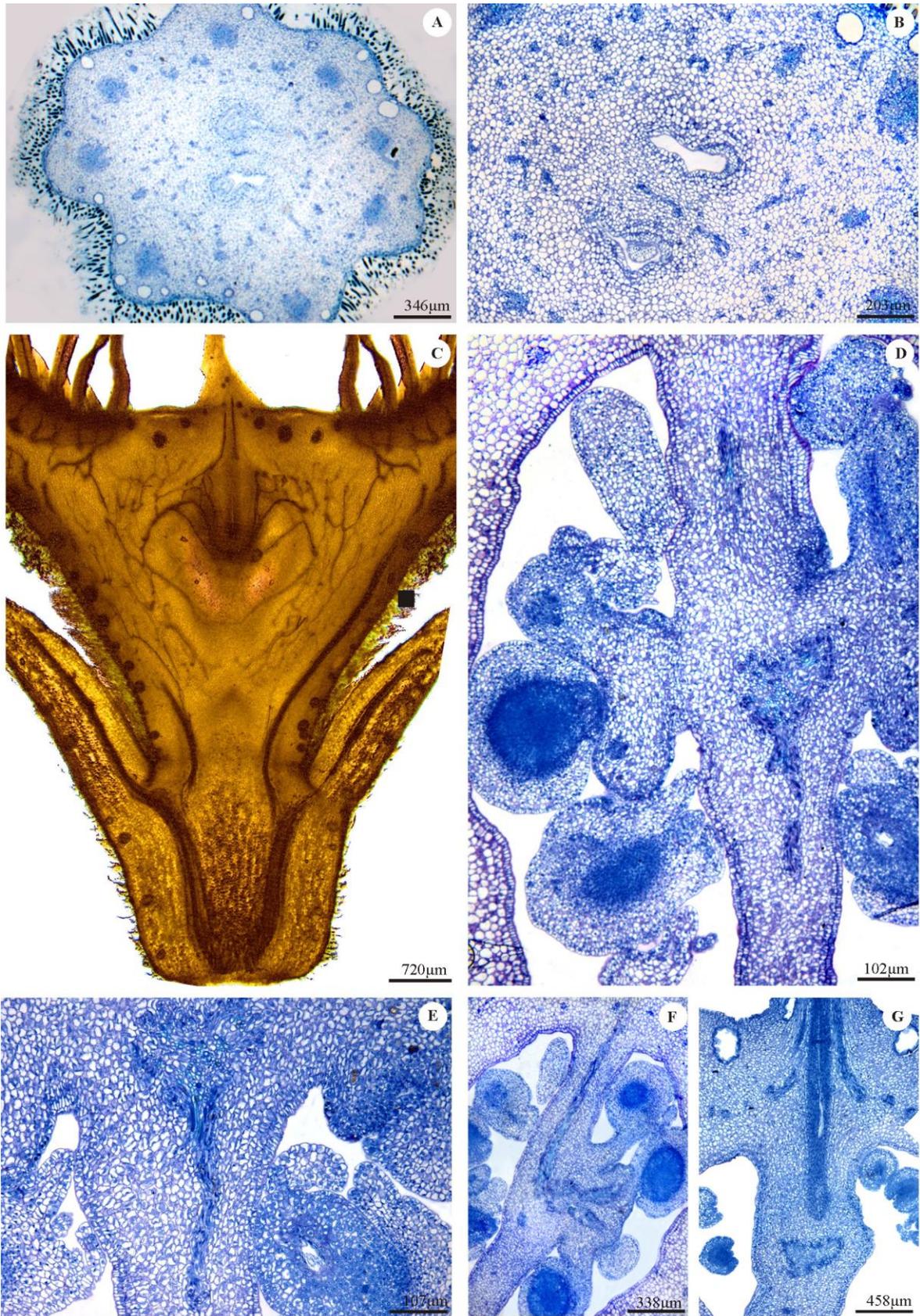


Figura 14: Vascularização do gineceu. A a B- secções transversais; A base do hipanto; B- base do ovário; C a G- secções longitudinais; C- vista geral da vascularização com septo em vista frontal ; D- região de inserção da placenta; E- detalhe da vascularização na região de inserção placentária ; F- vascularização da placenta; G- ápice do ovário.

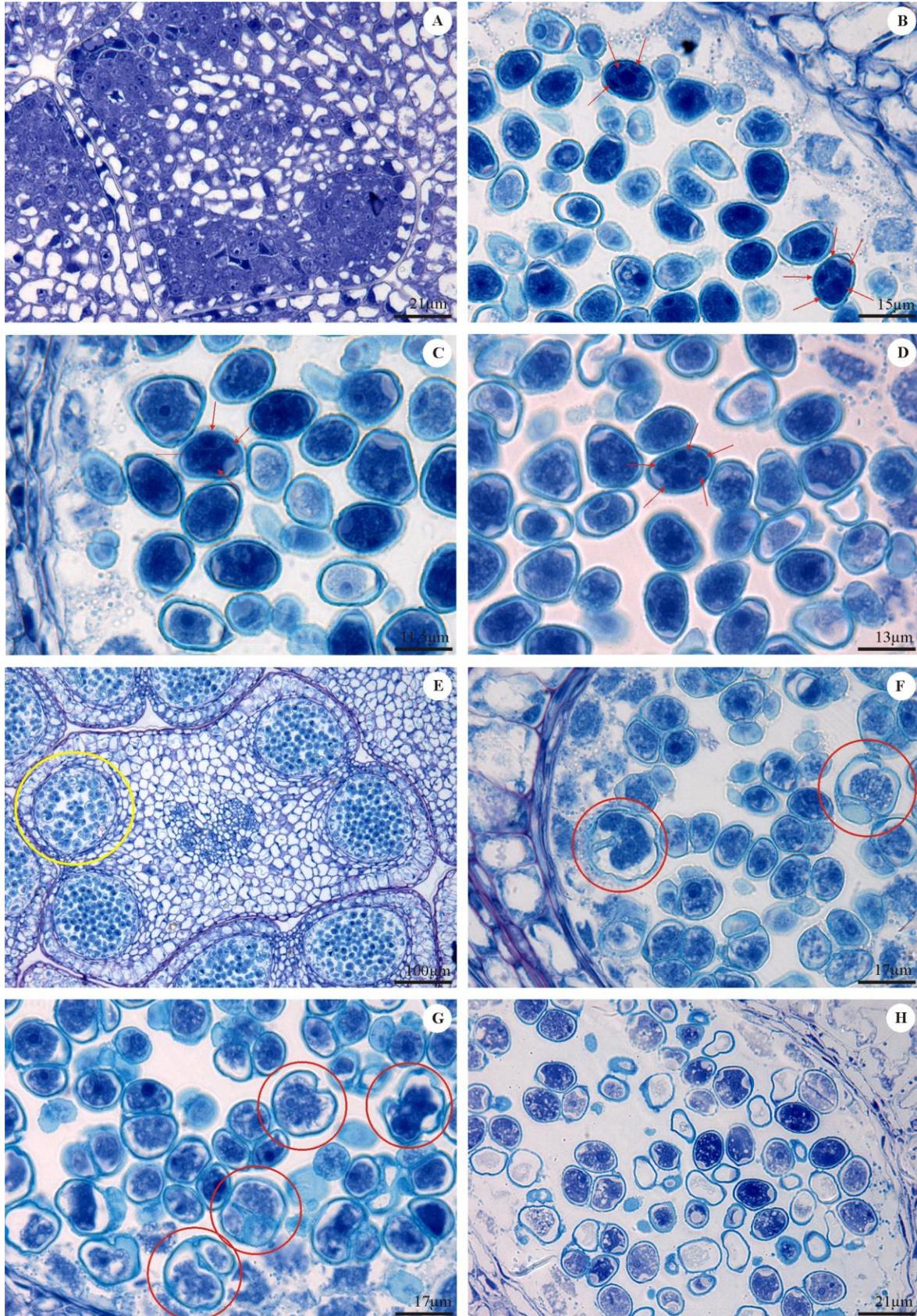


Figura 15: Anomalias no desenvolvimento do androceu. A- secção transversal da antera em botão de 2,0 mm; B a H- botões de 7,0 mm. B a D detalhe dos grãos de pólen com manchas semelhantes a núcleos (setas); E- secção transversal da antera destacando loja com grãos anômalos; F e G- detalhe dos grãos anômalos; H- loja com a maioria dos grãos de pólen abortados.

4 DISCUSSÃO

O eixo reprodutivo de Myrtaceae tem uma natureza complexa. As conflorescências que o caracterizam têm o tipo ancestral paniculado com numerosas formas derivadas. Dentre estas, aquelas cujo eixo central não termina em flor são denominadas “blastotélicas”; se o mesmo retoma o desenvolvimento vegetativo recebem o nome “auxotélicas” (Briggs & Johnson 1979). Em *E. neonitida*, conflorescências auxotélicas consistem em panículas drasticamente reduzidas, tipificadas como racemo stenocalyx axilar terminal (Souza, 2005) pela presença de uma flor curto pedicelada disposta em cada lado do único eixo. Dos três pares de apêndices presentes, apenas prófilos e ferófilos estão descritos na literatura (Briggs & Johnson, 1979) sendo os catáfilos um registro novo.

A presença de estruturas secretoras foi registrada ao longo das conflorescências de *E. neonitida*. A organização anatômica, associada ao estudo da composição química da secreção e aos aspectos do desenvolvimento de tais estruturas, permite avaliar o seu funcionamento e auxilia na elucidação dos possíveis papéis desempenhados pela secreção no corpo vegetal (Machado, 2000), e na compreensão da evolução e no estabelecimento de relações entre as espermatófitas (Fahn, 1979, 1988; Thomas, 1991; Judd *et al.*, 2009). A literatura pré-cladística (Fahn e Shimony, 1977; Fahn, 1979, 1988) sugere que as estruturas secretoras exógenas foram as primeiras a surgir e que seu desenvolvimento se deu a partir de tricomas tectores. Thomas (1991) especula que a evolução de estruturas secretoras multicelulares teria se dado a partir de estruturas não glandulares originando dois grupos: a) coléteres e estruturas secretoras de mucilagem resina ou óleo e b) glândulas secretoras de néctar.

Os coléteres encontrados na base dos ferófilos, prófilos, catáfilos e primórdios foliares da conflorescência de *E. neonitida* são uma característica comum aos representantes de Myrtales Juss. ex Bercht. & J. Presl (Weberling, 2000; Stevens, 2001; APG III, 2009). Coléteres são estruturas secretoras multicelulares especializadas na secreção de uma substância viscosa constituída por uma mistura de mucilagem, substâncias lipofílicas e/ou proteínas (Kronestedt-Robards & Robards, 1991). As mucilagens podem desempenhar diferentes

funções nas plantas, entre elas proteção de estruturas ou órgãos em desenvolvimento, retenção de água, reserva de carboidratos, redução da transpiração, proteção contra radiação dispersando ou refletindo a luz e proteção contra herbivoria (Fahn, 1979; Gregory & Baas, 1989; Roshchina & Roshchina, 1993; Clifford *et al.*, 2002, Martini *et al.*, 2003). Estruturalmente os coléteres podem se apresentar como escamas, tricomas secretores, emergências ou glândulas encontradas em estípulas, pecíolos, lâmina foliar, brácteas, bractéolas, cálice e corola; tendo como provável função resguardar o desenvolvimento meristemático, caulinar e floral. (Thomas, 1991).

Vários trabalhos (Thomas, 1991; Endress & Bruyns, 2000; Renobales *et al.*, 2001; Schwarz & Furlan, 2002; Klein *et al.*, 2004; Barreiro & Machado, 2007) revelam a importância taxonômica da presença, localização, morfologia, ultra-estrutura e composição da secreção dos coléteres. Uma extensa revisão sobre aspectos estruturais, funcionais e filogenéticos de coléteres foi apresentada por Thomas (1991) em sessenta famílias de Eudicotiledôneas sem, no entanto, referência para a família Myrtaceae. A primeira menção de tais estruturas só foi feita por Carrucan & Drinnan (2000) em *Astartea heteranthera* C.A. Gardner, uma espécie pertencente ao sub-grupo “*Baeckea*” – grupo “*Chamelaucium*” - (Wilson, 2005) restrito principalmente à Austrália, com poucos representantes na Ásia e Nova Caledônia. Os dados obtidos por Lopes (2008) para *E. uniflora* constituem os primeiros registros da ocorrência de coléteres na tribo *Myrteae* e as primeiras descrições anatômicas e análises histoquímicas da secreção de tais estruturas para a família.

Em *E. neonitida* os coléteres apresentam origem exclusivamente protodérmica e estrutura semelhante a registrada por Lopes (2008) em *E. uniflora*. Além da protoderme, células do meristema fundamental e do procâmbio podem estar envolvidas na formação dos coléteres, sendo mais raros aqueles originados exclusivamente de células portodérmicas (Thomas, 1991). Coléteres deste tipo foram relatados por Rocha *et al.* (2002) e Rocha (2004) nas estípulas e nos eixos vegetativo e reprodutivo em desenvolvimento de *Hibiscus tiliaceus* L. e *H. pernambucensis* Arruda (Malvaceae) e por Paiva e Machado (2006) nas estípulas de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae). Na fase secretora, os

coléteres de *E. neonitida* desenvolvem espaços intercelulares os quais apresentam-se preenchidos por secreção. A formação dos referidos espaços se dá por dissolução da lamela média e afastamento celular, à semelhança das registradas por Appezzato-da-Glória e Estelita (2000) nos coléteres de *Mandevilla illustris* (Vell.) Woodson e *M. velutina* (Mart ex Stadelm.) Woodson (Apocynaceae) e por Rezende e Morretes (2003) em *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae).

Em toda conflorescência foram observadas cavidades secretoras de óleo originadas a partir de células protodérmicas, cujo processo de formação é esquizógeno. A presença de cavidades secretoras de óleo é uma característica marcante em Myrtaceae (APG III, 2009; Stevens, 2001) e sua estrutura tem valor taxonômico para a família, sendo apontada por Gomes e colaboradores (2009) como fonte promissora de caracteres para utilização em estudos com abordagem cladística. Segundo os autores, caracteres anatômicos têm sido utilizados na análise taxonômica e evolutiva de Myrtaceae, mas poucos representantes da flora neotropical estão incluídos nestas análises, notadamente aqueles pertencentes à tribo *Myrteae*. A presença ou ausência de cavidades secretoras de óleo em diferentes órgãos de espécies do gênero *Eucalyptus* L'Hér têm sido utilizada como um caráter útil na identificação destas, inclusive em material herborizado (Carr & Carr, 1969).

Em Fabaceae, pontuações translúcidas foliares e florais relacionadas ou não com a secreção de óleo, têm sido relatadas para o gênero *Lonchocarpus* Kunth (Teixeira *et al.*, 2000; Teixeira & Gabrielli, 2000). Dentre as espécies de *Lonchocarpus* estudadas, os autores observaram que algumas delas estão relacionadas à existência de cavidades secretoras de óleo, enquanto outras, se referem a espaços não secretores. Estes dados foram comparados aos obtidos para as cavidades secretoras de óleo em duas espécies de *Dahlstedtia* Malme por Teixeira & Rocha (2009), que concluíram que a ocorrência, o padrão de distribuição e a frequência das cavidades secretoras apresentam valor taxonômico para a tribo *Millettieae* Miq.

Em Myrtaceae, o estudo da natureza química da secreção produzida nas cavidades desperta maior interesse no contexto da divisão atual da família. A tribo *Psiloxyleae* (Croizat) A.J. Scott, Kew Bull. apresenta cavidades que não secretam óleo divergindo do restante da subfamília *Psiloxylloideae* e de toda *Myrtoideae* (*sensu* Wilson *et al.* 2005). Os dados obtidos a este respeito para *E. neonitida* estão de acordo com os relatados para os representantes *Myrtoideae*.

Estudos ontogenéticos das cavidades secretoras da família Myrtaceae foram realizados por diversos autores. Gomes *et al.*, 2009 estabeleceram a origem das glândulas oleíferas em Myrtaceae a partir de células protodérmicas sem a participação de meristema fundamental. Divisões periclinais originam células mais internas, as quais se dividem e se diferenciam no tecido epitelial da cavidade secretora semelhante ao descrito para *Eugenia uniflora* (Lopes, 2008). Processo de formação esquizolisígeno foi relatado para as cavidades secretoras presentes nas folhas, caules e flores de *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) (Cicarelli *et al.*, 2003, 2008) e nas flores de *Eugenia uniflora* (Lopes, 2008). Formação esquizógena foi descrita em diversas espécies de *Eucalyptus* (Carr & Carr, 1970) e em *Myrtus communis* (Kalachanis & Psaras, 2005). Os processos esquizógeno e esquizolisígeno não são bem estabelecidos na formação das cavidades das folhas de *Melaleuca alternifolia* Cheel. (Myrtaceae) (List *et al.*, 1995). De acordo com Turner (1999) o processo de formação de cavidades que envolve lise pode referir-se a artefatos de preparação. No entanto recentemente Paiva e Machado (2006) registraram, em um estudo anatômico e ultra-estrutural, a ocorrência do processo lisógeno na formação do lume dos canais de *Hymenaea stigonocarpa*. Os autores relatam ainda, a importância de estudos ontogenéticos na determinação do processo de origem das cavidades.

As análises realizadas na conflorescência de *E. neonitida* revelam que a formação do lume das cavidades ocorre pela dissolução da lamela média e posterior afastamento de células, caracterizando o processo esquizógeno. Ontogênese a partir de células protodérmicas foi descrita por Carr e Carr (1970), Turner (1986), Knight *et al.* (2001) e Paiva e Machado (2006), sendo a referida origem a mais comumente registrada.

Ao redor das células epiteliais das cavidades de *E. neonitida* foi registrada uma bainha de células parenquimáticas. A presença desta bainha tem sido associada à produção de novas células epiteliais, possibilitando a renovação celular do epitélio, o alargamento do lume e a manutenção da atividade secretora (Monteiro *et al.*, 1995, 1999; Machado e Carmello-Guerreiro, 2001; Rodrigues, 2008). Estudos mais detalhados a respeito da função das células da bainha de *E. neonitida* são necessários para análises conclusivas.

A presença de diferentes classes de substâncias químicas na secreção, conforme identificada nas cavidades de *E. neonitida*, é de fundamental importância nas interações bióticas e abióticas. Terpenos e substâncias fenólicas são relatadas como substâncias de grande importância anti-microbiana e proteção contra herbívoros (Harbone, 1993; Carmello *et al.*, 1995). Polissacarídeos, por apresentarem propriedades hidrofílicas, estão relacionados com a manutenção do potencial hídrico (Sawidis, 1998; Clifford *et al.*, 2002; Martini *et al.*, 2003).

A análise do desenvolvimento floral através de classes de tamanho não evidenciou uma correlação entre qualquer fase e a largura dos botões como em *E. uniflora* em relação ao comprimento (Lopes 2008). Entretanto, como nesta, parece haver uma sincronia entre a esporogênese e a gametogênese masculinas e femininas.

A filotaxia oposta decussada do eixo vegetativo da família (Briggs & Johnson, 1979) mantida ao longo do eixo reprodutivo permitiu acompanhar e identificar com facilidade todos os apêndices produzidos e assim também orientar as secções anatômicas em relação ao par de carpelos, situados no mesmo plano que o de ferófilos. Em *E. neonitida*, a sequência de desenvolvimento dos verticilos a partir das sépalas, com a iniciação dos carpelos logo após à das pétalas e o androceu diferenciando-se por último na região entre a corola e o gineceu é semelhante ao encontrado em espécies de *Agonis* (A.P. de C.) Sweet, *Leptospermum* Forst.& Forst. f., *Kunzea* Reichenbach e outras seis espécies do sub-grupo informal “*Baeckea*” (Carrucan & Drinnan, 2000; Drinnan & Carrucan, 2005). A projeção do gineceu no centro do botão floral é interpretada por

Carrucan & Drinnan (2000) como sendo uma invaginação no meristema apical convexo com os estames surgindo, então, nos bordos deste meristema. No entanto, em *E. neonitida* foi observada a divisão das células da camada L2 elevando a protoderme e a continuação do desenvolvimento do meristema no interior do gineceu, em um eixo.

A conformação do meristema floral e a vascularização do gineceu têm sido utilizadas para tipificar a origem do ovário ínfero em diversas famílias (Kaplan 1967; Soltis & Hufford, 2002; Costello & Motley, 2004). Ovários íferos podem ser tipificados de duas maneiras, segundo sua formação: a) receptacular, quando ocorre o desenvolvimento do tecido receptacular após a organogênese do perianto e o meristema apical permanece convexo b) apendicular, resultante do crescimento da periferia da região apical durante a organogênese dos apêndices conferindo ao meristema apical, que se inicia convexo, um contorno côncavo. O ovário receptacular é caracterizado pela presença de feixes condutores que sobem pelo hipanto até os verticilos florais e, a partir daí, descem invertidos até os óvulos. Na maioria das famílias com ovário ínfero, este possui origem apendicular, caracterizada pelo sistema vascular sempre ascendente, não havendo a inversão dos feixes (Kaplan, 1967). Estudos sobre a origem do ovário ínfero em Saxifragaceae Juss. corroboram a idéia de que a conformação do meristema apical durante o desenvolvimento do botão floral pode fornecer indícios quanto à natureza apendicular ou receptacular (Soltis & Hufford, 2002)

Para Myrtaceae não há registros sobre a ontogênese do ovário, no entanto, algumas evidências apontam para a o tipo receptacular. Em *E. neonitida* à semelhança do observado em *E. confusa* DC. (Schmid, 1972) e *E. uniflora* (Lopes, 2008), os vários feixes placentários se originam em diferentes níveis do tubo floral, penetram nos bordos carpelares fundidos e se unem na sua maior parte, formando dois grandes feixes compostos que descem, invertidos, até a placenta. Nesta região formam um plexo que consiste em uma massa sólida de xilema e floema, a partir de onde seguem os feixes ovulares. No entanto, no caso de *E. neonitida*, cujo meristema apical permanece côncavo até a formação do gineceu, esse não parece ser um bom parâmetro para inferências sobre a natureza do ovário ínfero se for levada em conta a vascularização da placenta.

Esta inadequação pode estar ligada à diferenciação anterior do gineceu em relação ao androceu, o que remete à interpretação do gineceu de Myrtaceae como sendo uma invaginação no meristema convexo (Carrucan & Drinnan, 2000). Dada a complexidade da questão, mais estudos a cerca do assunto são necessários nesta e em outras espécies da família.

Em relação ao número de carpelos, não há informações exatas em Myrtaceae, pela carência de estudos relativos à ontogênese do ovário. Lopes (2008) estabeleceu o gineceu de *E. uniflora* como sendo formado por dois carpelos nos quais os bordos fusionados se dilatam no sentido distal originando o estilete e no sentido proximal dando origem às regiões apical e mediana do septo ovariano onde uma fenda seria formada pela ausência de fusão nesta porção. A esta porção, denominada de compito, é atribuída a função de região de emergência dos tubos polínicos e seu direcionamento para as lojas (Carr & Carr, 1961; Williams *et al.*, 1993). Número de carpelos igual e estrutura semelhante foram encontrados em *E. neonitida*, diferindo pela ausência de fusão no ápice, região em que se formam as papilas estigmáticas. A função do compito é evidenciada na bifurcação existente no tecido transmissor até os lóculos ovarianos logo acima da região de inserção da placenta.

Em *E. neonitida* a placenta é peltada e parte de um único ponto na metade superior do septo. A placenta tem sido tipificada na família em geral como axial, e em alguns casos como parietal (Bentham, 1869; Landrum, 1988 e Lucas *et al.*, 2007). Lucas *et al.* (2007) relatam que em táxons com placentação axial como *Psidium* L. há por vezes dificuldade de definição dos estados deste caráter, por haver uma variação gradual da placentação não peltada para a peltada. Estes autores interpretam a placentação axial como não significativamente diferente da parietal em *Myrteae*, o que leva ao pressuposto de uma origem carpelar marginal da mesma. Estes dois tipos de placentação estariam associados a variações no grau de desenvolvimento do septo e a condição unilocular observada nos gêneros *Rhodamnia* Jack e *Neomyrtus* Burret seria produto do desenvolvimento septal incipiente (Bentham, 1869).

Estudos filogenéticos revelaram que a placentação ancestral em *Myrteae* é bi ou multisseriada em placentas planas, recobrimdo pelo menos parte do septo. Placentas peltadas ou projetadas de outra maneira surgiram independentemente em diferentes clados e, aparentemente, houve uma transição subsequente para o arranjo dos óvulos em um único ponto do septo no gênero *Eugenia* (Lucas *et al.*, 2007). Esta transição parece expressar-se em *E. neonitida*, pois apesar de presa a um único ponto a placenta é peltada com óvulos bem projetados.

A inserção da placenta na metade superior do ovário está de acordo com o descrito por Lucas e colaboradores (2007) para o grupo informal “*Eugenia*”, que se distingue dos outros clados com mesmo tipo de placentação, pelo posicionamento da referida estrutura no septo, que se dá na metade superior, em “*Eugenia*” e abaixo do ponto mediano, nos demais clados. Neste contexto, os autores consideram que esta distinção é tênue, face às diferenças maiores desconsideradas, como ovários uniloculares x bi ou multiloculares. Assim, os autores vêem a natureza da placentação pouco informativa como caráter definidor de grupos em *Myrteae*, o que requer análises do desenvolvimento do gineceu.

Lopes (2008) fornece uma interpretação diferente da placenta em *Eugenia uniflora*, também evidenciada em *E. neonitida*. A origem da placenta independente dos carpelos, a partir de um meristema central residual interno ao verticilo carpelar aponta para sua natureza caulinar, constituindo uma interpretação mais acurada da categoria axial empregada de forma geral na literatura da família. Diverge da pressuposta natureza carpelar, implícita no trabalho de Lucas e colaboradores (2007) o que leva à inferência de que a placentação axial (*sensu* Lucas) em *Myrteae* é de natureza caulinar e não carpelar marginal.

Neste contexto, como em *E. uniflora* (Lopes, 2008), o septo apresenta três regiões distintas do ponto de vista anatômico e funcional. O eixo onde se localiza a placenta, juntamente com os bordos carpelares aos quais se funde, corresponde à base do septo ovariano. O ápice desta estrutura corresponde ao conjunto formado pelo estilete deprimido e os bordos carpelares fusionados

enquanto a região mediana, onde o eixo caulinar encontra o estilete deprimido, é caracterizada pela presença do compito.

Durante todo o desenvolvimento dos óvulos em *E. neonitida* foram observados dois tegumentos, o que está de acordo com o apontado para *Eugenia* pela literatura (Schmid, 1980). Óvulos unitegmos em Myrtaceae até então estavam restritos ao gênero *Syzygium* Gaertn., do qual apenas sete espécies foram analisadas sob este aspecto (Biffin *et al.* 2006). Porém em *E. uniflora* os óvulos, inicialmente bitegmos, tornam-se unitegmos na maturidade (Lopes, 2008). Esta variação encontrada no número de tegumentos de *Eugenia* requer mais investigações relativas à ontogênese dos óvulos nas espécies do gênero. A documentação do desenvolvimento do gineceu em linhagens de eudicotiledôneas tem grandes implicações para o melhor entendimento da diversidade floral nas angiospermas (Soltis *et al.*, 2003).

Na maioria das Myrtaceae estudadas até o momento o primórdio estaminal tem início diretamente sobre o ápice floral. Exceções foram encontradas por Orlovich e colaboradores (1999) em *Melaleuca* L. e em algumas espécies de *Callistemon* R.Br. onde os estames surgem a partir de protuberâncias pré-estaminais antepétalas. Androceu iniciando por apenas um primórdio estaminal por pétala foi descrito para *Leptospermum brevipes* F. Muell., *Leptospermum lanigerum* (Sol. ex Aiton) Smith, *Leptospermum myrsinoides* Schldl., *Baeckea imbricata* (Gaertn.) Druce, *Micromyrtus ciliata* (Sm.) Druce e *Calytrix tetragona* Labill. (Carrucan & Drinnan, 2000; Drinnan & Carrucan, 2005), mas apenas em *Baeckea imbricata* estes se posicionam alternadamente com as pétalas como em *E. neonitida*. No entanto não parece haver correlação entre a posição dos primórdios estaminais nestas espécies, muito embora, uma correlação entre a localização inicial e a comparação no arranjo final dos estames seja dificultada pelo fato de, por exemplo, em *B. imbricata* os cinco primórdios estaminais serem os únicos formados, enquanto em *E. neonitida* os quatro primórdios iniciais dão início a uma série de cerca de duzentos estames.

Carrucan & Drinnan (2000) afirmam que o número total de estames produzidos é influenciado pelo tempo de produção dos primórdios estaminais e

que a forma com que o hipanto se expande determina o arranjo final dos estames na flor madura. Se o botão amplia algumas áreas mais que outras, os estames se posicionam de forma diferente em torno da flor. Segundo os autores, mudanças sutis em quaisquer destes fatores durante o desenvolvimento resultam em morfologia de flor significativamente diferente. Este fato pode explicar as diferenças encontradas entre as espécies acima citadas, cujos estames variam em número de 5 a 40 e geralmente formam um único anel com arranjos variados, e *E. neonitida*, onde os estames ocupam toda a porção do hipanto ao redor do estilete. Padrão semelhante a este ocorre em *E. uniflora* (Lopes 2008), o que permite supor uma forma de desenvolvimento semelhante entre ambas, exceto pela diferença no número de estames (cerca de 50 em *E. uniflora* e 200 em *E. neonitida*). Tal forma pode estar relacionada à maior expansão do hipanto em *E. neonitida*, o que talvez refleta a diferença no diâmetro total das flores, aproximadamente 16 mm para *E. uniflora* e 26 mm para *E. neonitida* (Silva e Pinheiro, 2007). Em relação à antera, a cavidade secretora encontrada na região apical do conectivo, constitui uma sinapomorfia para a família (Stevens 2001).

Os vacúolos nucleares evidenciados durante a microsporogênese de *E. neonitida* e em um indivíduo de *E. uniflora* (Lopes 2008) estão associados com a finalização do complexo sinaptonêmico, relacionado ao *crossing over*, durante a prófase meiótica (Sheffield *et al.*; 1987).

As anomalias registradas em *E. neonitida* durante a fase final da meiose - na formação das paredes dos micrósporos ainda nas tétrades - levando a lojas com praticamente todos os grãos abortados estão relacionadas à esterilidade masculina. Alterações na microsporogênese e no tapete têm sido estudadas em espécies de diversas famílias - Poaceae Barnhart, Liliaceae Juss., Chenopodiaceae Vent., Ranunculaceae Juss., Brassicaceae Burnett, Rosaceae Juss., Fabaceae Lindl., Linaceae DC. ex Perleb, Onagraceae Juss., Apiaceae Lindl., Apocynaceae Juss., Solanaceae Juss., Cucurbitaceae Juss. (Laser & Lersten 1972); Cactaceae Juss (Strittmatter *et. al.*, 2006); Euphorbiaceae Juss. (Liu *et. al.*, 2007); Cleomaceae Bercht. & J. Presl (Gama, 2009) - . Uma constante é a degradação do tapete como primeiro indício do processo de aborto, uma vez

que este fornece enzimas para dissolução das paredes de calose e matéria prima para a formação da parede dos grãos de pólen.

Em *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae), genes de expressão precoce – *MYB33* e *MYB65*, *EMS1/EXS*, *TPD1*, *SERK1/2* e *ROXY1/2* e *FAT TAPETUM* – estão relacionados à diferenciação do tapete e o gene *DYT1* à formação do pólen (Chaudhury, 1993; Sanders *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2003; Xing & Zachgo, 2008). Embora a entrada na meiose possa ocorrer na ausência de um tapete normal, vários mutantes com tapete defeituoso exibem um fenótipo macho-estéril pela degeneração dos micrósporos. Recentemente Xu e colaboradores (2010) analisando o gene *ABORTED MICROSPORES (AMS)* verificaram que o mesmo é um regulador central do desenvolvimento pós meiótico masculino em *A. thaliana*, com ação sobre a indução e secreção dos precursores da parede do pólen e possivelmente do desenvolvimento do tapete, além de facilitador da morte celular programada.

Em Cleomaceae, família irmã de Brassicaceae, nas flores pistiladas de *Cleome rosea* Vahl *ex DC.* (Gama, 2009), a meiose masculina é também a etapa crítica a partir da qual tem início a divergência que determina a esterilidade masculina. A autora sugere um papel relevante no estabelecimento da esterilidade masculina a um alelo mutante do gene *FAT TAPETUM* observado no mutante *fat tapetum* de *A. thaliana*.

Em *E. neonitida*, as alterações no tapete e no pólen, assim como o fato de ocorrerem, por vezes, em uma única loja da antera parecem indicar que não estejam ligadas diretamente à expressão ordinária de tais genes. Os grãos de pólen com várias estruturas circulares que se coram mais intensamente com o Azul de Toluidina. foram também observados por Lopes (2008) em *E. uniflora*. Por se assemelharem a núcleos, o autor apontou as referidas estruturas como sendo, de fato, núcleos. O mesmo foi observado em anteras de um híbrido de *Solanum* L. (Solanaceae) cultivado *in vitro*, (Ramanna, 1974). São necessários estudos mais aprofundados destas estruturas para esclarecer seu significado biológico em *E. neonitida* e outras espécies.

Fatores como a ação de patógenos também necessitam ser investigados. Lopes (2008) levanta a possibilidade de que as anomalias observadas em *E. uniflora* possam ser resultado de um fenômeno denominado castração parasitária à distância. Neste conceito o ataque por insetos pode potencialmente reduzir o crescimento das plantas e o processo de reprodução (Wolfe, 1997). Pode ser citado o caso de *Crepis bienens* Bercht. & J. Presl (Asteraceae), cujas raízes são atacadas por um coleóptero (*Lixus punctiventris*) que induz alterações nas inflorescências, levando à esterilidade (Ross 1932 *apud* Dreger-Jauffret & Shorthouse, 1992).

Estudos ontogenéticos mais aprofundados sobre o desenvolvimento floral na tribo *Myrteae* e em *Myrtaceae* de uma forma geral são necessários para que, segundo Lucas *et al.*, (2007), caracteres desta natureza possam ser melhor utilizados em estudos filogenéticos e auxiliem a esclarecer os caminhos evolutivos do gineceu do grupo.

5 CONCLUSÕES

A partir da hipótese de que *Eugenia neonitida* compartilha alguns dos estados de caracteres estabelecidos por Lopes (2008) para *E. uniflora*, tais como: a presença de coléteres protegendo o meristema de inflorescência, o número de carpelos igual a dois, os óvulos unitegmentados e a placentação axial basal, pôde-se concluir que alguns destes estados são, de fato, compartilhados entre as espécies, no entanto existem diferenças que apontam para uma maior diversidade estrutural dentro do grupo, o que evidencia a necessidade de mais estudos estruturais e de desenvolvimento em Myrtaceae.

- Assim como em *E. uniflora* o meristema da inflorescência é protegido por coléteres. Somado a isso também foram encontrados coléteres protegendo os meristemas florais e vegetativos.
- As alterações no tapete e no pólen, assim como o fato de ocorrerem, por vezes, em uma única loja da antera indicam semelhanças com *E. uniflora*.
- O número de carpelos é igual a dois, a semelhança do que foi descrito para *E. uniflora*.
- Diferente do que ocorre em *E. uniflora*, os óvulos de *E. neonitida* possuem dois tegumentos durante todas as fases do desenvolvimento.
- A placentação embora se desenvolva a partir de eixo de origem caulinar como em *E. uniflora*, difere desta pela inserção na porção superior do ovário e pela formação de projeções onde se formam os óvulos.

6 PERSPECTIVAS

Schönenberger & Balthazar (2006) descrevem a importância de trabalhos morfológicos e anatômicos para auxiliar em estudos filogenéticos, principalmente dentro do clado *rosid* -Eudicotiledônea core- (APG III, 2009), no qual Myrtaceae está inserida. As análises moleculares que trouxeram novas contribuições à compreensão da história evolutiva das plantas (Friedman *et al.*, 2004 e APG III, 2009) têm sido acompanhadas, nos últimos anos, por reavaliações morfológicas de grupos-chave que vêm permitindo reconstruções de caracteres ancestrais e apontando aqueles filogeneticamente informativos.

Dados importantes para os estudos filogenéticos de Myrtaceae incluem caracteres estruturais relacionado ao gineceu (Johnson & Briggs, 1984 e Wilson *et al.*, 2001) e estruturas secretoras (Gomes *et al.*, 2009). Dentro deste contexto uma análise da evolução dos caracteres relacionados às estruturas secretoras, à placentação, à vascularização do ovário e aos tegumentos dos óvulos e seus estados pode ser informativa do ponto de vista filogenético auxiliando a elucidação das relações dentro de *Myrteae*, o que nos estimula a estabelecer propostas como:

1. Analisar os grãos de pólen anómalos em microscopia ótica com utilização de fluorocromos específicos para DNA e acompanhar detalhadamente sua formação em microscopia eletrônica de transmissão.
2. Descrever a ontogênese e a anatomia do gineceu e das estruturas secretoras associadas de outras espécies da tribo *Myrteae*.
3. Levantar em representantes da tribo *Myrteae*, os estados de caracteres estruturais relativos ao gineceu como: número de carpelos, origem do ovário ínfero e do septo ovariano, presença ou não de compito, tipo de placentação, vascularização floral, número de tegumentos dos óvulos e a ocorrência distribuição, morfologia e ontogênese dos coléteres e cavidades secretoras.

4. Investigar ultra-estruturalmente as células secretoras, correlacionando com as diferentes classes de substâncias químicas secretadas, com os mecanismos celulares de secreção e com o processo de formação do lume das cavidades.

5. Mapear os caracteres acima na filogenia de Lucas *et al.* (2007), para a tribo *Myrteae*.

7 REFERÊNCIAS

- Amaral LIV, Pereira MF, Cortelazzo AL. 2001.** Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento de sementes de urucum (*Bixa orellana* L. – Bixaceae). *Acta Botanica Brasilica* **15**: 125-132.
- APG III. 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* **161**:105-121.
- Appezato-da-Glória B, Estelita MEM. 2000.** Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **23** (2):113-120.
- Barreiro DP, Machado SR. 2007.** Coléteres dendróides em *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum., uma espécie não-nodulada de Rubiaceae. *Revista Brasileira de Botânica* **30** (3):387-399.
- Barroso GM, Peixoto AL. 1995.** Myrtaceae da Reserva Florestal de Linhares, ES, Brasil – gêneros *Calyptanthus* e *Marlierea*. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão* **3**: 3-38.
- Barroso GM, Peixoto AL, Ichaso CLF, Costa CG, Guimarães EF, Lima HC. 1984.** Myrtaceae. In: *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Vol.2. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa: Imprensa Universitária.
- Bentham G. 1869.** Notes on Myrtaceae. *Botanical Journal of Linnean Society Bot.***10**: 101–166.
- Biffin E, Craven LA, Crisp MD, Gadek PA. 2006.** Molecular systematics of *Syzygium* and allied genera (Myrtaceae): Evidence from the chloroplast genome. *Taxon* **55**: 79-94.
- Briggs BG, Johnson LAS. 1979.** Evolution in the Myrtaceae-evidence from inflorescence structure. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* **102** (4): 157-256.
- Candolle, AP. De. 1828.** *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis* **3**: 207-296.
- Carmelo SM, Machado SR, Gregório EA. 1995.** Ultrastructural aspects of the secretory duct development in *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **18**: 95-103.
- Carr SGM, Carr DJ. 1961.** The functional significance of syncarpy. *Phytomorphology, Jodhpur*, **11**: 249-256.
- Carr SGM, Carr DJ. 1969.** Oil glands and ducts in *Eucalyptus* L'Herit.I.The phloem and pith. *Australian Journal of Botany* **17**: 417-513.

- Carr DJ, Carr SGM. 1970.** Oil glands and ducts in *Eucalyptus* L'Herit. II. Development and structure of oil glands in the embryo. *Australian Journal of Botany* **18**: 192-212.
- Carrucan AE, Drinnan AN. 2000.** The ontogenetic basis for floral diversity in the *Baeckea* sub-group (Myrtaceae). *Kew Bulletin* **55**: 593 – 613.
- Chaudhury AM. 1993.** Nuclear genes controlling male fertility. *The Plant Cell* **5**: 1277–1283.
- Cicarelli D, Pagni AME, Andreucci AC. 2003.** Ontogeny of secretory cavities in vegetative parts of *Myrtus communis* L. (Myrtaceae): an example of schizolysigenous development. *Israel Journal of Plant Sciences* **51**: 193-198.
- Cicarelli D, Garbari FE, Pagni AM. 2008.** The flower of *Myrtus communis* (Myrtaceae): secretory structures, unicellular papillae, and their ecological role. *Flora* **203**: 85-93.
- Clifford SC, Arndt SK, Popp M, Jones HG. 2002.** Mucilages and polysaccharides in *Ziziphus* species (Rhamnaceae): localization, composition and physiological roles during drought-stress. *Journal of Experimental Botany* **53**: 131-138.
- Conde MMS, Lima, HRP, Peixoto AL. 2005.** Aspectos florísticos e vegetacionais da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil *In*: Menezes LFT, Peixoto AL Araujo DSD. (Ed.). *História Natural da Marambaia*. Seropédica: EDUR.
- Costello A, Motley TJ. 2004.** The development of the superior ovary in *Tetraplasandra* (Araliaceae). *American Journal of Botany* **91**: 644-655.
- Di Maio FR, Silva MBR. 2000.** Espécies ameaçadas de extinção no município do Rio de Janeiro. Secretaria Municipal de Meio Ambiente, RJ.
- Dreger-Jauffret F, Shorthouse JD. 1992.** Diversity of Gall inducing insects and their galls. *In* Shorthouse JD, Rohfritsch O. (Eds). *Biology of insect-induced galls*. Oxford: Oxford University Press.
- Drinnan AN, Carrucan AE. 2005.** The ontogenetic basis for floral diversity in *Agonis*, *Leptospermum* and *Kunzea* (Myrtaceae). *Plant Systematic and Evolution* **251**: 71–88.
- Endress ME, Bruyns PV. 2000.** A Revised Classification of the Apocynaceae *s.l.* *The Botanical Review* **66**(1): 1-56.
- Faegri K, Pijl LV. 1979.** The principles of pollination ecology. Oxford: Pergamon Press.

- Fahn A. 1979.** Secretory tissues in plants. London: Academic Press.
- Fahn A. 1988.** Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* **108**: 229-257.
- Fahn A, Shimony C. 1977.** Development of the glandular and non-glandular leaf hairs of *Avicennia marina* (Forsskål) Vierh. *Botanical Journal of the Linnean Society* **74**: 37-46.
- Fontenelle GB, Costa CG, Machado RD. 1994.** Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **115**: 111-133.
- Friedman WE, Moore RC, Purugganan MD. 2004.** The evolution of plant development. *American Journal of Botany* **91**(10): 1726–1741.
- Gabe M. 1968.** Techniques Histologiques. Paris: Masson & Cie.
- Gahan PB. 1984.** Plant Histochemistry and Cytochemistry – an introduction. London: Academic Press.
- Gama RCR. 2009.** Estrutura e desenvolvimento de três tipos florais de *Cleome Rosea* Vahl Ex DC. (Cleomaceae). Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Gomes SM, Somavilla NSDN, Gomes-Bezerra KM, Miranda SC, De-Carvalho OS, Graciano-Ribeiro D. 2009.** Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. *Acta botanica brasílica* **23**(1): 223-238.
- Gregory M, Baas P. 1989.** A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* **38**: 125-174.
- Harbone JB. 1993.** Introduction to ecological biochemistry. 4 th ed. London: Academic Press.
- Howart WO, Horner LGG. 1959.** Practical Botany for the Tropics. London: University London Press.
- Jensen WA. 1962.** Botanical histochemistry: principles and practice. San Francisco: W. H. Freeman & Co.
- Johansen DA. 1940.** Plant microtechnique. New York: MacGraw-Hill Company Book.
- Johnson LAS, Briggs BG. 1984.** Myrtales and Myrtaceae – a phylogenetic analysis. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **71** (3): 700–756.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. 2009.** Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético. 3ªed. Porto Alegre: Artmed.

- Kalachanis D, Psaras GK. 2005.** Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communis* leaves. *Biologia Plantarum* **49**: 105-110.
- Kaplan, D. R. 1967.** Floral Morphology, Organogenesis and Interpretation of the Inferior Ovary in *Dawningia Bacigalupii*. *American Journal of Botany* **54** (10): 1274-1290.
- Kawasaki ML. 1989.** Flora da Serra do Cipó, MG, Brasil: Myrtaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* **11**: 121-170.
- Klein DE, Gomes VM, Silva-Neto EJ, Cunha M. 2004.** The Structure of Colleters in Several Species of *Simira* (Rubiaceae). *Annals of Botany* **94**: 733–740
- Knight TG, Klieber A, Sedgley M. 2001.** The relationship between oil gland and fruit development in Washington navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Annals of Botany* **88**: 1039-1047.
- Kronstedt-Robards E, Robards AW. 1991.** Exocytosis in gland cells. *In* Hawes CR, Coleman JOD, Evans DE. (eds.). *Endocytosis, exocytosis and vesicle traffic in plants*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Landrum LR. 1988.** Systematics of *Myrteola* (Myrtaceae). *Systematic Botany*. **13**: 120–132.
- Landrum LR, Kawasaki ML. 1997.** The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. *Brittonia* **49** (4): 508-536.
- Laser KD, Lersten NR. 1972.** Anatomy and Cytology of Microsporogenesis in Cytoplasmic Male Sterile Angiosperms. *The Botanical Review* **38**: 425-454.
- List S, Brown PHE, Walsh KB. 1995.** Functional anatomy of the oil glands of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany* **43**: 629-641.
- Liu HF, Kirchoff BK, Wu GJ, Liao JP. 2007.** Microsporogenesis and male gametogenesis in *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). *Journal of the Torrey Botanical Society* **134** (3): 335-343.
- Lopes BC. 2008.** Desenvolvimento floral e estudo palinológico de *Eugenia uniflora* L. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Lucas EJ, Belsham SR, Nic Lughadha EM, Orloyich DA, Sakuragui CM, Chase MW, Wilson PG. 2005.** Phylogenetic patterns in the frash-fruited Myrtaceae – preliminary molecular evidence. *Plant Systematics and Evolution* **251**: 35-51.
- Lucas EJ, Harris SA, Mazine FF, Belsham SR, Nic Lughadha EM, Telford A, Gasson PE, 2007.** Chase MW. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (myrtales). *Taxon* **56** (4):1105-1128.

- Lughadha EN, Proença C. 1996.** survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* **83**:480-503.
- Machado SR. 2000.** Aspectos subcelulares da secreção. *In* Cavalcanti TB, Walter BMT. (coords.). Tópicos atuais em botânica: Palestras convidadas do 51º Congresso Nacional de Botânica. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Sociedade Botânica do Brasil.
- Machado SR, Carmelo-Guerreiro SM. 2001.** Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Acta Botanica Brasilica* **15**: 189-195.
- Martini MH, Lenci CG, Tavares DQ. 2003.** Mucilage pockets in cotyledon tissue of *Theobroma speciosum*. *Acta Microscopica* **12**: 65-69.
- Mazia D, Brewer PA, Alfert M. 1953.** The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. *Biological Bulletin*
- Mcvaugh R. 1963.** Tropical American Myrtaceae II. *Fieldiana, Botany* **29** (8): 393-532.
- Monteiro WR, Castro MM, Fahn A, Caldeira W. 1995.** Observations on the development of the foliar secretory cavities of *Prophyllum lanceolatum* (Asteraceae). *Nordic Journal of Botany* **15**: 69-76.
- Monteiro WR, Fahn A, Caldeira W, Castro MM. 1999.** Ultrastructural observations on the foliar secretory cavities of *Prophyllum lanceolatum* DC. (Asteraceae). *Flora* **194**: 113-126.
- Orlovich DA, AN, Ladiges PY. 1999.** Floral Development in *Melaleuca* and *Callistemon* (Myrtaceae). *Australian Systematic Botany* **11**: 689-710.
- Paiva EAS, Machado SR. 2006.** Ontogenesis, structure and ultrastructure of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae-Caesalpinioideae) colleters. *Revista de Biologia Tropical* **54**: 943-950.
- Pearse AGE. 1980.** Histochemistry theoretical and applied. vol.2, 4th ed. London: Longman Press.
- Pizo MA. 2002.** The seed dispersers and fruit syndromes of Myrtaceae in Brazilian Atlantic forest. *In* Levey DJ, Silva WR, Galetti M. eds. *Frugivores and seed dispersers . biodiversity and conservation perspectives*. Wallingford: CABI Publishing, 129-143.
- Proença CEB. 1990.** Revision of *Siphoneugena* Berg. *Edinburgh Journal of Botany* **47** (3): 239-271.

- Proença CEB, Gibbs PE. 1994.** Reproductive biology of eight sympatric Mirtaceae from Central Brazil. *New Phytologisty* **126**: 343-354.
- Purvis MJ, Collier DC, Walls D. 1964.** Laboratory techniques in botany. London: Butterwoths.
- Ramanna MS. 1974.** The origin and *in vivo* development of embryoids in the anthers os *Solanum* hybrids. *Euphytica* **23**: 623-632.
- Renobales G, De Diego E, Urcelay B, Lo´ Pez-Quintana A. 2001.** Secretory hairs in *Gentiana* and allied genera (Gentianaceae, subtribe 23 Gentianinae) from the Iberian Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society* **136**: 119–129.
- Resende MH, Morretes BL. 2003.** Ocorrência e anatomia de estruturas secretoras em *Caryocar brasiliensis* Camb. (Caryocaraceae) I. Coléteres. *Bradea* **9** (9):37-44.
- Rocha JF, Neves LJ, Pace LB. 2002.** Estruturas secretoras em folhas de *Hibiscus tiliaceus* L. e *Hibiscus pernambucensis* Arruda. *Revista Universidade Rural, Série Ciências de Vida* **22**:43-55.
- Rocha JF. 2004.** Estruturas secretoras em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): anatomia, desenvolvimento, histoquímica e ultra-estrutura. Tese de Doutorado. UNESP-Botucatu.
- Rodrigues TM. 2008.** Espaços secretores em *Copaifera langsdorffii* Desf. e *Pterodon pubescens* Benth.: ontogênese estrutura e secreção. Tese de Doutorado. UNESP-Botucatu.
- Roshchina VV, Roshchina VD. 1993.** The excretory fuction of higher plants. Berlin: Springer-Verlag.
- Sanders PM, Bui AQ, Wetering K, Mcjntire, KN, Hsu, YC, Lee P, Truong MT, Beals TP, Goldberg RB. 1999.** Anther developmente defects in *Arabidopsis thaliana* male-sterile mutantas. *Sexual Plant Reproduction*, **1**: 297–322.
- Sawidis TH. 1998.** The subgandular tissue of *Hibiscus rosa-sinensis* nectarines. *Flora* **193**: 327-335.
- Schmidt R. 1972.** Floral anatomy of Myrtaceae, II. *Eugenia*. *The Journal of the Arnold Arboretum* **53**: 336-363.
- Schmid R. 1980.** Comparative anatomy and morphology of *Psiloxylon* and *Heteropyxis*, and the subfamilial and tribal classification of Myrtaceae. *Taxon* **29**: 559–595.

- Schönenberger J, Balthazar M von. 2006.** Reproductive structures and phylogenetic framework of the rosids - progress and prospects. *Plant Systematic Evolution* **260**: 87–106.
- Schwarz EA, Furlan A. 2002.** Coléteres foliares de *Oxypetalum* R. Br. (Asclepiadoideae, Apocynaceae) - Aspectos ultraestruturais e anatômicos úteis à taxonomia das espécies do Paraná (Brasil). *Acta Biol. Par.*, Curitiba, **31** (1, 2, 3,4): 79-97.
- Sheffield E, Cawood AH, Bell PR, Dickinson HG. 1987.** The development of nuclear vacuoles during meiosis in plants. *Planta* **146**(5): 597-601.
- Silva ALG, Pinheiro MC. 2007.** Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Acta botanica brasílica* **21**(1): 235-247.
- Soltis DE, Hufford L. 2002.** Ovary position diversity in saxifragaceae: clarifying the homology of epigyny. *International Journal of Plant Sciences* **163** (2):277-293.
- Soltis DE, Fishbein M, Kuzoff RK. 2003.** Reevaluating the evolution of epigyny: data from phylogenetics and floral ontogeny. *International Journal of Plant Sciences*. **164** (5): 251-264.
- Souza MC. 2005.** Myrtaceae Juss. da Restinga da Marambaia, RJ – Brasil. Dissertação de Mestrado. Escola Nacional de Botânica Tropical, do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Souza VC, Lorenzi H. 2005.** Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- Stevens PF. (2001 em diante).** Angiosperm Phylogeny Website. versão 9 de Junho de 2008. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. último acesso em 09 de fevereiro de 2010.
- Strittmatter LI, Negron-Ortiz V, Hickey JR. 2006.** Comparative microsporangium development in male-fertile and malesterile flowers of *Consolea* (Cactaceae): When and how does pollen abortion occur. *Grana* **45**: 81–100
- Taboga SR, Vilamaior PSL. 2001.** Citoquímica. *In* Carvalho HF, Recco-Pimentel SM. (eds.). *A célula* 2001. Barueri: Manoli Ltda.
- Teixeira SP, Gabrielli AC. 2000.** Anatomia do eixo vegetativo de *Dahlstedtia pinnata* (Benth.) Malme e *D. pentaphylla* (Taub.) Burk. (Leguminosae, Papilionoideae). *Revista Brasileira de Botânica* **23**: 1-11.

- Teixeira SP, Rocha JF. 2009.** Oil glands in the Neotropical genus *Dahlstedtia* Malme (Leguminosae, Papilionoideae, Millettieae). *Revista Brasileira de Botânica* **32** (1): 57-64.
- Teixeira SP, Castro MM, Tozzi AMGA. 2000.** Secretory cavities and pellucid dots in leaflets of *Lonchocarpus* (Leguminosae, Papilionoideae, Millettieae). *Plant Systematics and Evolution* **221**: 61-68.
- Thomas V. 1991.** Structural, Functional and phylogenetic Aspects of the Colleter. *Annals of botany* **68**: 287-305.
- Turner G. 1986.** Comparative development of secretory cavities in the tribes Amorpheae and Psoraleeae (Leguminosae: Papilionoideae). *American Journal of Botany* **73**: 1178-1192.
- Turner G. 1999.** A brief history of the lysigenous gland hypothesis. *Botanical Review* **65**: 76-88.
- Van Der Merwe MM, Van Wyk AE, Botha AM. 2005.** Molecular phylogenetic analysis of *Eugenia* L. (Myrtaceae) with emphasis on southern African taxa. *Plant Systematics and Evolution* **251**: 21-34.
- Vilar JS, Silva ACA, Coelho MR, Silva ALG, Sabaasrur AUO. 2006.** Potencial nutritivo de frutos de pitangão (*Eugenia neonitida*, sobral). *Revista Brasileira de Fruticultura* **28** (3): 536-538.
- Weberling F. 2000.** *Tepualia stipularis* (Myrtaceae), una planta con apéndices estipuliformes y estípulas rudimentarias. *Kurtziana* **28**: 313-315.
- Williams EG, Sage TL, Thien LB. 1993.** Functional Syncarpy by Intercarpellary Growth of Pollen Tubes in a Primitive Apocarpous Angiosperm, *Illicium floridanum* (Illiciaceae). *American Journal of Botany* **80** (2): 137-142.
- Wilson PG, O'Brien MM, Gadek PA, Quinn CJ. 2001.** Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany* **88**: 2013–2025.
- Wilson PG, O'Brien MM, Helsewood MM, Quinn CJ. 2005.** Relationships within Myrtaceae *sensu lato* based on a *matK* phylogeny. *Plant Systematics and Evolution* **251**:3-19.
- Wolfe LM. 1997.** Differential flower herbivory and gall formation on males and females of *Neea psychotrioides*, a dioecious tree. *Biotropica* **29**: 169-174.
- Xing S, Sachgo S. 2008.** *ROXY 1* and *ROXY 2*, two *Arabidopsis* glutaredoxin genes, are required for anther development. *The Plant Journal*, **53**: 790–801.

Xu J, Yang C, Yuan Z, Zhang D, Gondwe MY, Ding Z, Liang W, Zhang DB, Wilson ZA. 2010. The Aborted Microspores Regulatory Network Is Required for Postmeiotic Male Reproductive Development in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*. Disponível em <http://www.plantcell.org/cgi/rapidpdf/tpc.109.071803v1>.

Yang X, Makaroff SA, Ma H. 2003. The *Arabidopsis* male meiocyte death1 gene encodes a PHD-finger protein the is required for male meiosis. *The Plant Cell* **15** (6): 1281–1295.