

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Museu Nacional

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO



MUSEU NACIONAL
UFRJ

**DIOICIA CRÍPTICA EM *Garcinia brasiliensis* Mart.
(CLUSIACEAE, MALPIGHIALES):
ANATOMIA E ONTOGENESE FLORAL**

Daniel de Oliveira Leal

Orientadoras: Dra. Heloísa Alves de Lima Carvalho
Dra. Bárbara de Sá Haiad

RIO DE JANEIRO
2011

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Museu Nacional

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

DIOICIA CRÍPTICA EM *Garcinia brasiliensis* MART.
(CLUSIACEAE, MALPIGHIALES):
ANATOMIA E ONTOGÊNESE FLORAL

Orientadoras: Dra. Heloísa Alves de Lima Carvalho
Dra. Bárbara de Sá Haiad

Daniel de Oliveira Leal

2011

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Museu Nacional

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

DIOICIA CRÍPTICA EM *Garcinia brasiliensis* MART.
(CLUSIACEAE, MALPIGHIALES):
ANATOMIA E ONTOGÊNESE FLORAL

Daniel de Oliveira Leal

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).

Orientadoras: Dra. Heloísa Alves de Lima Carvalho
Dra. Bárbara de Sá Haiad

Rio de Janeiro

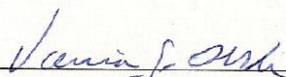
2011

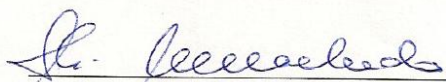
Universidade Federal do Rio de Janeiro
Museu Nacional
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

DIOICIA CRÍPTICA EM *Garcinia brasiliensis* Mart.
(CLUSIACEAE, MALPIGHIALES):
ANATOMIA E ONTOGÊNESE FLORAL

Daniel de Oliveira Leal

Aprovada por:

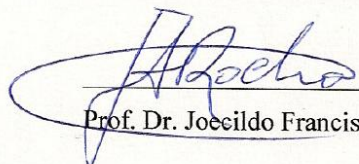

Prof. Dra. Vânia Gonçalves Lourenço Esteves (Presidente)


Prof. Dra. Silvia Rodrigues Machado


Prof. Dra. Vera Lúcia Scatena

Suplentes:


Prof. Dra. Lygia D. R. Santiago Fernandes


Prof. Dr. Joecildo Francisco Rocha

Rio de Janeiro
2011

FICHA CATALOGRÁFICA

L435

Leal, Daniel de Oliveira.

Dioicia críptica em *Garcinia brasiliensis* Mart. (Clusiaceae, Malpighiales): anatomia e ontogênese floral / Daniel de Oliveira Leal. - Rio de Janeiro: UFRJ/MN, 2011.

xi, 63f.: il. (algumas color.); 30 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Programa de Pós-Graduação em Botânica, 2011.

Bibliografia: f. 56-63.

Orientadoras: Heloísa Alves de Lima Carvalho e Bárbara de Sá Haiad.

1. Clusiaceae. 2. *Garcinia brasiliensis*. 3. Plantas - Análise Estrutural. 4. Ontogenia. I. Carvalho, Heloísa Alves de Lima (Orient.). II. Haiad, Bárbara de Sá (Orient.). III. Universidade Federal do Rio de Janeiro. IV. Museu Nacional (Brasil). Programa de Pós-Graduação em Botânica. V. Título.

CDD 583.163

Aos meus pais Geraldo e Sônia,

A Bárbara de Sá Haiad,

A Heloísa Alves de Lima e a

Lygia Santiago Fernandes

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, criador de todas as coisas, pela vida e por mais essa conquista.

Aos meus pais, Geraldo Leal e Sônia Leal pelo apoio e carinho de sempre, pela educação que me deram e pela formação que me proporcionaram.

Aos meus sobrinhos, por me fazer ver o mundo com olhar de criança e acreditar sempre em dias melhores.

À minha família: em especial, Tia Maria Stella Leal, pelos constantes conselhos e conversas para eu nunca desistir dos meus objetivos.

À Prof. Dra. Bárbara Haiad, pela fiel parceria, pela ajuda nas coisas mais simples até as mais complicadas, pela paciência... enfim, pela entrega! Muito obrigada!

À Querida Bárbara... resumindo em poucas palavras... como foi divertido trabalhar com você. Como foi bom saber que tinha uma mãe pra puxar a orelha quando preciso, uma irmã pra conversar e uma grande amiga nas excursões, nas pizzas, nos aniversários... E rimos, como rimos... Te adoro!!!

À Prof. Dra. Heloísa Lima, pela orientação ao longo deste trabalho, pela delicadeza de sempre me atender quando preciso, por ser sempre solícita aos meus pedidos.

À Helo, pelas excursões, pelas conversas, pelas ideias... por fazer parte da minha vida acadêmica e pessoal.

À Prof. Dra. Lygia Fernandes, pelas inúmeras oportunidades e confiança depositada em mim em todos esses anos de laboratório, pelo carinho e pelas valiosas colaborações no trabalho.

Ao Prof. Dr. Joecildo Francisco Rocha, pela criteriosa avaliação do trabalho na disciplina de Seminários e pela revisão final.

À Prof. M. Sc. Maria Alice Mariano da Silva, que com seu jeito meigo e cativante, instigou o meu interesse, cada vez maior, pela Botânica... a culpa é sua!

Ao Prof. Dr. Max Dória Barbosa, pela co-orientação na fase de iniciação científica e pelos inúmeros momentos de descontração.

À Isabella Haddad pela amizade, cumplicidade, lealdade e carinho durante todo o período do curso. Sem você, nada disso teria nem se iniciado.

Ao amigo (quase irmão, se não fossem os olhos puxados, a baixa estatura e a pouca quantidade de cabelo) Rafael Ribeiro Pimentel pela solicitude de sempre, pela amizade, pela ajuda na parte histoquímica e pela parceria nas grandes roubadas!

À Renata Cesar e Cássia Malafaia, pela colaboração na parte técnica no laboratório e no campo. A ajuda de vocês foi primordial para o êxito deste trabalho. Muito obrigado!

À Rosa Cristina de Paula, pelas inúmeras conversas, conselhos e pela amizade.

À Rita Gama, mesmo com seu bracinho não muito eficiente, pela ajuda na parte metodológica, pelas conversas e por tentar me fazer entender vários filmes. E...?

À Nathalia Pinheiro, pela amizade e companhia virtual na confecção das pranchas.

À Bruno Lopes, pelos momentos de descontração e pela ajuda sempre solícita.

Ao Aluizio Vieira, pelo apoio nos procedimentos do laboratório e pela grande amizade que nutrimos ao longo desse tempo.

À todos do Laboratório de Anatomia Vegetal: Márcia da Rocha, Natália Barreira, Diego Spala, Thabatta da Silva, Pâmela Coelho, Lilian da Cunha, Najara Rabelo, Thiago Viegas, Nathane Cardim, Rayza Ferreira e Thales Vinícius.

À Prof. Dra. Ana Maria Tereza Rodarte, pelo apoio nas excursões para coleta e pelo carinho que sempre demonstrou por mim.

À Angela Albuquerque (será um ser de luz?) e Luciene São Leão, pessoas meigas e cativantes, pela amizade, carinho incondicional e conversas.

À Cristine Rodrigues Benevides, pelo apoio em todas as atividades de campo, pela identificação dos indivíduos trabalhados e pela amizade.

Aos colegas do Laboratório de Biologia da Reprodução: Alexandre Greco, Luciana Nascimento, Emanoela Muniz, Patrick Oliveira e Camila Suizane, pela companhia em vários dias de sol a pino na restinga, durante a realização do trabalho de campo.

À Prof. Dra. Luci de Sena Vale, pelo carinho e torcida desde a iniciação científica.

À Deia Cristina Pizzini Ferreira, pela fiel amizade e companheirismo, desde os tempos da graduação e pelas festas, que sempre trouxeram momentos de descontração ao laboratório.

As amigas da graduação Tatiana Oliveira, Maria Luiza Brancato e Vânia Ferreira: encontramos outros caminhos, outras pessoas... O tempo que nos une é o mesmo que nos separa. Obrigado por tudo!

A Bibliotecária Dulce Carvalho, pela amável receptividade e orientações na confecção da ficha catalográfica.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), pelo empenho e receptividade para com todos os alunos.

À CAPES, pela bolsa de mestrado e pelo auxílio PROAP concedidos.

E a todos que contribuíram para o êxito do trabalho... muito obrigado!

RESUMO

Garcinia pertence à família Clusiaceae que, juntamente com Bonnetiaceae, Calophyllaceae, Hypericaceae e Podostemaceae, forma o grupo dos clusióides, ordem Malpighiales. *Garcinia brasiliensis* é dióica críptica, apresentando flores estaminadas e pistiladas em indivíduos separados. As inflorescências são cimosas, com as flores dispostas em fascículos axilares emitidas a partir de nós caulinares. O objetivo do presente trabalho foi através do exame da anatomia e ontogênese floral e da estrutura de frutos jovens, contribuir para um melhor conhecimento da morfologia floral e compreensão dos processos reprodutivos da espécie, além de testar a ocorrência de apomixia. A espécie apresenta bractéolas envolvendo os botões florais e coléteres. Cavidades e canais secretores de origem esquizógena e esquizolisígena ocorrem em todos os órgãos florais, exceto nos estames e estaminódios. O perianto é formado por tépalas muito semelhantes às bractéolas e que mostram um decréscimo gradual na espessura do mesofilo e da cutícula no sentido centrípeto. Nos dois morfos florais a microsporogênese é simultânea e origina tétrades tetraédricas. Nos estaminódios das flores pistiladas não ocorre a microgametogênese, levando à esterilidade masculina. O gineceu é constituído por ovário súpero, globular, trilocular, uniovulado por lóculo. Os óvulos são anátropos, bitégmos e tenuinucelados. A megasporogênese origina tétrades em T. O saco embrionário é composto por cinco núcleos e quatro células. As antípodas não foram observadas. Ambos os morfos florais possuem nectário originado a partir do gineceu. Eventos isolados de monoíxia foram registrados na população estudada. A análise anatômica do gineceu em botões e flores não mostrou sinais de alterações ou de supressão dos eventos sexuais (megasporogênese, megagametogênese e fertilização) ao longo do desenvolvimento. Frutos originados a partir de flores submetidas à polinização natural apresentaram embrião e endosperma na fase de núcleos livres (nuclear), sugerindo a ocorrência de polinização, seguida de fertilização. Os experimentos envolvendo o ensacamento de flores pistiladas evidenciaram o desenvolvimento de 90% dos ovários, mantidos na planta por cerca de quatro semanas. A análise anatômica destas estruturas revelou sacos embrionários desorganizados, senescentes, e ausência de qualquer evidência de início de formação de endosperma ou de embrião. Assim, não foi confirmada a hipótese de apomixia para *G. brasiliensis*.

ABSTRACT

Garcinia belongs to the Clusiaceae family which, along with Bonnetiaceae, Calophyllaceae, Hypericaceae and Podostemaceae, form the clusioid clade, order Malpighiales. *Garcinia brasiliensis* is cryptically dioecious, with staminate and pistillate flowers on separate individuals. The inflorescences are modified cymes, with the flowers arranged in axillary fascicles emitted from stem nodes. The aim of the present work was, to analyze the floral anatomy and ontogeny as well as the structure of young fruits, meaning to contribute to a better knowledge of the floral morphology and understanding the reproductive processes of the species, besides testing the occurrence of apomixis. The species has bracteoles that surround flower buds, and persistent colleters. Secretory cavities and canals of schizogenous and schizolysigenous origin occur in all floral organs except in the stamens and staminodes. The perianth consists of tepals very similar to the bracteoles that show a centripetal and gradual decrease of mesophyll and of cuticle thickness. In both floral morphs, the microsporogenesis is simultaneous and originates tetrahedral tetrads. In stamens of the pistillate flowers, the microgametogenesis does not occur, leading to male sterility. The gynoecium consists of a superior, globular, trilocular ovary, each locule uniovulate. The ovules are anatropous, bitegmic and tenuinucellate. The megasporogenesis originates tetrads in T. The embryo sac is composed of five nuclei and four cells. The antipodes were not observed. Both floral morphs have nectaries that were originated from the gynoecium. Isolated events of monoecy were recorded in the population. Anatomical analysis of flower buds and flowers showed no signs of alteration or suppression of sexual events (megasporogenesis, megagametogenesis and fertilization) throughout development. Fruits originated from flowers that were subjected to natural pollination, presented embryo and endosperm at the stage of free nuclei (nuclear), suggesting the occurrence of pollination followed by fertilization. The experiments involving the wrapping of pistillate flowers showed the development of 90% of the ovaries that were kept at the mother plant for about four weeks. Anatomical analysis of these structures revealed disorganized and senescent embryo sacs and absence of any evidence of early formation of endosperm or embryo. The hypothesis of occurrence of apomixis for *G. brasiliensis* was therefore not confirmed.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização da área de estudo	19
Figura 2: Habitus, inflorescência e flores de planta masculina	20
Figura 3: Habitus, inflorescência e flores de planta feminina	21
Figura 4: Bractéola	22
Figura 5: Coléteres	23
Figura 6: Canais secretores	24
Figura 7: Canais secretores	25
Figura 8: Tépalas	26
Figura 9: Androceu das flores estaminadas	27
Figura 10: Androceu das flores estaminadas	28
Figura 11: Androceu das flores estaminadas	29
Figura 12: Androceu das flores pistiladas	30
Figura 13: Androceu das flores pistiladas	31
Figura 14: Ovário e óvulo	32
Figura 15: Ovário e óvulo	33
Figura 16: Estigma	34
Figura 17: Estigma	35
Figura 18: Nectário de flores estaminadas	36
Figura 19: Nectário de flores pistiladas	37
Figura 20: Vascularização das flores	38
Figura 22: Variações no sistema sexual de indivíduos na população estudada	39
Figura 22: Experimento de verificação da apomixia	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Indivíduos de <i>Garcinia brasiliensis</i> estudados e informações de Voucher	6
---	---

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAIS E MÉTODOS	6
3. RESULTADOS	8
3.1. Descrição morfológica dos tipos florais	8
3.1.1. Bractéola	9
3.1.2. Coléteres	9
3.1.3. Cavidades e canais secretores	10
3.2. Desenvolvimento floral	10
3.2.1. Perianto	10
3.2.2. Androceu	11
3.2.2.1. O androceu, a microsporogênese e a microgametogênese nas flores estaminadas	11
3.2.2.2. O androceu e a microsporogênese nas flores pistiladas	13
3.2.3. Gineceu	14
3.2.4. Nectário	15
3.2.4.1. O nectário nas flores estaminadas	15
3.2.4.2. O nectário nas flores pistiladas	16
3.3. Vascularização das flores	16
3.4. Variações no sistema sexual de indivíduos na população estudada	17
3.5. Experimento de verificação da apomixia	17
4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES	41
5. PERSPECTIVAS	55
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

1. INTRODUÇÃO

Malpighiales, uma das maiores e mais diversas ordens das angiospermas inclui o grupo dos clusióides - Podostemaceae L. Richard ex C. Agardh, Hypericaceae Jussieu, Calophyllaceae J. Agardh, Clusiaceae Lindley e Bonnetiaceae (Bartl.) L. Beauvis. ex Nakai (WURDACK & DAVIS, 2009; APG III, 2009). Tal diversidade é resultante de uma rápida radiação que se iniciou há 114 milhões de anos (Cretáceo Inferior) nas florestas tropicais pluviais, originando, em um intervalo relativamente curto, as diversas linhagens componentes, sendo o clado Hypericaceae + Podostemaceae aquele de surgimento mais recente, há 76 milhões de anos (DAVIS *et al.*, 2005).

A família Clusiaceae *sensu* Stevens (2007a) compreende 27 gêneros e 1090 espécies de arbustos ou árvores de distribuição pantropical. No Brasil ocorrem 18 gêneros e cerca de 150 espécies (SOUZA & LORENZI, 2008). A mais antiga evidência fóssil da família data do Turoniano e consiste de flores semelhantes às das Clusiaceae atuais, em particular àquelas da subfamília *Clusioideae* Engler, com caracteres que apontam para a dioiccia e produção de resina (CREPET & NIXON, 1998). O termo resina é usado, de modo geral, para exsudados vegetais que incluem numerosas substâncias, dentre elas terpenóides e compostos fenólicos. Representantes de quatro ordens de rosídeas (Malpighiales, Fabales, Rosales e Fagales) produzem resina. Nas Malpighiales, espécies com esta característica pertencem a três famílias tropicais (Clusiaceae, Euphorbiaceae Juss. e Humiriaceae Juss.) e a uma, subtropical (Salicaceae Mirbel). Nas Clusiaceae, espécies dos gêneros *Clusia* L. e *Garcinia* L. produzem resinas tradicionalmente usadas pelo homem como verniz ou em medicina. Muitos insetos, como as abelhas da superfamília Apoideae, coletam resina utilizando-a na construção de seus ninhos como substância de fixação com propriedades antifúngicas, conferindo proteção (LANGENHEIM, 2003).

Clusiaceae é um grupo particularmente interessante para o estudo da diversificação floral por exibir grande variedade de formas florais, modos de polinização e incomum plasticidade evolutiva. Isto é indicado pela observação de táxons relacionados, semelhantes em diversas características morfológicas e diferindo em aspectos fundamentais da arquitetura floral, como nos gêneros *Clusia* e *Garcinia* (GUSTAFSSON *et al.*, 2002).

Com base em dados moleculares, GUSTAFSSON *et al.* (2002) apresentam Clusiaceae dividida em três subfamílias: *Kielmeyeroideae* Engler, *Clusioideae* e *Hypericoideae* Engler, estando esta última estreitamente relacionada a Podostemaceae, com quem compartilha

caracteres como presença de células e canais secretores de resina e óvulos tenuinucelados. De acordo com STEVENS (2007a), *Hypericoideae* passa à categoria de família e Clusiaceae se divide em duas subfamílias: *Kielmeyeroideae* e *Clusioideae*, sendo a dioícia um dos caracteres diagnósticos desta última. O posicionamento de Hypericaceae e Podostemaceae como grupos irmãos (GUSTAFSSON *et al.*, 2002; TOKUOKA & TOBE, 2006; DAVIS *et al.*, 2005; KOROTKOVA *et al.*, 2009) e o estabelecimento do clado dos clusióides compreendendo Bonnetiaceae, Hypericaceae, Podostemaceae e Clusiaceae, esta última polifilética (WURDACK & DAVIS 2009), são bastante recentes. As duas subfamílias de Clusiaceae *s.l.*, estabelecidas através de caracteres morfológicos (STEVENS, 2007a), não formam um clado: a subfamília *Kielmeyeroideae* é irmã de Hypericaceae + Podostemaceae, e *Clusioideae*, de Bonnetiaceae. Os limites do clado que abrange Bonnetiaceae - Podostemaceae tornam-se mais claros (WURDACK & DAVIS, 2009), sendo necessária a remoção de Calophyllaceae (nome mais antigo para *Kielmeyeroideae*) de Clusiaceae. Assim, Clusiaceae *s.s.* está restrita à subfamília *Clusioideae*.

Garcinia foi um dos primeiros gêneros de Clusiaceae a ser descrito (BERG, 1979). Compreende mais de 250 espécies de árvores e arbustos de distribuição pantropical, cujos ramos são cilíndricos, retos e resinosos, as folhas opostas com pecíolo conspícuo e as inflorescências axilares fasciculadas (BERG, 1979). O androceu, de apresentação variável, pode ser fasciculado, organizado em falanges ou composto por estames livres (SWEENEY, 2008). O fruto é do tipo baga, com epicarpo coriáceo, liso ou muricado (BERG, 1979).

As espécies encontram-se agrupadas em duas linhagens principais baseadas na presença ou ausência de nectários nas flores. Alguns gêneros menores, estreitamente relacionados (por exemplo, *Rheedia* L., *Pentaphalangium* Warb., *Ochrocarpos* Thouars e *Tripetalum* K. Schum.) foram incluídos em *Garcinia s.l.* evitando o parafiletismo (SWEENEY, 2008). *Garcinia s.l.* e *Allanblackia* Oliv. ex Benth. formam a tribo *Garcinieae* Choisy. (GUSTAFSSON *et al.*, 2002; SWEENEY, 2008).

Garcinia brasiliensis Mart., popularmente conhecida por bacuripari, ocorre nos Estados do Pará, Amazonas, Acre, Mato Grosso, Maranhão, Pernambuco, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná, em áreas de floresta amazônica, floresta pluvial atlântica e restingas (BERG, 1979).

Os trabalhos relativos às espécies do gênero *Garcinia* apontam divergências na definição dos sistemas sexuais. BERG (1979) considerou tanto *Garcinia brasiliensis* quanto outras espécies brasileiras do gênero como androdioicas (planta dioica com flores estaminadas

e com flores perfeitas). SILVA (2005), entretanto, constatou que as populações de *G. brasiliensis* na restinga de Maricá são dióicas, já que as flores morfológicamente perfeitas são, na verdade, pistiladas, em função da ausência de pólen nas anteras. A autora classificou o sistema sexual da espécie como dioicismo críptico e observou que, tanto nas flores pistiladas como nas estaminadas, o desenvolvimento das anteras é idêntico até o estágio imediatamente anterior à meiose, no entanto não acompanhou todo o processo, não podendo definir o momento em que ocorre o desenvolvimento diferencial do androceu. SWEENEY (2008), recentemente, descreve *Garcinia* como um gênero dióico.

Angiospermas dióicas caracterizam-se pela produção de flores pistiladas e flores estaminadas em plantas separadas. Em espécies dióicas, onde flores estaminadas e pistiladas começam como perfeitas, a unissexualidade pode ser originada por supressão ou inibição do desenvolvimento do órgão sexual alternativo (WU & CHEUNG, 2000). Algumas hipóteses procuram explicar a evolução para dioicia. De acordo com BAWA (1980), este sistema sexual pode ter se desenvolvido diretamente do hermafroditismo ou via ginodioicia, androdioicia e monoicia ou ainda, em alguns casos, a partir da heterostilia. GIVNISH (1982) defende que a dioicia tenha evoluído através da seleção sexual de modo a otimizar a alocação de recursos para a reprodução, ou seja, indivíduos masculinos atuam na dispersão do pólen e os femininos na produção de frutos, otimizando a qualidade de suas sementes.

Embora a frequência de dioicismo nas angiospermas seja de cerca de 6%, na restinga alcança entre 11 e 17%, chegando a 35% entre as espécies lenhosas (ORMOND *et al.* 1991; MATAALLANA *et al.* 2005). Estudos deste sistema sexual são relevantes para um maior entendimento do sucesso da dioicia na restinga.

As flores de *G. brasiliensis* são de antese diurna, exalam odor doce e suave e, na restinga de Maricá, são polinizadas pelas abelhas *Apis mellifera* Linnaeus 1758 e *Trigona spinipes* Fabricius 1793, que visitam as flores em busca do néctar secretado por nectários bem evidentes. Tais estruturas são globosas e localizadas centralmente, nas flores estaminadas; nas flores pistiladas são discóides e hipóginas e também contribuem para a atração visual. SILVA (2005) sugere que a presença de estaminódios nas flores pistiladas poderia estar relacionada à retenção do néctar.

As flores das Clusiaceae que oferecem este tipo de recurso para os visitantes florais apresentam nectários de origem estaminal (BERNADELLO, 2008). Para *Garcinia*, os nectários têm sido interpretados como de origem receptacular ou como órgãos reprodutivos estéreis (SWEENEY, 2008).

Os nectários são estruturas secretoras comuns nas angiospermas e altamente variáveis em morfologia, anatomia e localização, sendo definidos com base na sua função comum, a secreção de néctar (FANH, 1979; BENTLEY & ELIAS, 1983; NICOLSON, S. W. *et al.*, 2007). Devido a esta grande variedade, provavelmente surgiram diversas vezes durante a evolução do grupo tendo, possivelmente, contribuído para a diversificação das plantas com flores e dos animais polinizadores (LEE *et al.*, 2005).

Segundo SILVA (2005), em *G. brasiliensis* as anteras deiscentes das flores estaminadas liberam grãos de pólen imersos em uma substância oleosa, também presente nas anteras das flores funcionalmente pistiladas. A presença de óleo nas anteras também foi registrada para *Symphonia globulifera* L.f., *Platonia insignis* Mart. (BITTRICH & AMARAL, 1996) e *Garcinia gardneriana* (Planch. & Triana) Zappi (BITTRICH & AMARAL, 1994). Em espécies dos gêneros *Caraipa* Aubl., *Kielmeyera* Mart. e *Mahurea* Aubl., pequenas quantidades de óleo fragrante são produzidas em glândulas localizadas no ápice do conectivo e têm, provavelmente a função de atrair o polinizador (BITTRICH & AMARAL, 1996). Em representantes de *Tovomita* Aubl., o óleo fragrante é produzido nos filetes de estames (flores estaminadas) e estaminódios (flores pistiladas) e coletado por machos de abelhas do gênero *Euglossa* Latreille 1802 (NOGUEIRA *et al.*, 1998).

SILVA (2005) evidenciou canais com conteúdo resinífero nas sépalas e nos nectários das flores de *G. brasiliensis*. BITTRICH & AMARAL (1996) sugerem que a presença de óleos e resinas nas flores das Clusiaceae pode estar relacionada à ocorrência de laticíferos ou canais resiníferos nos diversos tecidos, tão comuns em representantes do grupo, de modo que substâncias presentes no látex ou no conteúdo dos canais apareçam também nas secreções florais. GUSTAFSSON *et al.* (2002) ressaltam a presença de resina floral no androceu de representantes da tribo *Clusieae* Choisy e de “fluídos oleaginosos” nas anteras de algumas Clusiaceae. Tais substâncias teriam como função alterar a consistência da resina floral (quando ocorrentes na mesma flor) ou ainda, sendo fragrantes, atuariam como atrativo ou recompensa para abelhas visitantes.

A reprodução assexual por meio de sementes, caracterizada pela formação de embrião diretamente de células do tecido materno, sem a fertilização da oosfera (gameta feminino) pela célula espermática (gameta masculino), é chamada de apomixia ou agamospermia e tem como resultado uma progênie uniforme, geneticamente idêntica à planta mãe (RICHARDS, 1986; KOUTUNOW, 1993). De acordo com RICHARDS (1990), a ocorrência de embriões apomíticos é comprovada, ou pelo menos sugerida, para dez espécies

de *Garcinia*, sendo a maioria apomítica pseudógama (dependente da polinização e da fecundação dos núcleos polares pelo gameta masculino, para a formação do endosperma). Experimentos para testar a formação de sementes por apomixia em *Garcinia brasiliensis*, a partir de flores ensacadas e, portanto, não visitadas, demonstraram que ocorre o desenvolvimento inicial de frutos que, no entanto, abortam antes da maturidade (SILVA, 2005). Tal resultado sugere a hipótese de que estes frutos podem conter embriões apomíticos que, no entanto, dependem da polinização para o desenvolvimento do endosperma. Estudos anatômicos poderão reunir evidências sobre a ocorrência de apomixia na espécie.

O presente trabalho tem como objetivo, através da análise da anatomia e ontogênese floral e da estrutura de frutos jovens, testar as seguintes hipóteses:

- A natureza da secreção dos canais existentes nas flores é resinífera.
- O tecido nectarífero das flores se origina a partir do androceu.
- A meiose masculina ocorre e o material degradado presente na antera é proveniente da degeneração de grãos de pólen.
- A substância oleosa presente nos lóculos das anteras é produzida pelo tapete.
- Há evidências estruturais de ocorrência de apomixia em *Garcinia brasiliensis*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Botões florais, flores e frutos jovens, provenientes de indivíduos naturais de restinga, no município de Maricá, foram coletados em vários estádios de desenvolvimento, mensurados quanto à largura e agrupados em classes de tamanho. A referida restinga está situada no litoral fluminense, a aproximadamente 60 km a leste do centro da cidade do Rio de Janeiro, entre as latitudes S22°56'15" a S22°58'12" (Fig. 1A-C).

As exsicatas correspondentes ao material coletado foram depositadas no Herbário do Museu Nacional (R) (Tabela 1).

Tabela 1: Indivíduos de *Garcinia brasiliensis* estudados e informações de Voucher.

Indivíduo	Morfo	Coletor e voucher	Data da coleta	Posição geográfica
G 01	♀	D. O. Leal 008 (R)	10 / IX / 2009	S22°57'785" / W42°53'671"
G 07	♀	D. O. Leal 007 (R)	10 / IX / 2009	S22°57'794" / W42°53'690"
G 08	♂	D. O. Leal 009 (R)	04 / V / 2010	S22°57'886" / W42°53'687"
G 09	[♀♂]	D. O. Leal 005 (R)	10 / IX / 2009	S22°57'957" / W42°53'760"
G 11	♀	D. O. Leal 003 (R)	03 / IX / 2009	S22°57'951" / W42°53'665"
G 19	♂	D. O. Leal 004 (R)	17 / IX / 2009	S22°57'962" / W42°53'771"
G 21	♂	D. O. Leal 006 (R)	03 / IX / 2009	S22°57'886" / W42°53'684"
G 22	♂	D. O. Leal 010 (R)	04 / V / 2010	S22°57'891" / W42°53'688"
G 23	♂	D. O. Leal 011 (R)	04 / V / 2010	S22°57'778" / W42°53'677"

Para permitir análise anatômica mais eficiente, os verticilos protetores foram destacados do receptáculo floral e processados separadamente. As amostras foram fixadas em solução de formaldeído 4% + glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,05 M, pH 7,2 (GAHAN, 1984), submetidas à baixa pressão, desidratadas em série etílica, emblocadas em Histoiresin[®] (Leica) e seccionadas com navalha de vidro, em micrótomo rotativo, modelos Spencer 820 (American Optical Co) e RM2255 (Leica). Secções seriadas de 1-3 µm de espessura foram coradas com Azul de Toluidina O 0,05% (FEDER & O'BRIEN, 1968).

Para o estudo da vascularização floral foi empregada a técnica de diafanização (FOSTER, 1949) em flores previamente seccionadas longitudinalmente.

Para detectar as principais classes de metabólitos nas células, secções de material emblocado e fresco, obtidas em micrótomo rotativo e de Ranvier respectivamente, foram

tratadas com: (a) Sudan III e IV, para compostos de natureza lipofílica (JENSEN, 1962), (b) Lugol, para amido (LANGERON, 1949), (c) solução de sulfato ferroso e formalina, para compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940), (d) Reagente de Fehling, para açúcares (MACLEAN & IVEMEY-COOK, 1952), (e) Vermelho de Rutênio, para substâncias pécnicas (LANGERON, 1949), (f) ácido periódico / reagente de Schiff (PAS) para polissacarídeos neutros (TABOGA & VILAMAIOR, 2001; AMARAL *et al.*, 2001) (g) acetato de cobre 7%, para resina (JOHANSEN, 1940) e (h) ácido acético e ácido clorídrico para a determinação da natureza química dos cristais através de testes de solubilidade diferencial (MACLEAN & IVEMEY-COOK, 1952).

Para observação de calose, secções foram coradas com Azul de Anilina (0,1%) em K_2HPO_4 , 0,15 M (MARTIN, 1959), mantidas sob refrigeração por um período de 2 horas e observadas sob luz UV, em microscópio de fluorescência Olympus BX-51.

Para a contagem do número de flores por inflorescência, foram utilizadas 57 inflorescências de plantas masculinas e 52 inflorescências de plantas femininas, em período de início de floração.

Para o estudo sobre a ocorrência de apomixia na espécie, 106 botões florais em estágio de pré-antese, distribuídos entre os indivíduos G01, G07 e G11 foram ensacados utilizando-se sacos de algodão fino, a fim de evitar visitas às flores. Ovários que apresentaram desenvolvimento inicial de sementes a partir de flores pistiladas não fertilizadas foram avaliados anatomicamente, para investigar a presença de embriões apomíticos ou de características outras que evidenciassem apomixia. Paralelamente, frutos originados de flores expostas aos agentes polinizadores também foram coletados em diversos estádios de desenvolvimento e fixados, a fim de constituírem um padrão de comparação.

As observações, fotografias e respectivas mensurações foram realizadas em microscópio Olympus BX-51 com sistema de captura composto por câmera Q color 5 e software Image-Pro Express. As imagens foram editadas no software Adobe® Photoshop® 7.0 e as pranchas montadas utilizando o Corel DRAW® 12.

Para o estudo da micromorfologia, inflorescências, botões florais e flores fixadas de ambos os morfos foram desidratadas em série etílica, levadas ao ponto crítico de CO_2 em equipamento Leica EM CPD030, presas a suporte de alumínio recoberto por fita dupla face de carbono e metalizadas com ouro em aparelho Denton Vacuum - Desk IV (SILVEIRA, 1998). Para as observações e a documentação do material utilizou-se microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM - 6390LV, do Departamento de Vertebrados, Museu Nacional.

3. RESULTADOS

Os indivíduos que compõem a população de *Garcinia brasiliensis* na restinga de Maricá possuem hábito subarbustivo (Fig. 3A), arbustivo (Fig. 2A) ou arbóreo, com altura variando de um a seis metros.

3.1 - Descrição morfológica dos tipos florais:

Garcinia brasiliensis, espécie dióica críptica, apresenta flores estaminadas e pistiladas, ocorrendo em diferentes indivíduos. As inflorescências são cimosas, com as flores dispostas em fascículos axilares emitidos a partir de nós caulinares (Fig. 2B,C,D; 3B,C,D). Na fase inicial de desenvolvimento, os botões florais estão envoltos por bractéola cupuliforme, espessa, que se rompe de forma irregular com o crescimento, sendo persistente. Localizados entre a bractéola e as tépalas estão presentes numerosos coléteres.

As flores estaminadas (15 a 17 mm) (Fig. 2F) são menores do que as pistiladas (21 a 23 mm) (Fig. 3E). A cada evento de floração, as plantas masculinas (559 flores/52 inflorescências) produzem cinco vezes mais flores por inflorescência que as femininas (121 flores/57 inflorescências) (Fig. 2D, 3D).

Tanto as flores estaminadas quanto as pistiladas são pediceladas, actinomorfas e homoclamídeas. Apresentam quatro (flores estaminadas) a seis (flores pistiladas) tépalas livres, alviverdes, largamente ovadas ou orbiculares, por vezes côncavas, de margens involutas e consistência membranácea.

Nas flores pistiladas as duas tépalas mais externas assemelham-se à bractéola sendo mais espessas e verdes; as mais internas mostram-se mais delgadas, alviverdes e, logo após a antese, passam a se apresentar reflexas e com as margens acastanhadas. Anatomicamente, bractéola e tépalas são muito semelhantes, diferindo basicamente pela espessura da cutícula: tanto mais delgada quanto mais interno o apêndice.

Ambos os morfos florais possuem nectário, estrutura de coloração amarelada na antese e ferruginosa, na fase pós antese. Nas flores estaminadas, o nectário tem formato globoso e ocupa posição central (Fig. 2E). Nas flores pistiladas, se apresenta em forma de anel hipógino (Fig. 3G).

Os dois tipos florais apresentam androceu com estames numerosos e livres, localizados entre as tépalas e o nectário. Nas flores estaminadas, o androceu é formado por

cerca de 40 estames (fig. 2G) e nas flores pistiladas, por cerca de 30 estaminódios (Fig. 3E-G). Ambos os tipos florais têm os filetes alargados na região basal e as anteras bitecas, tetrasporangiadas, dorsifixas e/ou basifixas e rimosas.

Nas flores pistiladas, o gineceu é constituído por ovário súpero, trilocular, uniovulado por lóculo. Os óvulos são anátropos, bitegmios e tenuinucelados. A placentação é axial. O estigma é séssil, geralmente trifido, papiloso e úmido.

3.1.1 - Bractéola:

A bractéola envolve o botão, se rompe durante o desenvolvimento da flor (Fig. 4A,A',I) e é persistente (Fig. 4B). Em estádios iniciais de desenvolvimento apresenta, em ambas as faces, epiderme uniestratificada, glabra, formada por células de contorno irregular (Fig. 4C). Na face abaxial notam-se estômatos (Fig. 4E) e uma cutícula espessa formando extensas flanges (Fig. 4D). Na face adaxial as células epidérmicas são menores e a cutícula menos espessa em relação àquelas da face abaxial. O mesofilo é composto por 10 a 12 estratos de células parenquimáticas com paredes espessadas de natureza pecto-celulósica e grandes vacúolos (Fig. 4 D, G). Nota-se, nesta região, a presença de drusas de oxalato de cálcio (Fig. 4G) e canais em diferentes fases de secreção (Fig. 4C,F). O sistema vascular já se encontra diferenciado (Fig. 4H).

3.1.2 - Coléteres:

Coléteres foram observados protegendo as gemas vegetativas axilares (Fig. 5D) e entre a bractéola e as tépalas nos botões florais (Fig. 5A,B) e flores, sendo persistentes (Fig. 5C). São filiformes ou triangulares, por vezes com ápice laciniado e margens crenadas, multicelulares, de origem protodérmica e não vascularizados. Em secção longitudinal, apresentam de dois a quatro estratos celulares, cujas células são retangulares, alongadas no sentido periclinal, de disposição compacta, paredes delgadas, núcleos conspícuos, citoplasma denso e grandes vacúolos (Fig. 5E,F). A presença de mucilagem composta por polissacarídeos ácidos e neutros foi evidenciada através das reações com Vermelho de Rutênio e PAS, respectivamente. O número de estratos celulares decresce em direção à porção distal desta estrutura (Fig. 5G).

3.1.3 - Cavidades e canais e secretores:

Cavidades e canais secretores, presentes em todas as estruturas florais, com exceção dos estames e estaminódios, têm início a partir de uma célula de meristema fundamental que se diferencia das demais pelo citoplasma denso, núcleo conspícuo e vacuola reduzida. Esta sofre sucessivas divisões no sentido anticlinal resultando em um grupo de células de disposição radial (Fig. 6A-D). Tais células se expandem e se afastam, delimitando um espaço interno a elas, o lume (Fig. 6E-H, 7C), caracterizando o processo esquizógeno. Ao final do processo, pode-se evidenciar o epitélio secretor formado por um estrato celular, cujas células apresentam paredes delgadas, citoplasma denso, núcleo evidente e pequenos vacúolos (Fig. 6H). Em secção longitudinal, as células do epitélio mostram-se alongadas e de contorno retangular (Fig. 7A). No estágio pós-secretor, as células do epitélio apresentam contorno irregular e se encontram vacuoladas (Fig. 7B). Durante o desenvolvimento dessas estruturas, pode haver a fusão de dois ou mais canais através da lise de células de canais vizinhos, na região de contato entre eles. Neste caso, o canal resultante é formado por um processo esquisolizígeno (Fig. 7D-F).

Os canais secretores das flores orientam-se em diferentes direções (Fig. 7G), e apresentam desenvolvimento assincrônico (Fig. 7H).

A substância presente no lume das cavidades e canais é mista, sendo composta por resina e polissacarídeos ácidos e neutros.

3.2 - Desenvolvimento floral:

3.2.1 - Perianto:

Um decréscimo gradual e centrípeto na espessura do mesofilo e da cutícula observado nas tépalas (Fig. 8A) é consequência da diminuição do tamanho das células e espessura de suas paredes, sendo especialmente evidenciado nas flores pistiladas.

As tépalas, no início do desenvolvimento, apresentam epiderme uniestratificada, glabra, formada por células isodiamétricas de disposição compacta, com cutícula delgada em ambas as faces. O mesofilo é formado por 10 a 12 estratos parenquimáticos onde se evidencia a presença de compostos fenólicos. Voltados para a face adaxial estão presentes canais secretores dispostos em série e, para a face abaxial, inúmeros cristais do tipo drusa (Fig. 8B).

Na região mediana, observam-se feixes vasculares de pequeno calibre. Na maturidade, as tépalas, na região mediana, passam a apresentar de 16 a 18 estratos de células parenquimáticas com grandes espaços intercelulares (Fig. 8C). As paredes de tais células são impregnadas por polissacarídeos ácidos. As células da epiderme na face abaxial apresentam contorno retangular e dimensões maiores que aquelas das células epidérmicas da face adaxial. Ainda na face abaxial, são notados estômatos (Fig. 8D). Os feixes vasculares estão completamente diferenciados (Fig. 8E). Ao longo de todo o mesofilo, são observados canais resiníferos em diferentes fases secretoras, mostrando o lume preenchido por secreção (Fig. 8B,F,G). O número de camadas no mesofilo vai diminuindo em direção ao bordo, onde somente epiderme está presente (Fig. 8H).

3.2.2 - Androceu:

3.2.2.1 - O androceu, a microsporogênese e a microgametogênese nas flores estaminadas:

Em botões de até 1,0 mm, ainda envoltos pela bractéola, o androceu apresenta diferentes estádios de desenvolvimento.

Os primórdios dos estames são pequenas protuberâncias de tecido meristemático, ocasionalmente revestidas por protoderme (Fig. 9A). No início da diferenciação (Fig. 9B), os filetes já apresentam epiderme uniestratificada com acentuado depósito de compostos fenólicos, 7-9 estratos de parênquima e elementos de procâmbio em diferenciação, localizados centralmente.

O filete possui epiderme com células alongadas e de contorno quadrangular, 7 a 10 estratos de parênquima regular e um feixe central. Compostos fenólicos e amido são observados nas células epidérmicas e parenquimáticas (Fig. 9C,D).

As anteras apresentam epiderme uniestratificada, com as células portando compostos fenólicos e alongadas no sentido periclinal, circundando 6 a 8 estratos de parênquima fundamental. Idioblastos drusíferos estão presentes na região que corresponderá ao conectivo (Fig. 9E).

A diferenciação das camadas que formam a parede da antera, bem como a microsporogênese, ocorre no androceu de botões com tamanhos entre 1,0 e 3,0 mm. Neste intervalo podem ser encontrados botões com anteras cujas lojas apresentam (1) epiderme, três

estratos parietais indiferenciados e tecido esporogênico (Fig. 9E), (2) epiderme, dois estratos parietais indiferenciados, tapete do tipo secretor e tecido esporogênico (Fig. 9F), (3) epiderme, dois estratos parietais indiferenciados, estrato celular colapsado, provavelmente correspondente ao tapete, e microsporócitos (Fig. 9G). Os microsporócitos possuem parede de calose evidente, citoplasma denso e núcleo proeminente (Fig. 9 G,H). A camada correspondente ao endotécio ainda não está diferenciada. O conectivo é parenquimático, apresenta idioblastos drusíferos e de conteúdo fenólico, e um feixe vascular central, com alguns elementos de xilema já diferenciados (Fig. 9E). O tapete apresenta tendência ao crescimento intrusivo (Fig. 10C). Podem ser observadas, na mesma teca, uma loja com tapete degradado e outra com tapete íntegro (Fig. 9H).

A deposição da parede de calose ocorre simultaneamente (Fig. 10A, A' e A'') e ao final do processo meiótico, originarão tétrades tetraédricas (Fig. 10B)

Nos botões acima de 3,0 mm, a parede da antera é formada por epiderme, endotécio diferenciado com células apresentando espessamento em barra (Fig. 10D) e tapete com células binucleadas e vacuoladas (Fig. 10E). Os micrósporos encontram-se livres, com citoplasma denso, onde estão presentes grãos de amido e núcleo conspícuo (Fig. 10E, F). Inicia-se a microgametogênese e os grãos de pólen serão liberados bicelularizados (Fig. 10G).

Quando os botões atingem 4,0 mm, o tapete está completamente degradado (Fig. 10H). Micrósporos hipertrofiados, com citoplasma pouco denso, grandes vacúolos e acúmulo de grãos de amido foram observados ocorrendo juntamente com micrósporos normais ou com micrósporos já degenerados, em uma mesma loja (Fig. 10,F; 11A,B).

A microsporogênese nas flores estaminadas pode ser assincrônica nas lojas de uma mesma antera (Fig. 11C).

Nas anteras de botões de 6,0 mm nota-se o início da comunicação entre as lojas, ocorre a degeneração de células do tabique (Fig. 11D) e, na antese, as células epidérmicas passam a se apresentar frouxamente dispostas (Fig. 11G). Ocorre a ruptura do tabique e do estômio. A deiscência é longitudinal (Fig. 11E,F,G).

Os grãos de pólen, desde a fase de micrósporos livres, estão imersos em um fluido lipofílico (Fig. 11H). Nota-se, porém a diminuição desse fluido durante a maturação floral, chegando à completa escassez no momento da deiscência.

3.2.2.2 - O androceu e a microsporogênese nas flores pistiladas:

Em botões de até 1,0 mm, ainda envoltos pela bractéola, o androceu apresenta estames com filetes e anteras em início de diferenciação. O filete, em secção transversal, exibe epiderme uniestratificada com células alongadas, de contorno retangular, com vacúolos e ricas em compostos fenólicos. O mesofilo é formado por 3 a 5 estratos de parênquima regular e um feixe procambial central (Fig. 12A). Nas anteras, nota-se a presença de epiderme uniestratificada bem diferenciada, com células de contorno arredondado e portando compostos fenólicos, circundando 7 a 8 estratos de parênquima (Fig. 12B). Na região correspondente ao conectivo, as células parenquimáticas apresentam-se vacuoladas e elementos de procâmbio estão em diferenciação (Fig. 12C,D).

Em botões de 2,0 mm, a parede das anteras apresenta epiderme e dois a três estratos parenquimáticos envolvendo o tecido arquesporial (Fig. 12E).

Em botões de 3,0 mm, a parede das anteras apresenta epiderme, dois estratos indiferenciados, tapete e tecido esporogênico. Os microsporócitos, com citoplasma bastante denso e pequenos vacúolos, iniciam a deposição da parede de calose (Fig. 12F).

A microsporogênese é observada em botões de 4,0 mm. É simultânea e origina tétrades tetraédricas (Fig. 12G,H). Em botões que apresentam entre 4,0 e 5,0 mm, foi observada a separação dos micrósporos (Fig. 13A). O tapete secretor mostra células binucleadas e com citoplasma denso (Fig. 13A).

Nas anteras de botões de 5,0 mm, os micrósporos se encontram livres, apresentando citoplasma denso e núcleo centralizado (Fig. 13B). Ao redor dos micrósporos e próximos às células do tapete secretor são observados corpúsculos de Ubisch. O processo de vacuolação das células do tapete é evidente, bem como a presença de fluido lipofílico no interior da loja.

A diferenciação do endotécio se dá quando os botões atingem aproximadamente 6,0 mm (Fig. 13C). Nesta fase, as células da epiderme apresentam grandes vacúolos, as do endotécio possuem espessamento em barra, as das demais camadas e do tapete estão colapsadas. Simultaneamente, os micrósporos mostram sinais de degeneração: tornam-se hipertrofiados, com grande quantidade de vacúolos e de grãos de amido no citoplasma (Fig. 13D). Nas lojas verifica-se a presença de uma massa amorfa, provavelmente proveniente da combinação do fluido lipofílico com o produto da desintegração do tapete e dos micrósporos (Fig. 13E). Os diferentes estádios do processo de degeneração dos micrósporos podem ocorrer simultaneamente em lojas diferentes de uma mesma antera (Fig. 13F).

Na antese, nota-se a degeneração de células do tabique e o rompimento do estômio (Fig. 13G,H).

3.2.3 - Gineceu:

O gineceu é sincárpico. O ovário é súpero, globular, tricarpelar e trilocular (Fig. 14A). O estigma é séssil, trifido (Fig. 14A) e papiloso. Os três carpelos apresentam as porções basais unidas congenitamente e os ápices livres. Em botões de até 1,0 mm, nota-se um eixo composto por cerca de sete camadas de células de parênquima fundamental e epiderme, que parte da base da câmara delimitada pelos carpelos (Fig. 14B,C). A região estigmática ainda não está totalmente diferenciada e as porções distais dos carpelos, ainda separadas, se mantêm meristemáticas (Fig. 14B, 16B).

O septo ovariano é formado pela união das margens das folhas carpelares com o eixo originado do meristema apical que também origina placentas axiais e delas, os primórdios dos óvulos (Fig. 14D,E). Nesse estágio, os lóculos ovarianos estão completamente delimitados. Na região mediana do ovário observa-se um único óvulo por lóculo (Fig. 14F,G) e a região de fusão das folhas carpelares (Fig. 14F). Cavidades e canais secretores são observados em toda a extensão da parede do ovário (Fig. 14H). O estigma está totalmente diferenciado (Fig. 16C), com superfície formada por células alongadas justapostas - as papilas, responsáveis por volumosa secreção (Fig. 17A,B). Em vista frontal, observa-se as fendas estigmáticas, formadas pela justaposição das porções distais das folhas carpelares (Fig. 16D) e em secção longitudinal, o canal estilar, que se estende até o lóculo ovariano (Fig. 16E).

Em botões florais com aproximadamente 3,0 mm observas-se os tegumentos dos óvulos em desenvolvimento (Fig. 14I). Nesta fase, o nucelo está exposto e a micrópila ainda não está formada. O tegumento externo ultrapassa o interno e apresenta epiderme e 4 - 5 camadas de células parenquimáticas. O tegumento interno possui epiderme e dois estratos parenquimáticos. As células de ambos os tegumentos apresentam citoplasma denso, núcleo muito evidente e vacúolos (Fig. 15A,B).

Quando os botões atingem aproximadamente 3,5 mm, os óvulos são anátropos e tenuinucelados, com o megasporócito já diferenciado (Fig. 15B). O tegumento interno atinge a altura do nucelo enquanto o externo o ultrapassa. Na maturidade, ambos os tegumentos formarão a micrópila.

Em botões de 4,0 a 5,0 mm, ocorre a megasporogênese que é simultânea e produz diádes (Fig. 15C,E) e tétrades em T (Fig. 15D,F).

Observa-se a intensa atividade do epitélio estigmático (Fig. 17C), formado por células papilosas alongadas no sentido anticlinal, cujo lume é preenchido por mucilagem, composta por polissacarídeos ácidos e neutros (Fig. 16F,G; 17D). Tal secreção também está presente no canal estilar, entre as células do tecido transmissor e nos lóculos ovarianos (Fig. 17F-H). A porção parenquimática do estigma mostra-se vascularizada (Fig. 16H) e com cavidades resiníferas (Fig. 17E). O tecido transmissor atravessa toda a área estigmática e se dirige para cada um dos três lóculos (Fig. 17H).

Nos botões de 6,0 mm, observa-se que o saco embrionário maduro ocupa praticamente toda a área anteriormente ocupada pelo nucelo (Fig. 15G). O aparato fibrilar é evidente nas sinérgides (Fig. 15I), a oosfera apresenta grande quantidade de grãos de amido ao redor do núcleo conspicuo e centralizado (Fig. 15H), e um grande vacúolo está presente na célula média (Fig. 15H,I). As antípodas não foram observadas.

3.2.4 - Nectário:

3.2.4.1 - O nectário nas flores estaminadas:

O nectário tem formato globoso e ocupa posição central na flor. É formado por epiderme uniestratificada e parênquima regular. Apresenta estômatos, canais resiníferos e feixes vasculares.

Nos botões de até 1,0 mm, o nectário corresponde a uma protuberância central, composta por 7 a 8 camadas de parênquima, onde são observadas divisões periclinais, anticlinais e oblíquas (Fig. 18A,B). As células da protoderme apresentam compostos fenólicos. Durante o desenvolvimento, seu crescimento dá-se de forma intrusiva, envolvendo os filetes dos estames próximos (Fig. 18C). Na flor madura, ocupa toda a região central do receptáculo (Fig. 18L).

A cutícula delgada recobre a epiderme composta por células quadrangulares que, em secção longitudinal, se mostram polarizada, com o núcleo ocupando o pólo distal e um grande vacúolo, o proximal. Inúmeros estômatos (Fig. 18D,E) estão presentes e geralmente abertos. A observação dos estômatos em microscopia eletrônica de varredura mostrou que se

apresentam recobertos por secreção também evidenciada preenchendo as câmaras subestomáticas nas secções longitudinais a esta estrutura.

Cerca de 20 estratos de células de parênquima seguem-se à epiderme. Tais células possuem contorno variável, tendendo ao circular, paredes delgadas, citoplasma denso e grande vacúolo, sendo portadoras de polissacarídeos ácidos e neutros e de compostos fenólicos. A reação positiva para açúcar foi observada em células da epiderme e do parênquima. A presença destas substâncias acentua-se na região distal do órgão e nas células estomáticas. Dispersos por todo o nectário nota-se canais secretores (Fig. 18G), grãos de amido (Fig. 18F), idioblastos drusíferos (Fig. 18H) e feixes vasculares constituídos por xilema e floema (Fig. 18J,K). Há acúmulo de secreção nos espaços entre as células parenquimáticas.

O néctar é liberado através dos estômatos. Foi observada também a presença de espaços subcuticulares (Fig. 18I), responsáveis pelo acúmulo e posterior liberação da secreção.

3.2.4.2 - O nectário nas flores pistiladas:

O nectário diferencia-se a partir da porção proximal dos carpelos (Fig. 19A,B). Com o desenvolvimento, configura um disco localizado na porção basal do ovário (Fig. 19G,H).

Assim como nas flores estaminadas, nas pistiladas o nectário possui epiderme uniestratificada (Fig. 19D) e parênquima regular, além de apresentar estômatos (Fig. 19C), idioblastos drusíferos (Fig. 19D), grãos de amido (Fig. 19D), canais resiníferos (Fig. 19E), e feixes vasculares (Fig. 19F), com características anatômicas bastante semelhantes.

A reação positiva para açúcar foi observada no nectário acima descrito (epiderme e células do parênquima), bem como na epiderme e camadas subepidérmicas do ovário e no estigma.

3.3 - Vascularização das flores:

No pedicelo de ambas as flores, os feixes vasculares estão dispostos em anel delimitando a medula parenquimática (Fig. 20A,E,F).

Nas flores pistiladas, estes feixes percorrem toda a flor, até a região estigmática. No receptáculo e na região do nectário, o anel se torna interrompido e se observa a saída de traços vasculares para os verticilos protetores e estaminódios (Fig. 20B). Mais acima, novas

ramificações originam os traços carpelares. Estrangulamentos, com diminuição no diâmetro do anel vascular interrompido, são notados no nectário e no ápice do ovário (Fig. 20A). Na região mediana do ovário, os feixes vasculares acompanham os lóculos, contornando-os e observa-se a saída de pequenos feixes dirigindo-se para o septo. No ápice do ovário, individualizam-se três feixes de maior calibre que se dirigem para cada uma das divisões do estigma e delimitam o tecido transmissor (Fig. 20C,D).

Nas flores estaminadas o anel de feixes percorre a flor até a região do nectário (Fig. 20E,G,H). Nas proximidades do receptáculo, observa-se a saída dos traços que vão para os verticilos protetores e estames (Fig. 20H).

3.4 - Variações no sistema sexual de indivíduos na população estudada:

Dois indivíduos da população estudada exibiram flores pistiladas e estaminadas simultaneamente (G09 e G11), caracterizando um “estado monóico” para estes indivíduos. O indivíduo G09 apresentou mais flores estaminadas do que pistiladas (Fig. 21A). As anteras destas últimas não apresentaram diferenças estruturais na epiderme, no endotécio (Fig. 21B), ou no mecanismo de deiscência (Fig. 21C), quando comparadas às flores pistiladas observadas nos indivíduos dióicos. No entanto, os grãos de pólen liberados apresentaram características normais, inclusive alta viabilidade (Fig. 21D). Tais resultados sugerem que estas flores, muito provavelmente são bissexuais. O indivíduo G11, predominantemente feminino, emitiu algumas flores estaminadas (Fig. 21E), assim chamadas por apresentarem androceu aparentemente normal, nectário globoso e central e ausência de gineceu. No entanto, o estudo anatômico destas flores revelou anteras com grãos de pólen hipertrofiados, com citoplasma muito denso e grande quantidade de grãos de amido, tendendo a degeneração (Fig. 21F,G,H). Tais características são semelhantes àsquelas observadas nas anteras das flores pistiladas dos indivíduos dióicos. Tais resultados sugerem que essas flores, muito provavelmente são estéreis.

3.5 - Experimento de verificação da apomixia:

Nos quatro indivíduos testados verificou-se, em 90% das flores ensacadas, crescimento inicial do ovário, acompanhado de senescência do estigma, nectário, estaminódios e tépalas. Alguns destes ovários sofreram abscisão precoce e os demais foram

periodicamente coletados para análise anatômica ao longo de dois meses, quando se encerraram as observações. Assim, não foi possível determinar se estes frutos atingiriam a maturidade.

Os óvulos mostraram saco embrionário senescente, com sinérgides e oosfera em processo de degeneração: colapsadas e com citoplasma pouco denso (Fig. 22A-C). Frequentemente observou-se um dos núcleos polares (Fig. 22D).

Flores não ensacadas também apresentaram desenvolvimento inicial do ovário. Nestas, observou-se evidência de fusão de um dos gametas masculinos com os núcleos polares, originando o endosperma (Fig. 22E,F). Em apenas um óvulo verificou-se a presença de um embrião no estágio globular (Fig. 22G,H). Em seção longitudinal o embrião propriamente dito era formado pelo domínio apical com duas células de citoplasma pouco denso e núcleos conspícuos. O domínio basal, ao contrário, correspondia a uma única célula. Em todas elas o vacuoma era bastante desenvolvido (Fig. 22H). As células que formavam o suspensor encontravam-se em degeneração.

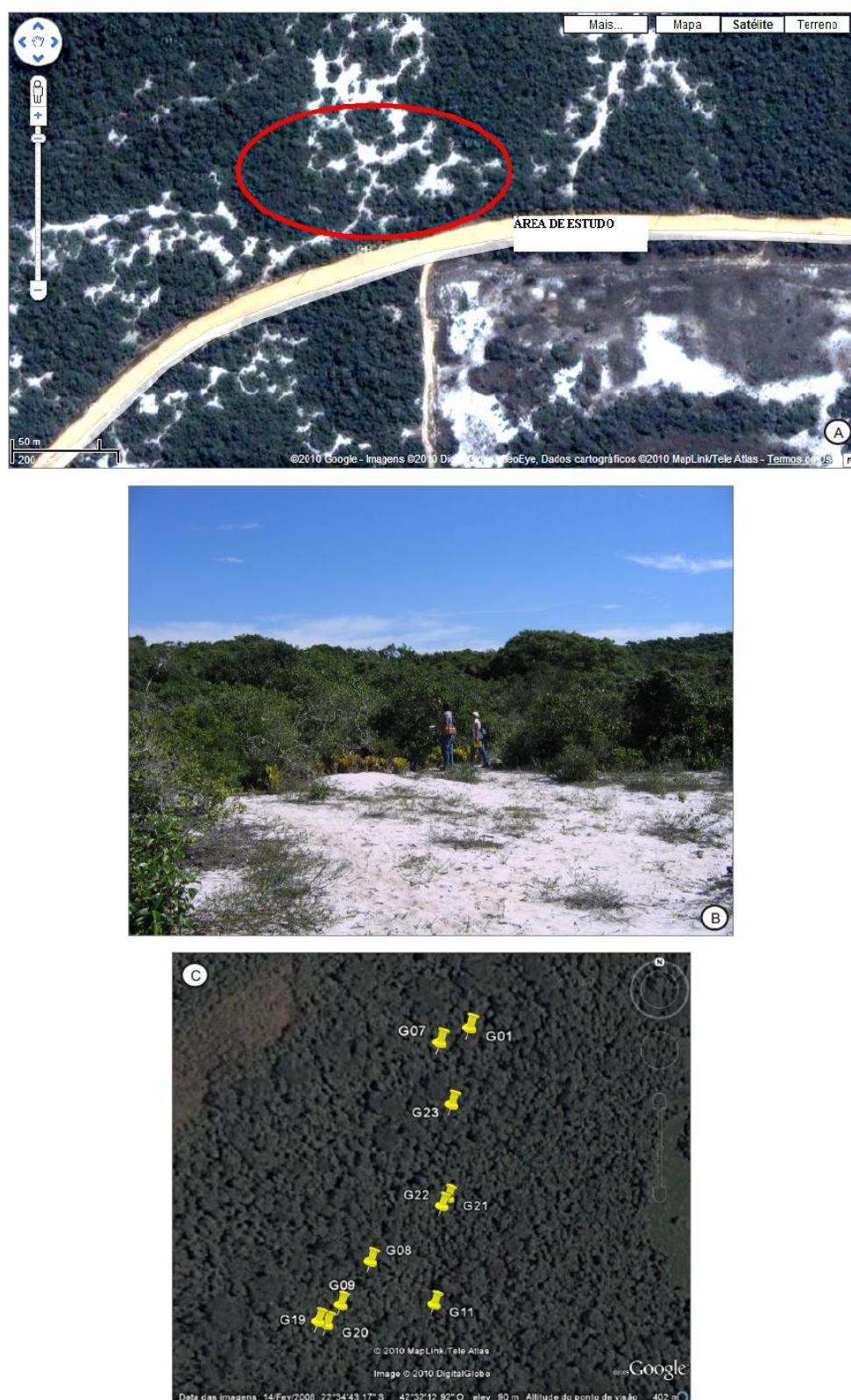


Figura 1: Localização da área de estudo. A - detalhe da área de estudo (fonte: <http://maps.google.com>) ; B - Área de Proteção Ambiental (APA - Maricá) ; C - vista geral da área, com os pontos de coleta (fonte: Google Earth software).



Figura 2: Habitus, inflorescência e flores de planta masculina de *Garcinia brasiliensis*. A - habitus; B - vista frontal da inflorescência em estágio inicial de desenvolvimento (MEV); C - botões florais; D - detalhe da inflorescência cimosa em vista lateral; E - vista frontal da flor (MEV); F - flor em vista lateral; G - detalhe do androceu e do nectário (seta).



Figura 3: Habitus, inflorescência e flores de planta feminina de *Garcinia brasiliensis*. A - habitus; B - vista frontal da inflorescência em estágio inicial de desenvolvimento (MEV); C - botões florais; D - detalhe da inflorescência em vista lateral; E - flor em vista lateral; F - detalhe do androceu (estaminódios) (1), nectário (2), ovário (3) e estigma (4); G - detalhe do androceu (estaminódios) (1) e do nectário (2).

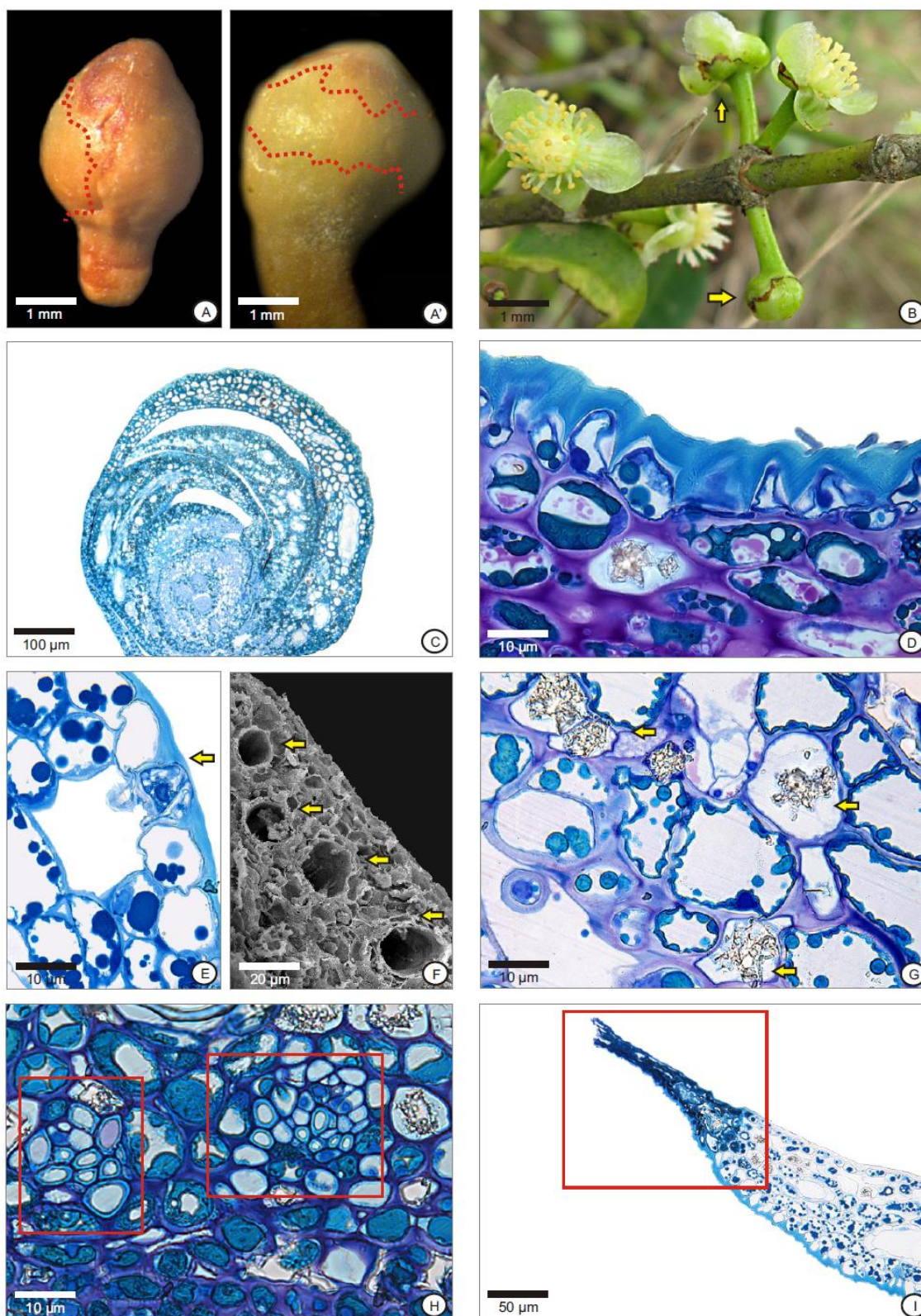


Figura 4: Bractéola. A,A' - detalhe do rompimento (destaque) no botão floral em vista lateral: A - botão estaminado, A' - botão pistilado; B - detalhe em botão e flor pistilado; C - vista geral em secção transversal; D - detalhe da cutícula, formando as flanges; E - detalhe de estômato (seta); F - canais secretores (setas), em secção transversal (MEV); G - detalhe de idioblastos drusíferos (setas); H - vascularização (destaque); I - detalhe da região de ruptura (destaque).

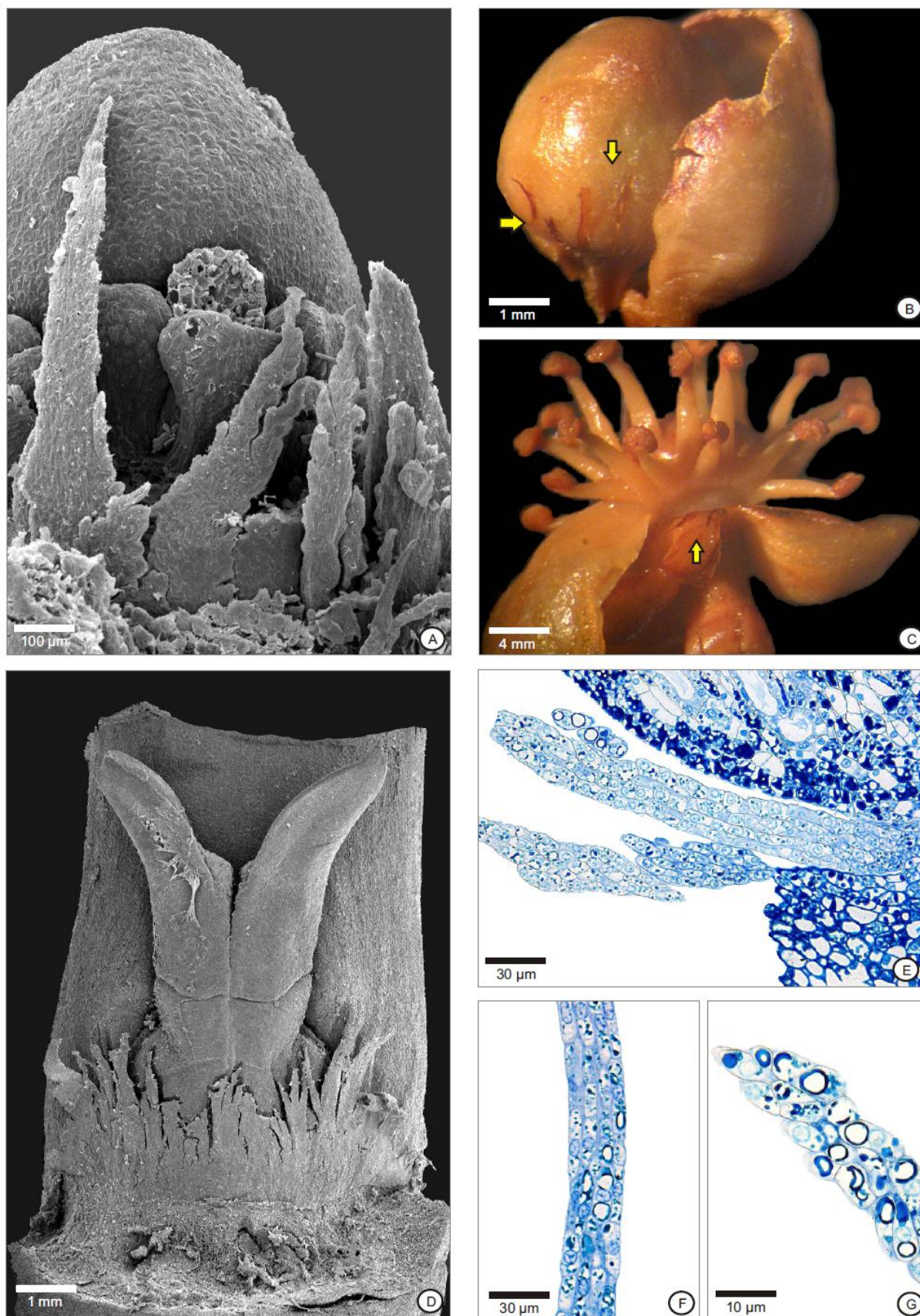


Figura 5: Coléteres. A - em vista lateral, adjacente ao botão floral pistilado (MEV); B - em vista lateral, adjacente ao botão floral estaminado (setas); C - adjacentes à bractéola da flor estaminada (seta); D - adjacentes a gema vegetativa (MEV); E - região proximal, em secção longitudinal; F - região mediana, em secção longitudinal; G - região distal, em secção longitudinal.

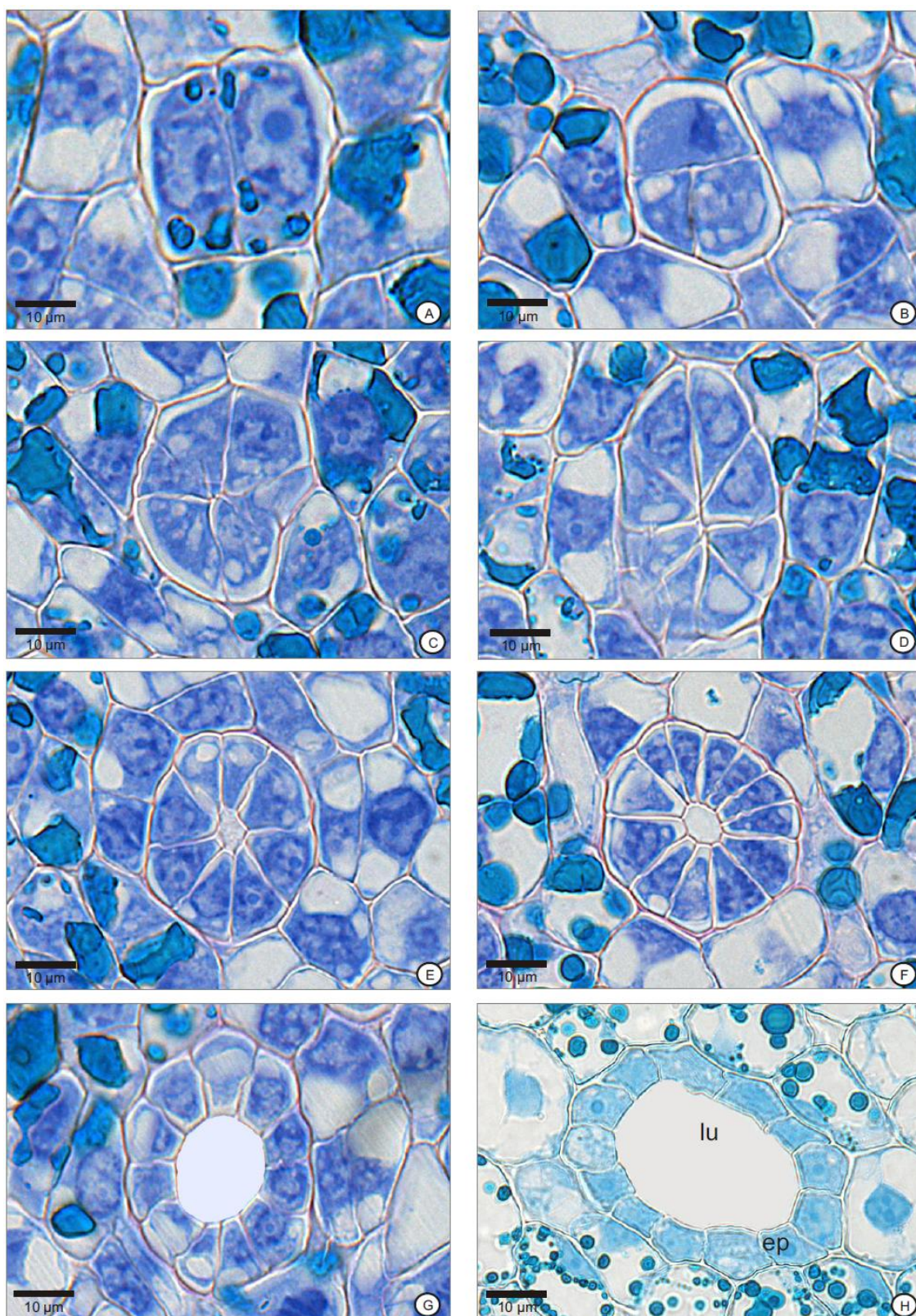


Figura 6: Canais secretores. A,B - início da diferenciação das células secretoras; C,D - sucessivas divisões anticlinais, formando o epitélio; E-G - afastamento progressivo das células que compõe o epitélio para formar o lume; H - canal totalmente expandido em fase secretora. lu - lume; ep - epitélio.

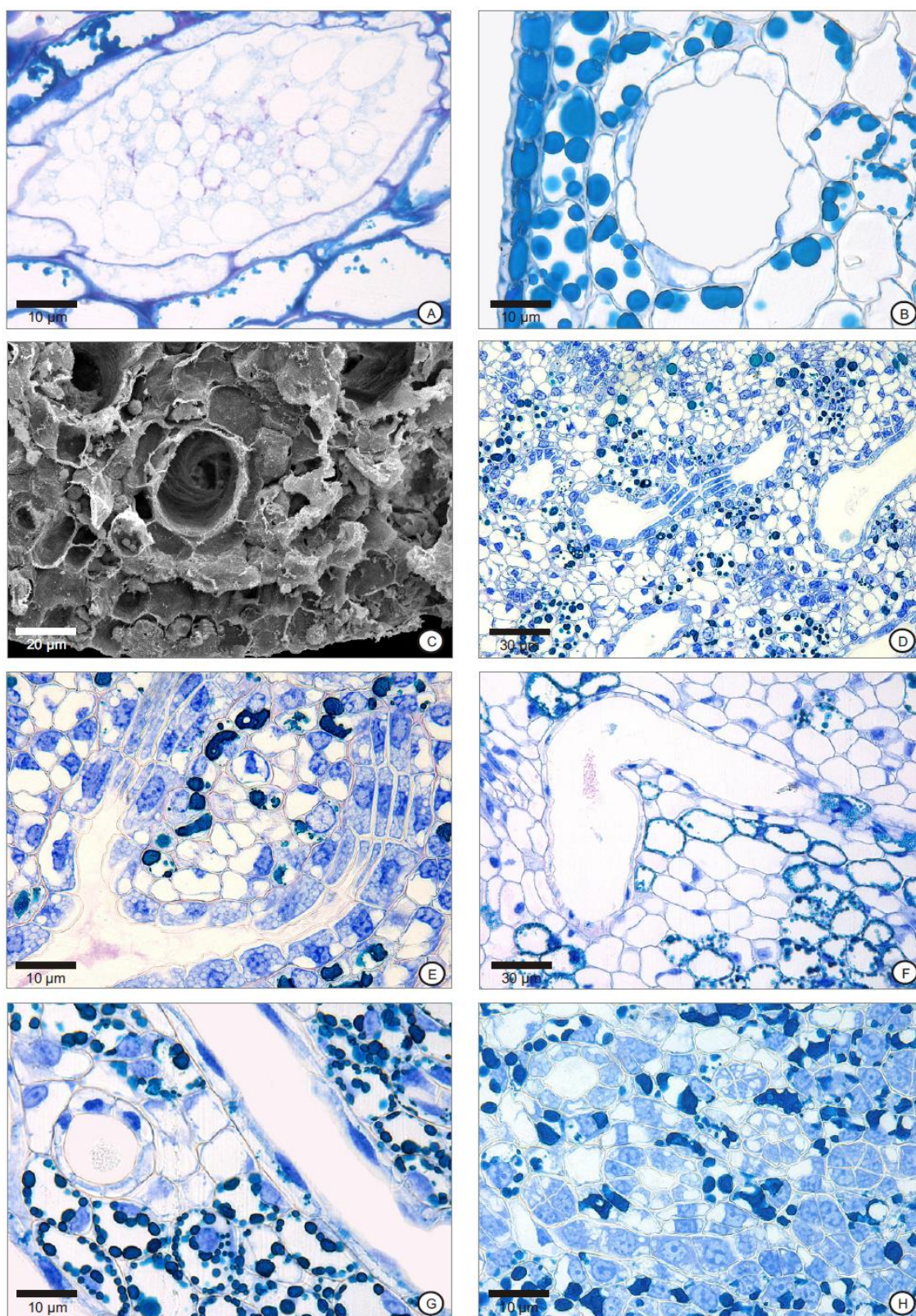


Figura 7: Canais secretores. A - fase secretora, com lume preenchido por secreção; B - fase pós secretora; C - secção transversal (MEV); D-F - secção longitudinal, evidenciando fusão de canais; G - secção longitudinal ao nectário, evidenciando a orientação dos canais em diferentes direções; H - em secção transversal ao ovário, evidenciando o desenvolvimento assincrônico.

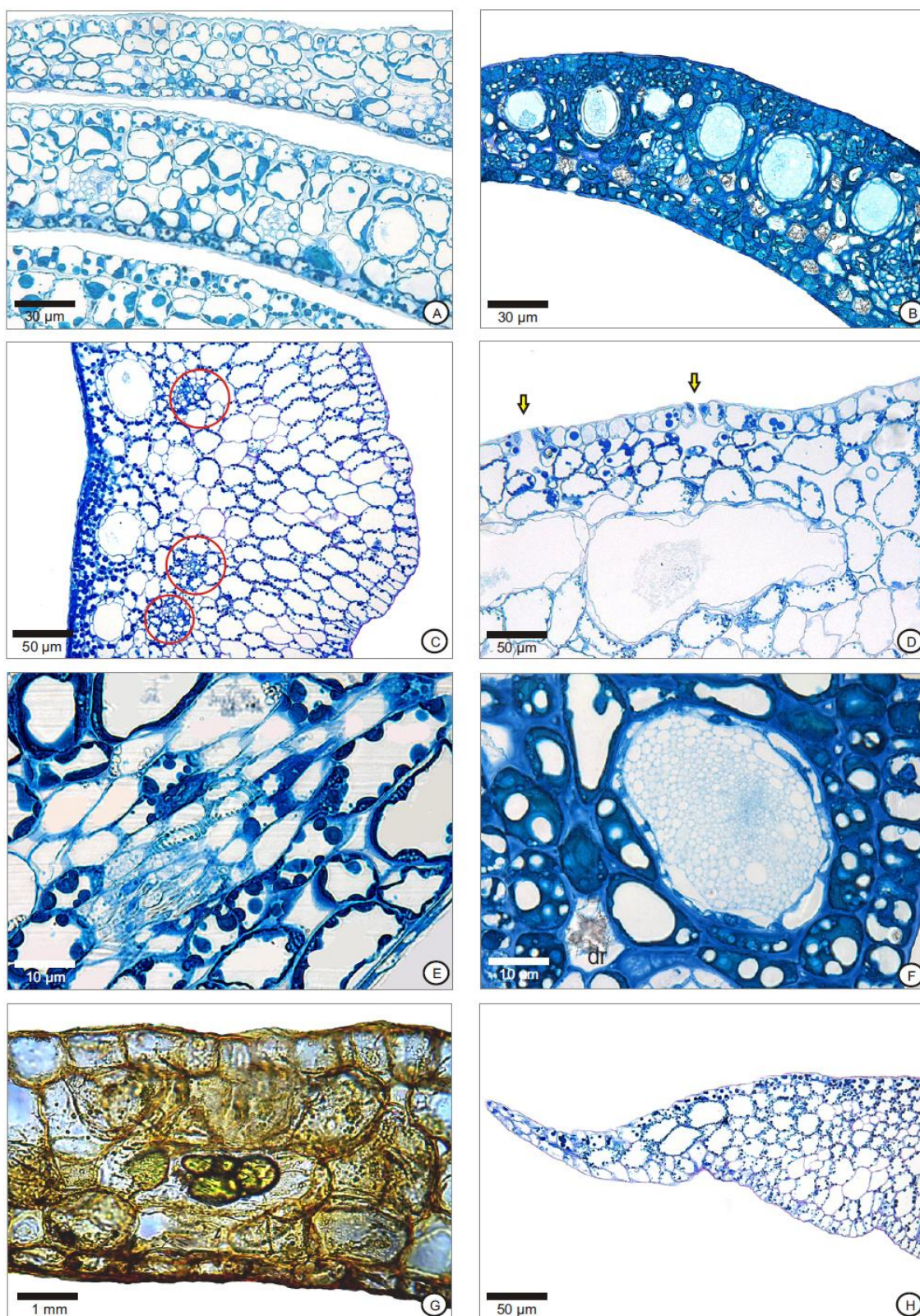


Figura 8: Tépal. A - em secção transversal; B - secção transversal (botão de 1,0 mm); C - secção transversal na região mediana (botão de 3,0 mm), evidenciando os feixes vasculares (destaque); D - detalhe dos estômatos (setas) em secção transversal, na face abaxial; E - detalhe de feixe vascular, em secção oblíqua; F - detalhe do canal em fase secretora e drusa (dr) em secção transversal; G - detalhe do conteúdo de um canal em tépal submetida ao teste com acetato de cobre 7%; H - bordo.

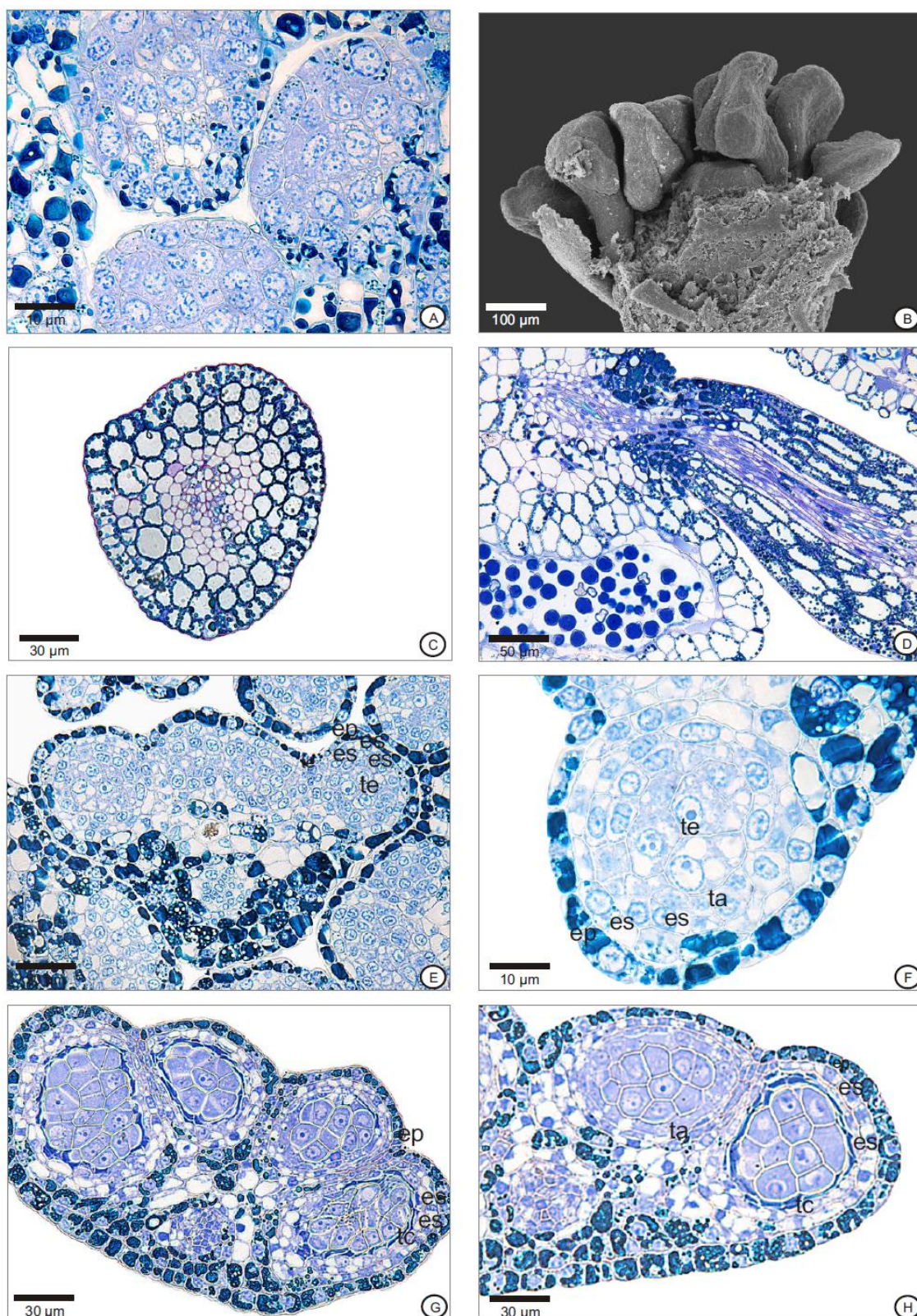


Figura 9: Androceu de flores estaminadas. A - primórdio de estames, em secção transversal (botão de 1,0 mm); B - estames em estágio inicial de desenvolvimento, em vista lateral (MEV); C,D - filete, em secção transversal e longitudinal, respectivamente; D - estames em estágio inicial de desenvolvimento, em vista lateral (MEV); E-H - diferentes fases de diferenciação da antera em secção transversal; G,H - detalhe dos microsporócitos e do tapete colapsado. ep - epiderme, es - estrato parietal, ta - tapete, te - tecido esporogênico, tc - estrato parietal colapsado, cmm - microsporócito.

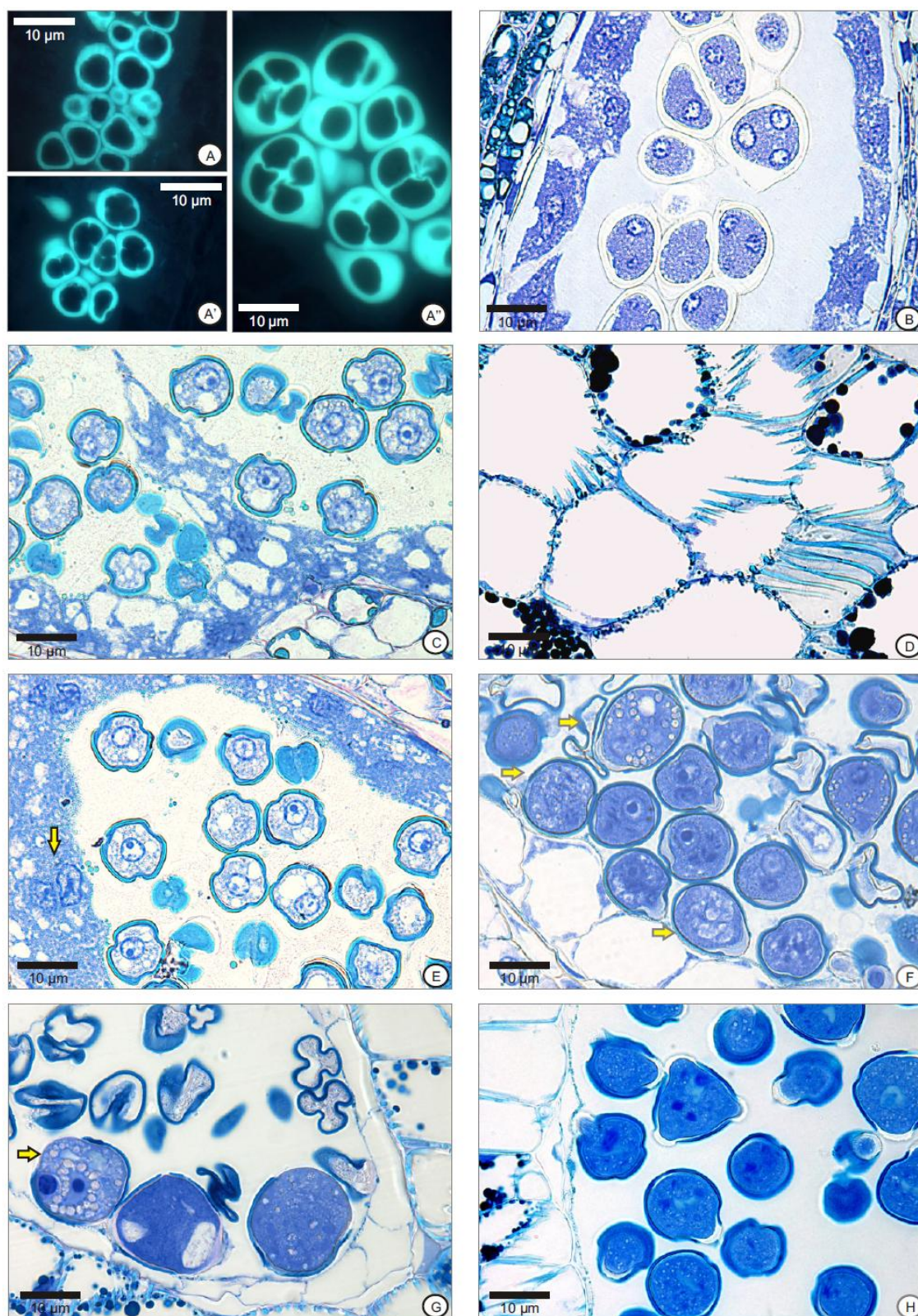


Figura 10: Androceu de flores estaminadas. A-A'' - tétrades envoltas por calose; B - antera, em secção longitudinal, mostrando tétrades (botão de 2,0 mm); C - detalhe do tapete intrusivo; D - detalhe do espessamento em barra do endotécio; E - botão de 3,0 mm: secção transversal de antera, evidenciando os micrósporos livres e tapete vacuolado e binucleado (seta); F-H - lojas com grãos de pólen livres, detalhe de grãos de pólen em processo degenerativo (setas em F) e do microgametófito (seta em G).

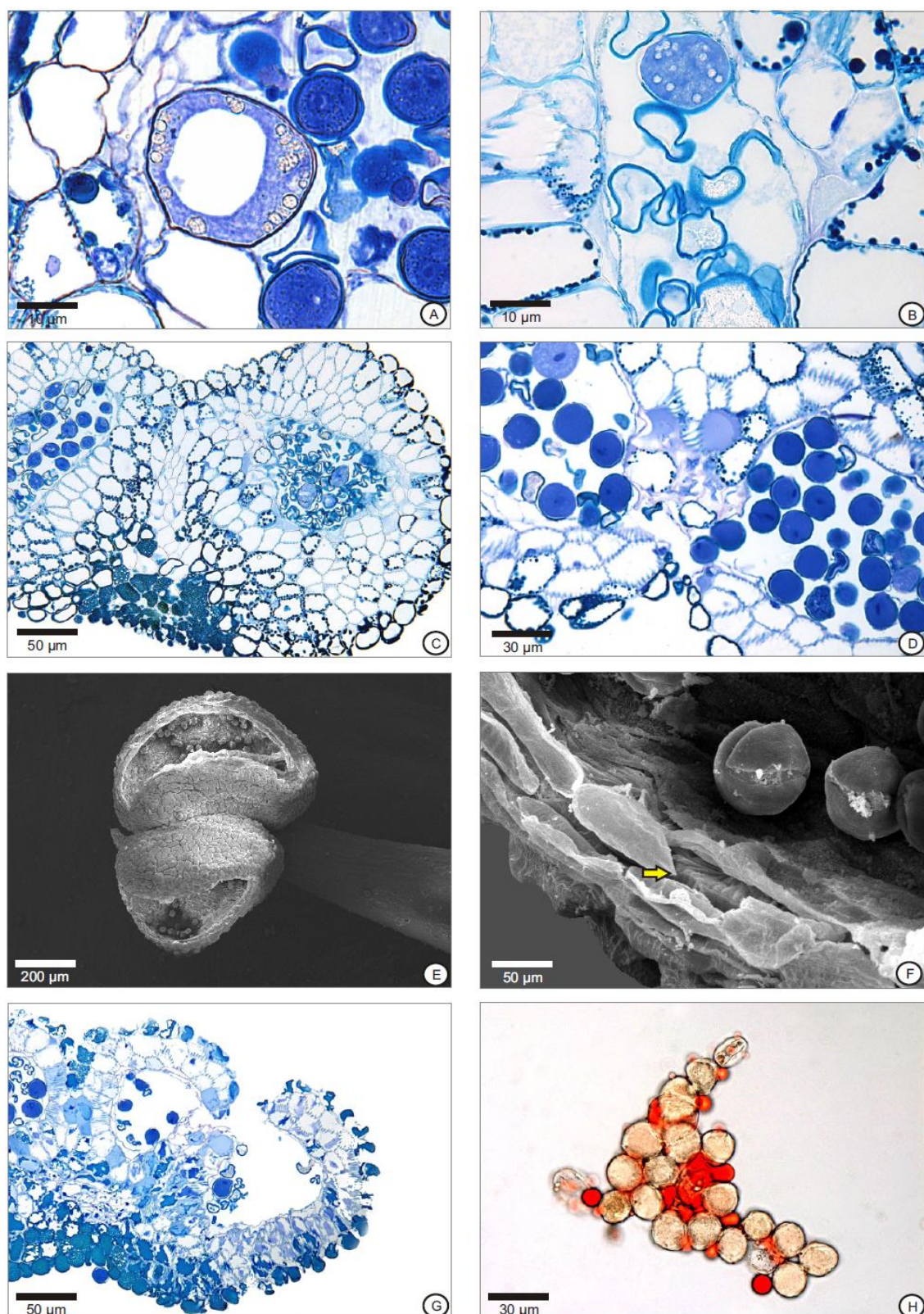


Figura 11: Androceu de flores estaminadas. A,B - detalhe de lojas apresentando grãos de pólen em degeneração e degenerados; C - antera, em secção transversal com uma loja com micrósporos viáveis e outra com micrósporos degenerados; D - detalhe da degeneração das células do tabique; E - vista ventral de antera deiscente (MEV); F - detalhe do espessamento do endotécio (MEV) (seta); G - antera, em secção transversal, evidenciando degeneração das células do tabique e ruptura do estômio; H - detalhe de grãos de pólen submetidos ao teste com Sudan IV.

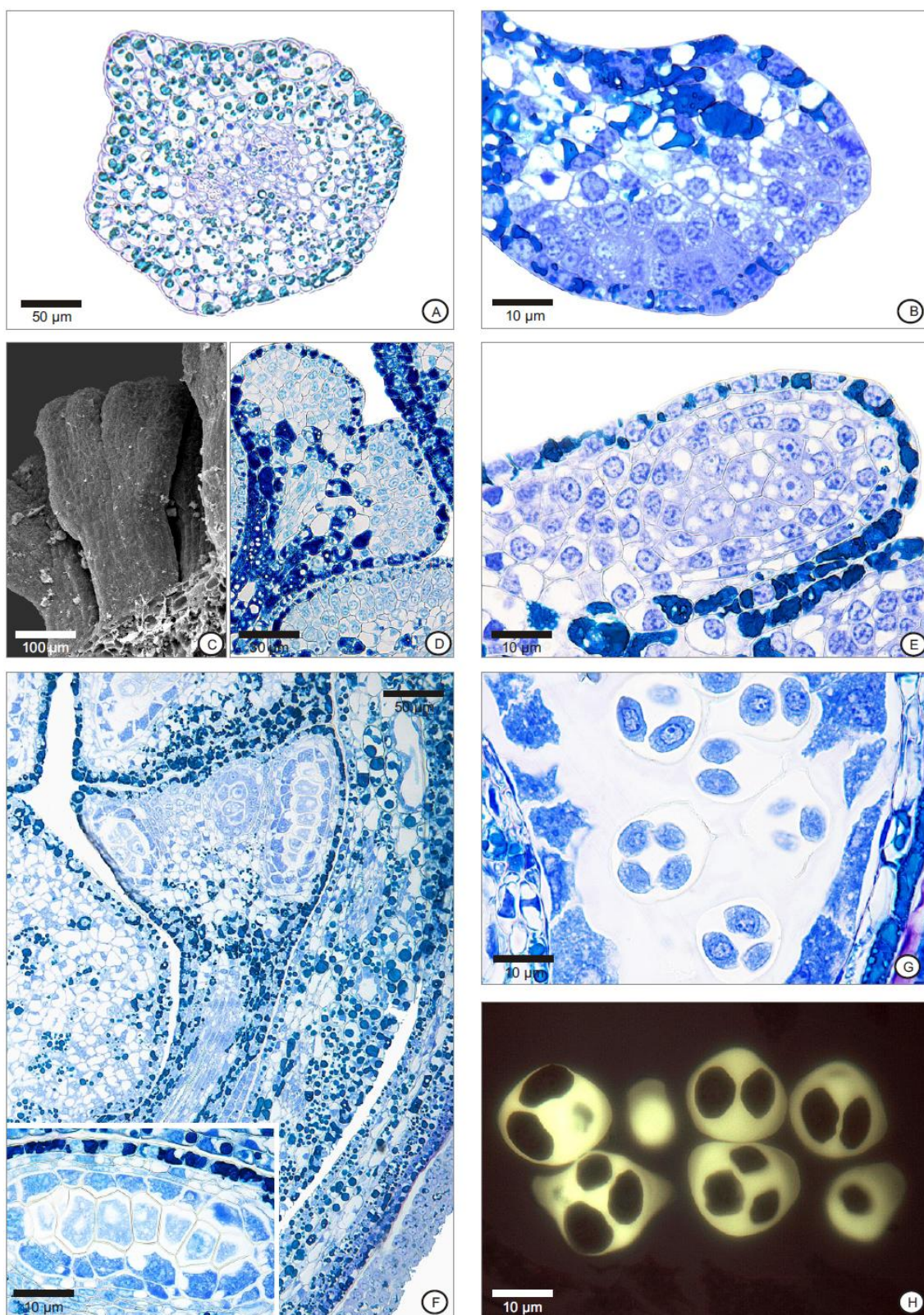


Figura 12: Androceu de flores pistiladas. A - filete, em secção transversal ; B - secção longitudinal do estaminódio (botão de 1,0 mm); C, D - estaminódios em início de desenvolvimento: C - em vista lateral (MEV), D - em secção longitudinal, E - loja de antera, em secção longitudinal, evidenciando estrato parietais (botão de 2,0 mm); F - estaminódio em secção longitudinal, evidenciando os microsporócitos (detalhe), em botão de 3,0 mm; G - antera, em secção longitudinal, mostrando tétrades (botão de 4,0 mm); H - tétrades envoltas por calose.

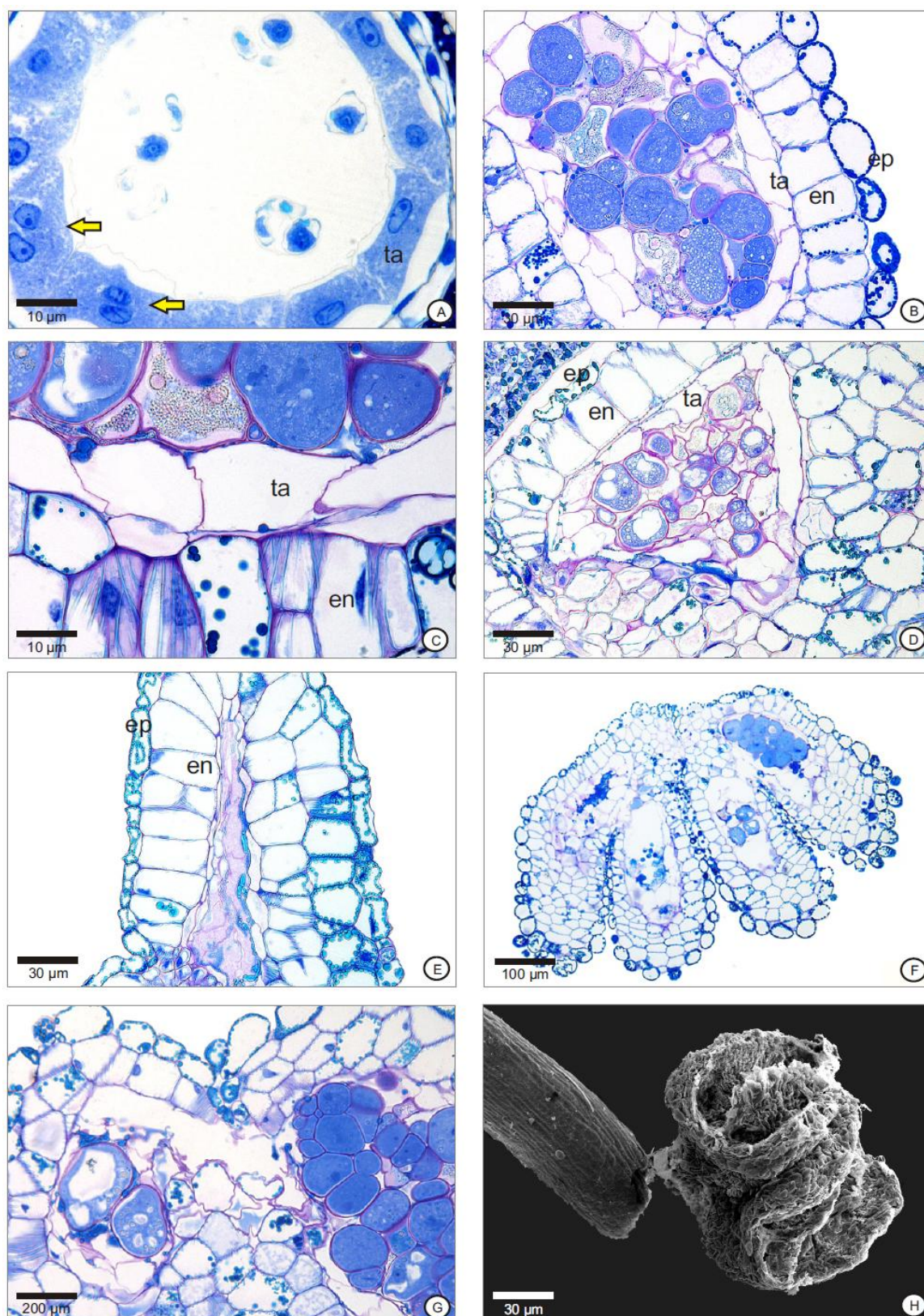


Figura 13: Androceu de flores pistiladas. A - secção transversal de antera, mostrando separação dos micrósporos e tapete binucleado (setas) (botão de 4,0 mm); B,C - secções longitudinais de anteras, evidenciando micrósporos com citoplasma denso, pequenos vacúolos e grãos de amido e tapete em degeneração (botão de 7,0 mm); D - secção transversal de antera, mostrando processo de degeneração dos micrósporos; E - flor: secção longitudinal da antera, mostrando uma massa amorfa preenchendo a loja (flor); F - antera, em secção transversal, mostrando diferentes estádios da degeneração dos micrósporos nas diferentes lojas; G - antera em secção transversal, evidenciando a ruptura do tabique; H - antera deiscente, em vista latero-ventral (MEV).

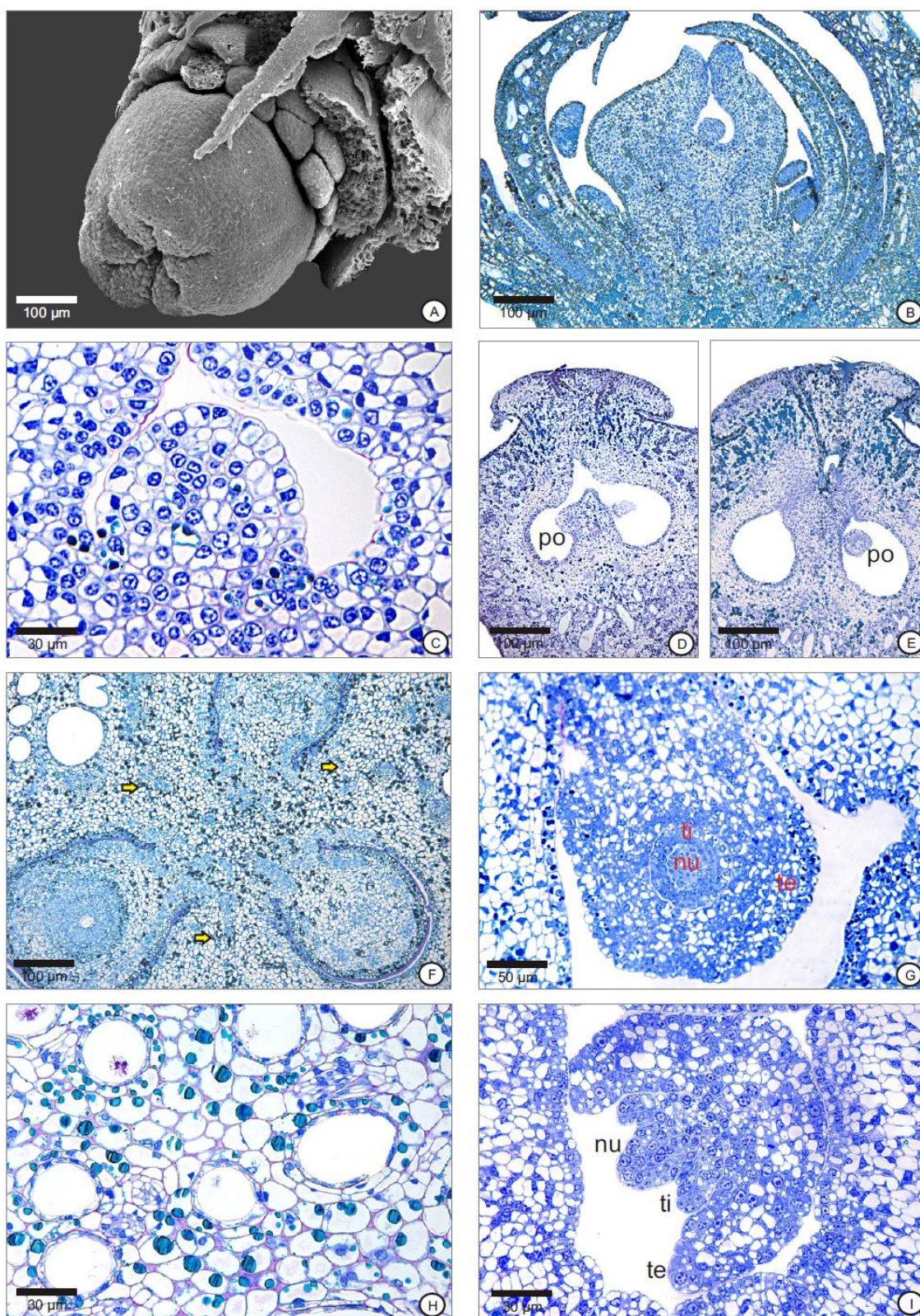


Figura 14: Ovário e óvulo. A - botão de 1,0 mm, sem os verticilos protetores (MEV); B - botão de 1,0 mm em secção longitudinal; C - detalhe do eixo central, em secção longitudinal; D - botão de 2,0 mm em secção oblíqua; E - botão de 2,5 mm em secção oblíqua; F - detalhe do ovário em secção transversal evidenciando as regiões de sutura dos carpelos (setas); G - óvulo em secção transversal (botão de 4,0 mm); H - parede do ovário, em secção transversal, evidenciando os canais secretores; I - detalhe do óvulo. ti - tegumento interno, te - tegumento externo, nu - nucelo, po - primórdio de óvulo.

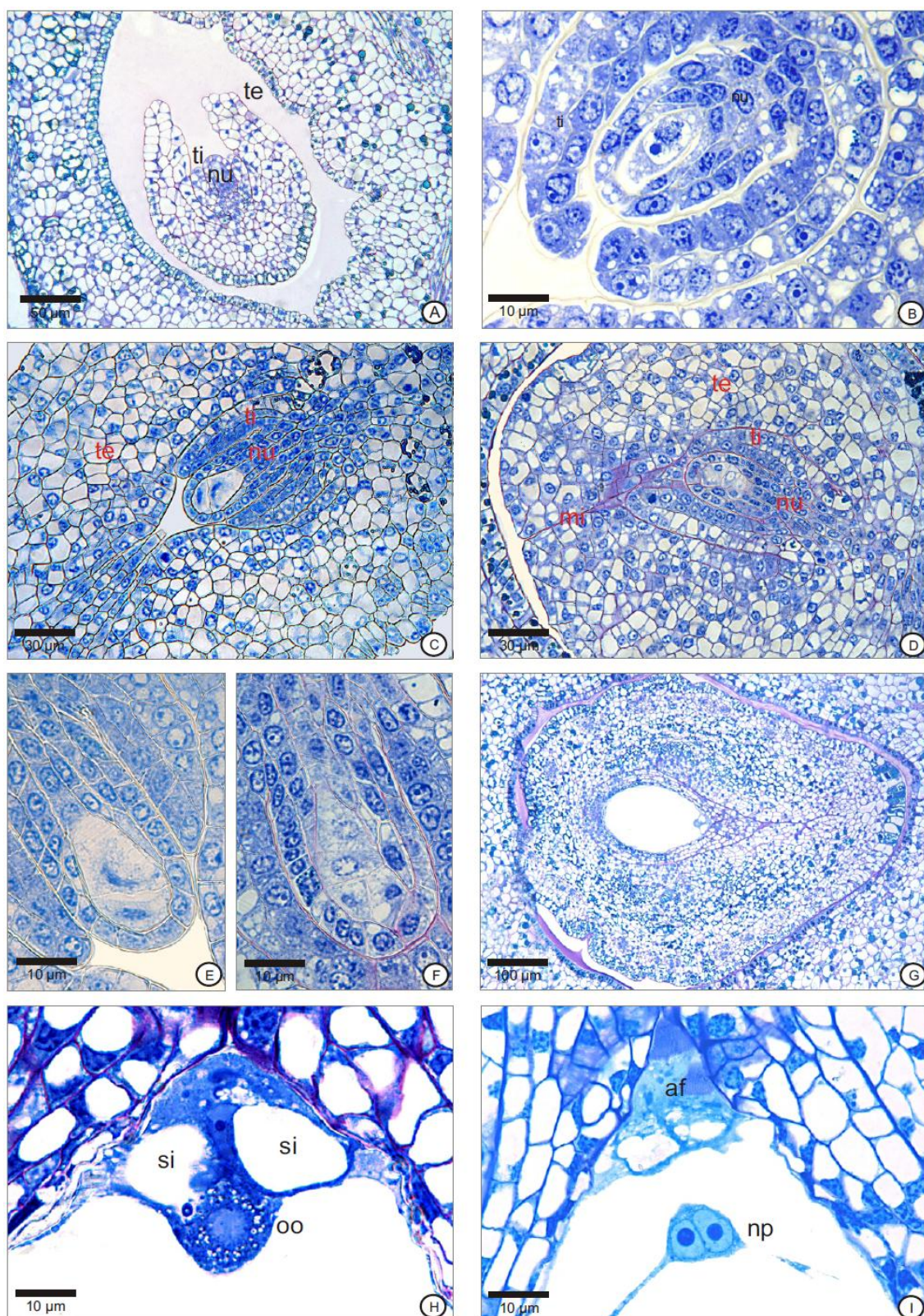


Figura 15: Ovário e óvulo. A - óvulo em secção longitudinal, evidenciando o desenvolvimento dos tegumentos (botão de 4,0 mm); B - óvulo em secção longitudinal, evidenciando o megasporócito (botão de 3,5 mm); C - óvulo em secção longitudinal, evidenciando a díade (botão de 5,0 mm); D - óvulo em secção longitudinal, evidenciando a tétrade (botão de 4,0 mm), E,F- detalhe de díade e tétrade, respectivamente; G - óvulo em secção longitudinal evidenciando o saco embrionário (botão de 7,0 mm); H - óvulo em secção longitudinal mostrando as sinérgides (si) e a oosfera (oo) (flor); I - óvulo em secção longitudinal, evidenciando aparato fibrilar (af) e os núcleos polares (np) (flor). ti - tegumento interno, te - tegumento externo, nu - nucelo, mi - micrópila.

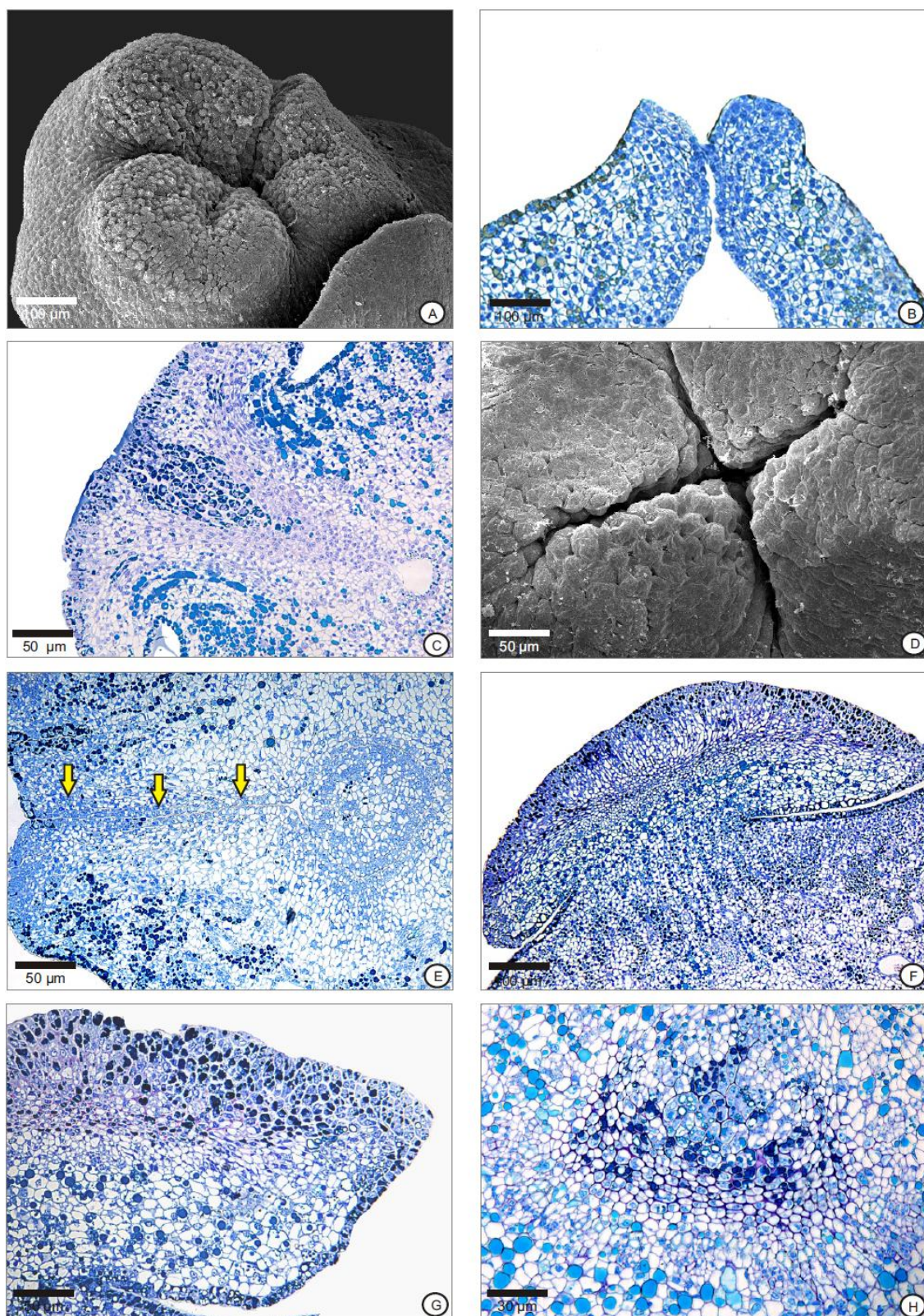


Figura 16: Estigma. A - detalhe da região estigmática em estágio inicial de desenvolvimento (MEV); B - secção longitudinal (botão de 1,0 mm); C - secção longitudinal (botão de 2,0 mm); D - detalhe da fenda estigmática em vista frontal (MEV); E - secção longitudinal, evidenciando o canal estilar (setas); F - secção longitudinal (botão de 4,0 mm); G - secção longitudinal (botão de 5,0 mm); H - detalhe da vascularização, em secção transversal.

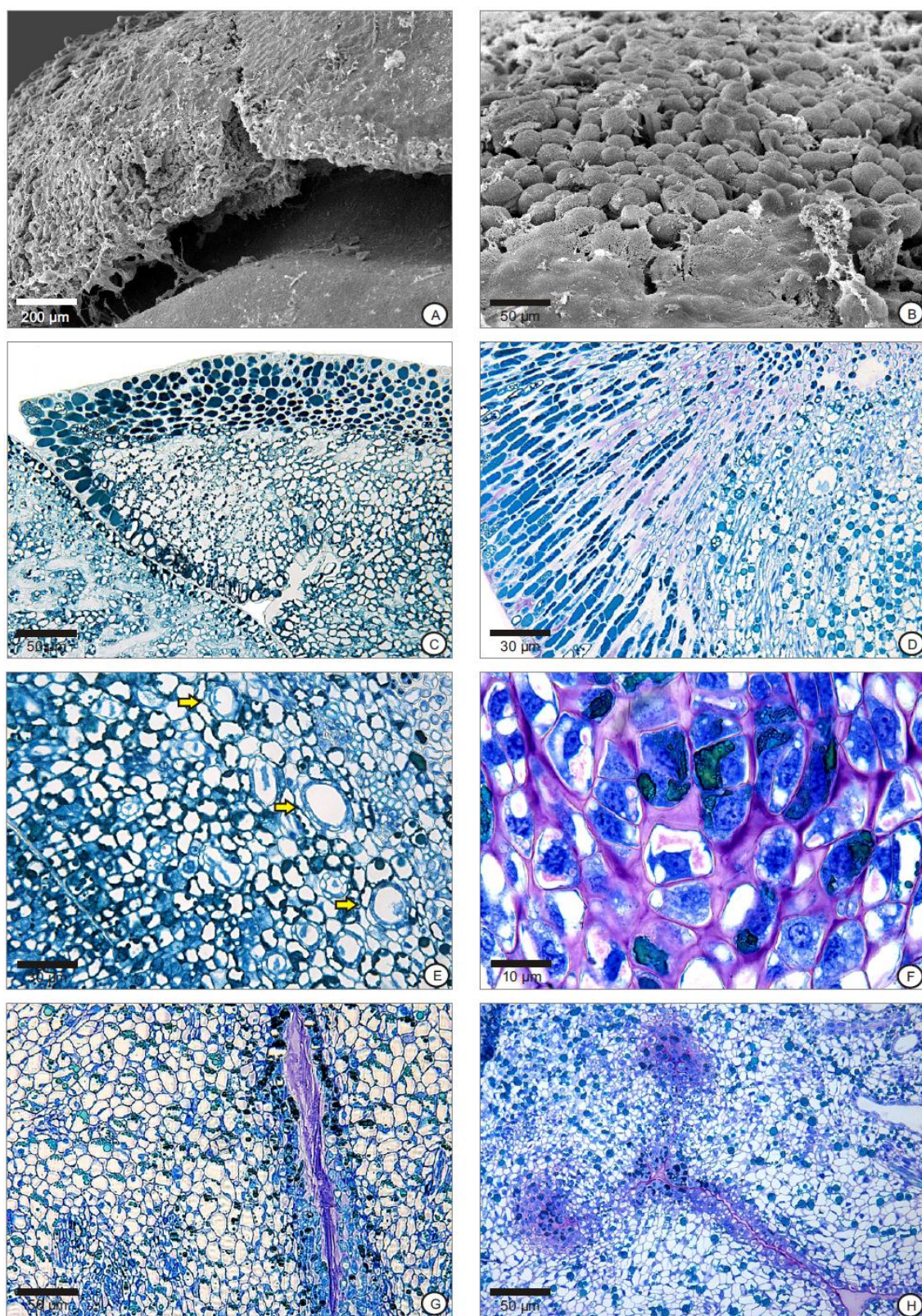


Figura 17: Estigma. A,B - detalhe da superfície estigmática em vista lateral (A) e vista frontal (B) (MEV); C - lobo estigmático, em secção longitudinal (botão de 6,0 mm); D - epitélio estigmático, em secção longitudinal (flor); E - secção longitudinal, evidenciando a presença de cavidades secretoras (setas); F-H - tecido transmissor: F - detalhe das células e do fluido locular, G - secção longitudinal, H - secção transversal.

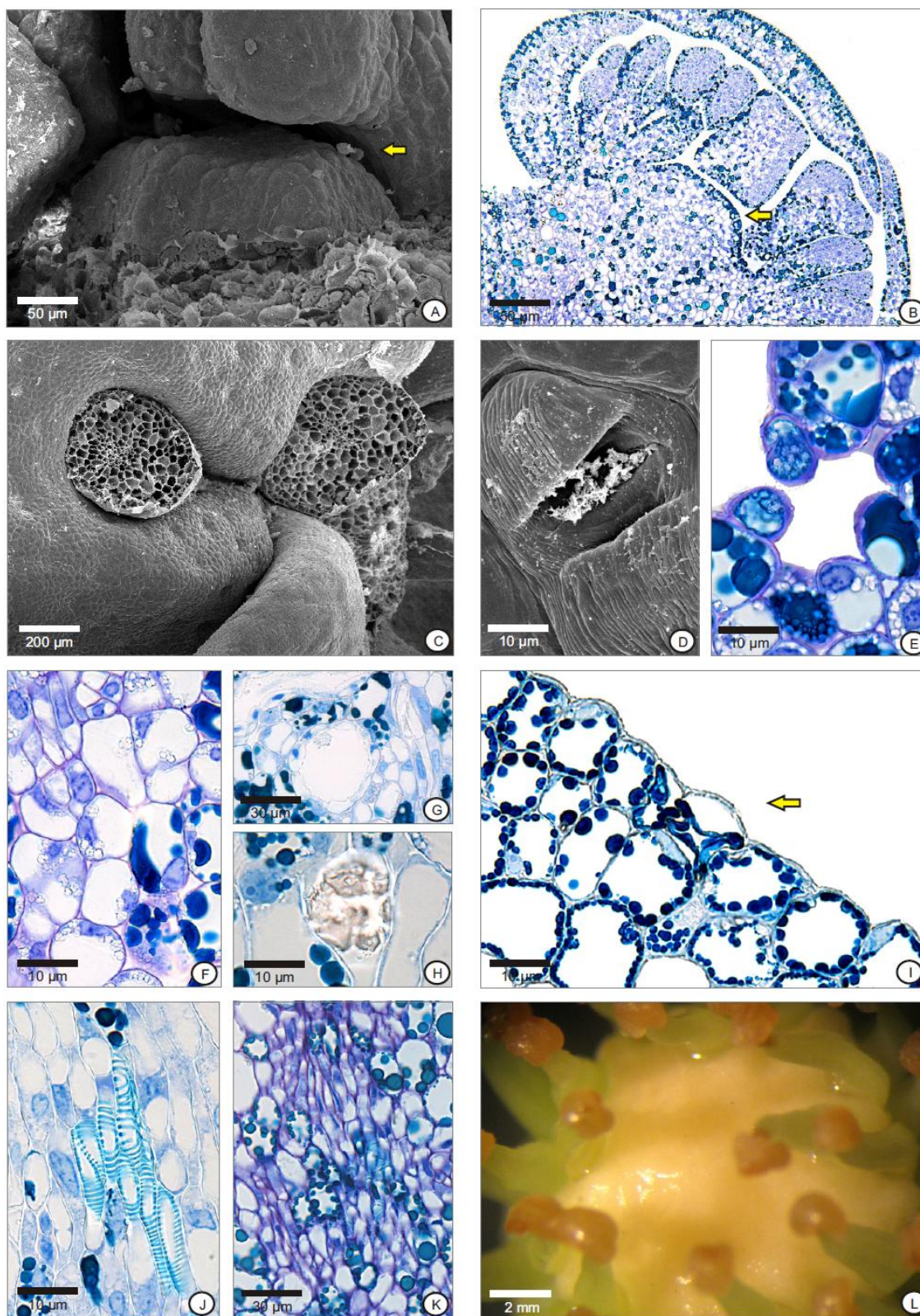


Figura 18: Nectário de flores estaminadas. A,B - estágio inicial de desenvolvimento: (A) vista lateral (seta) (MEV) e (B) secção longitudinal (seta); C - em vista frontal, detalhe do crescimento envolvendo o filete (MEV); D,E - estômato: (D) vista frontal (MEV) e (E) secção longitudinal; F - detalhe dos grãos de amido, G - detalhe de canal secretor, H - detalhe de drusa; I - secção longitudinal, evidenciando espaço subcuticular (seta); J,K - detalhes da vascularização; L - vista frontal.

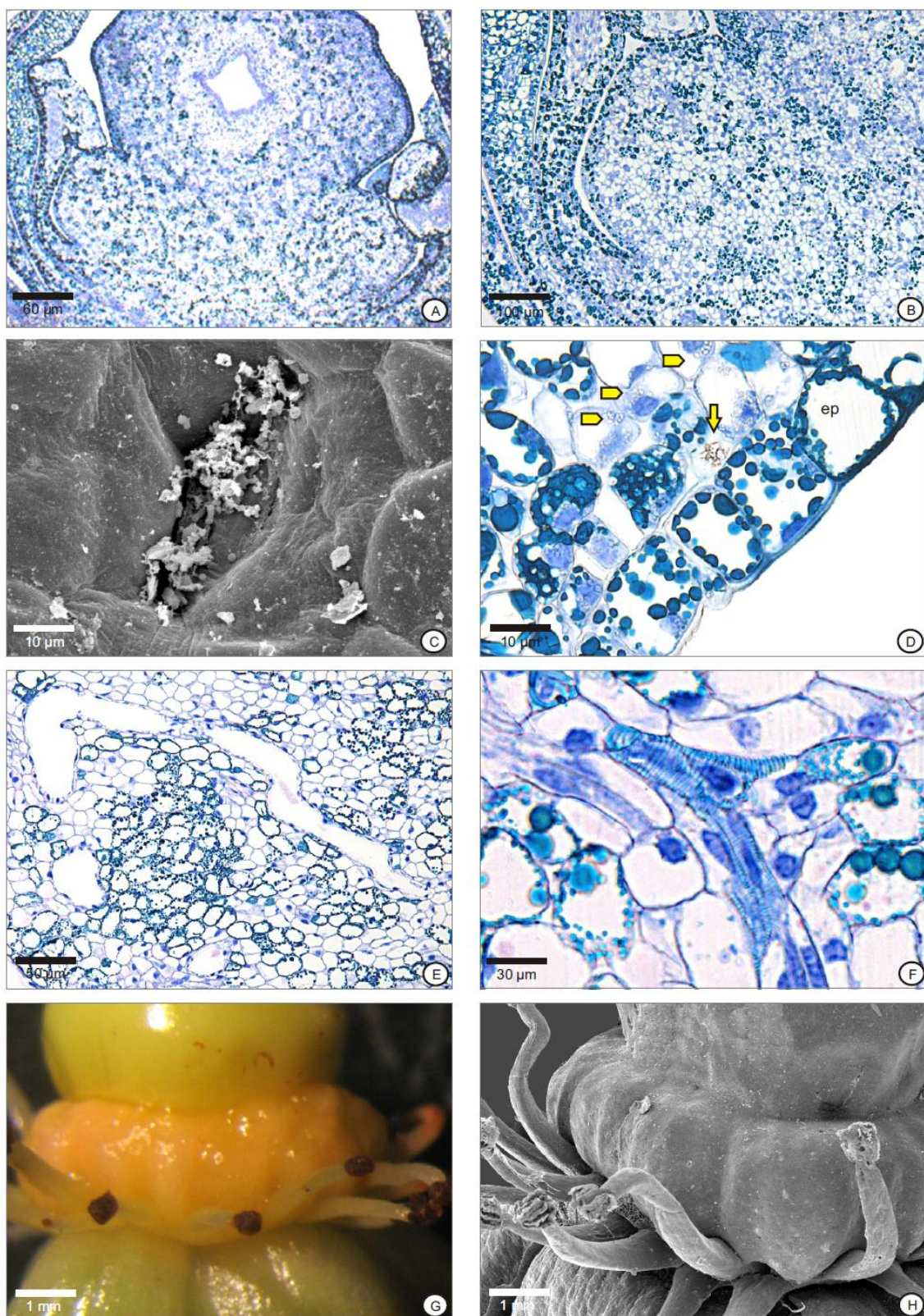


Figura 19: Nectário de flores pistiladas. A,B - estágio inicial de diferenciação em secção longitudinal; C - estômato em vista frontal (MEV); D - detalhe da epiderme (ep), drusa (seta) e grãos de amido (cabeça de seta); E - detalhe de canais secretores e parênquima; F - detalhe da vascularização; G - vista lateral; H - vista lateral (MEV).

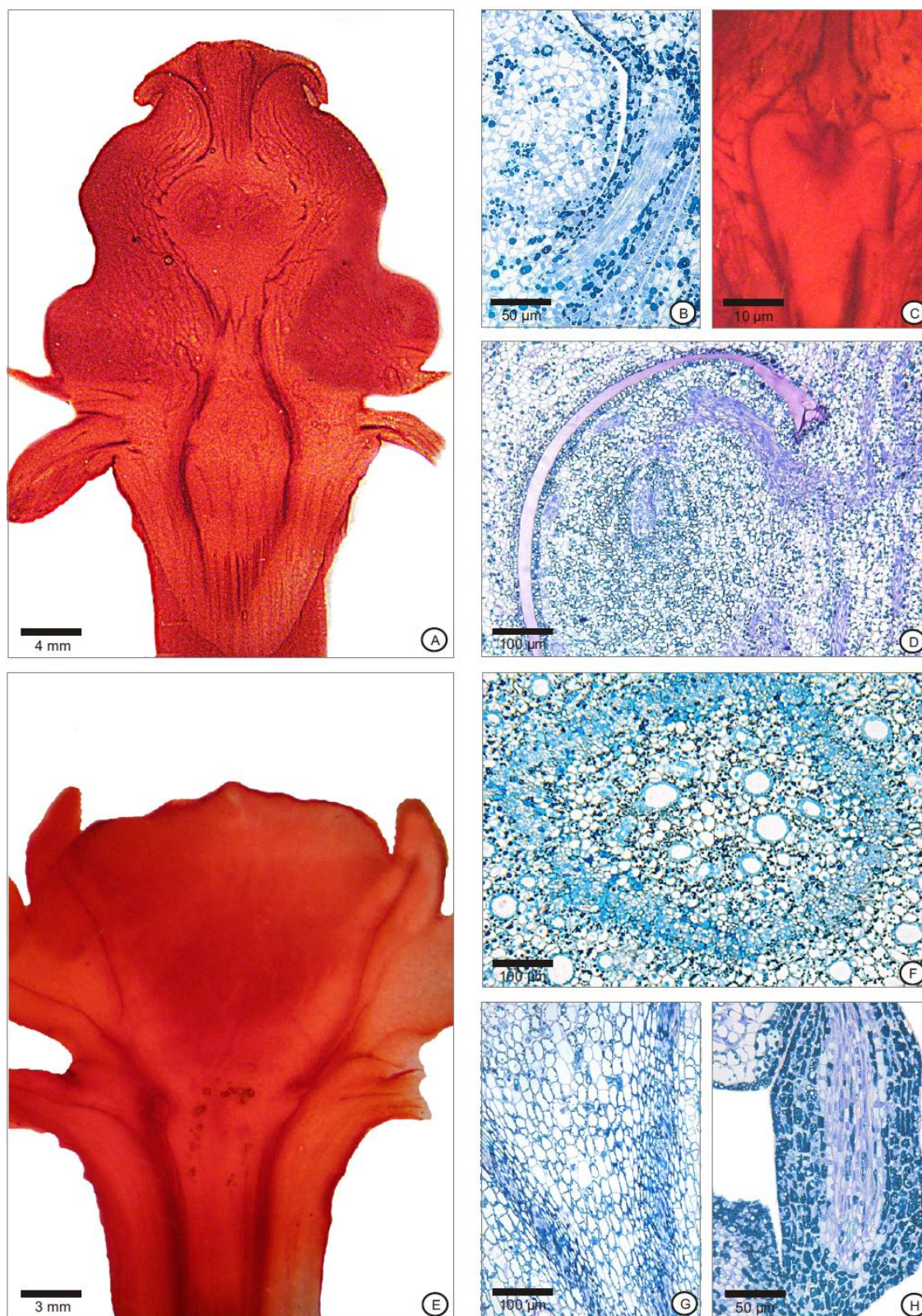


Figura 20: Vascularização das flores. A - vascularização da flor pistilada, vista geral; B - detalhe da saída dos traços vasculares para o estaminódio; C - feixes se dirigindo à placenta e óvulo; D - detalhe do feixe no funículo; E - vascularização da flor estaminada, vista geral; F - anel de feixes no pedicelo, delimitando medula parenquimática; G - bifurcação dos feixes, na altura do receptáculo; H - detalhe da saída dos traços vasculares para o estame.

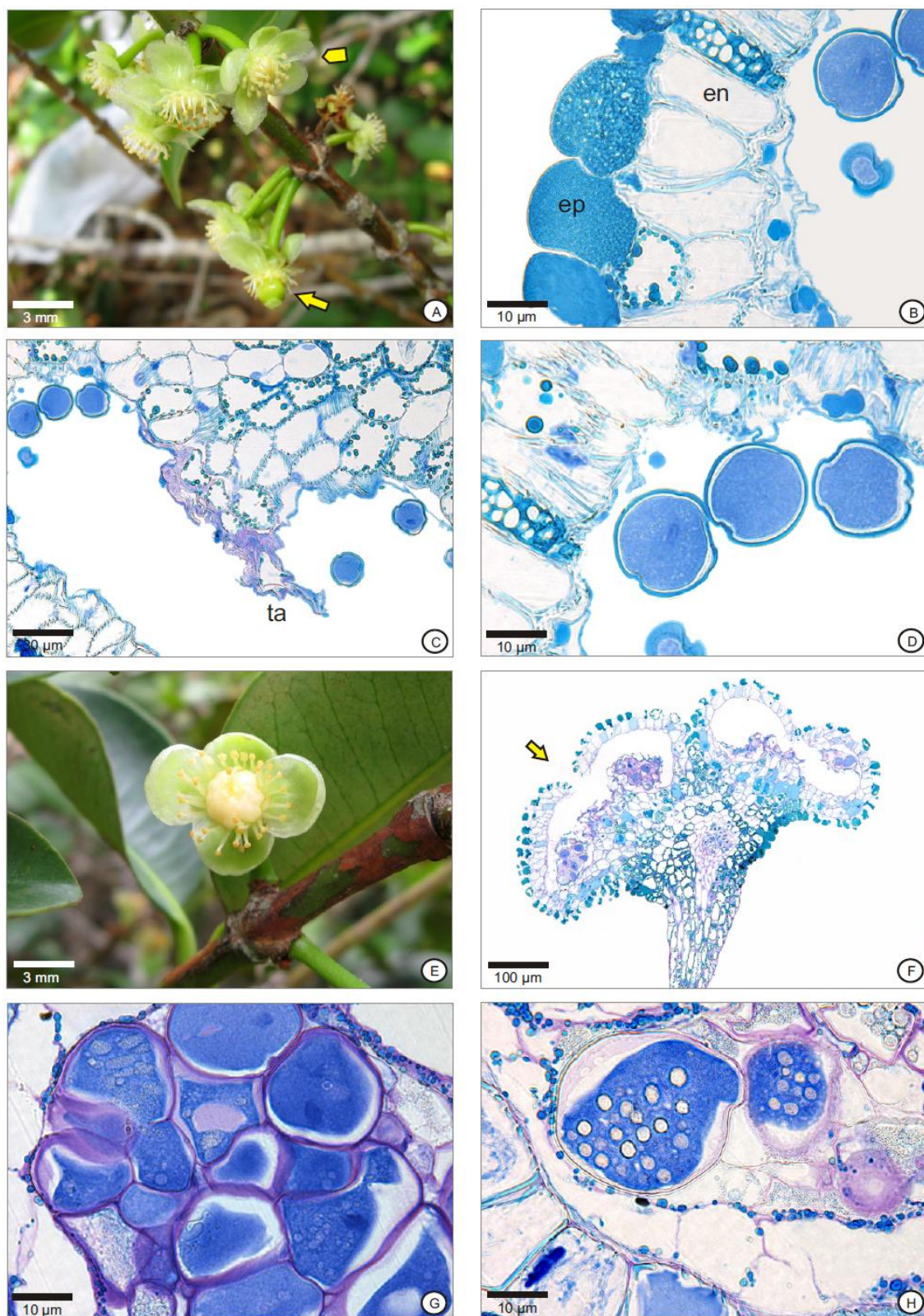


Figura 21: Monóicos. A-D - flores pistiladas em indivíduo masculino; E-H - flor estaminada em indivíduo feminino. A - detalhe da inflorescência, mostrando flores estaminadas (cabeça de seta) e flor pistilada (seta); B - antera, em secção transversal, mostrando a epiderme (ep) e o endotécio (en); C - antera, em secção transversal, evidenciando a ruptura do tabique; D - detalhe dos grãos de pólen; E - detalhe de flor estaminada; F - antera, em secção transversal, evidenciando a ruptura do estômio (seta); G,H - detalhe de lojas apresentando grãos de pólen em degeneração.

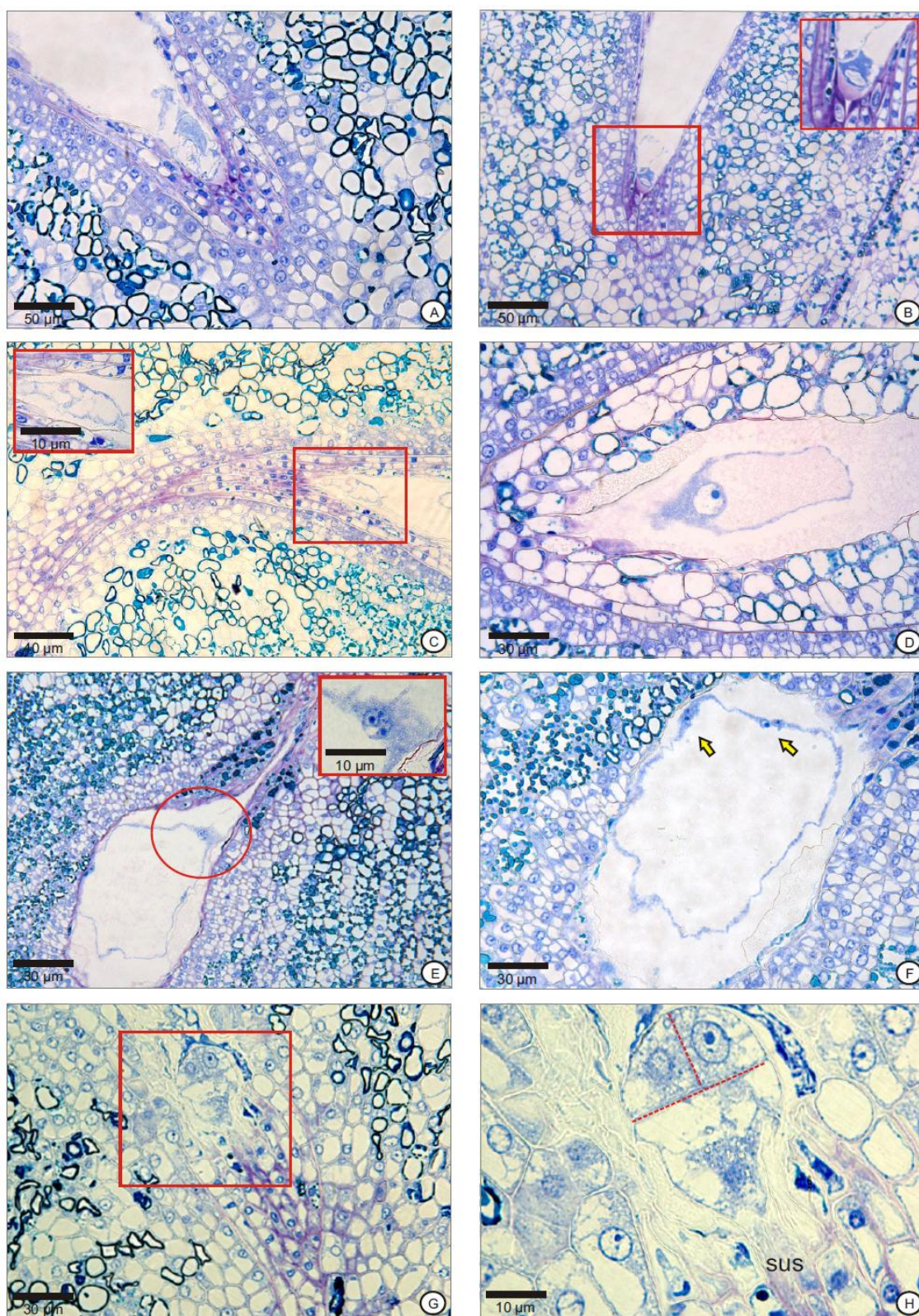


Figura 22: Apomixia. A-D - frutos ensacados; E-H - frutos expostos. A-C - detalhe de óvulos, em secção longitudinal, mostrando conteúdo celular degenerando, provavelmente proveniente de sinérgides e/ou oosfera; D - detalhe de um dos núcleos polares; E - detalhe da fusão do gameta masculino com núcleos polares, F - detalhe do endosperma (setas indicam núcleos do endosperma); G - detalhe do embrião em estágio globular; H - embrião globular, detalhe da delimitação dos domínios apical-basal e do suspensor (sus).

4 - DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O processo evolutivo dos vegetais gerou um *continuum* de sistemas sexuais, que abrange desde o monomorfismo sexual, onde cada indivíduo participa com ambas as funções, masculina e feminina, até o dimorfismo sexual, em que os indivíduos, agrupados em diferentes morfos, participam com a função masculina ou feminina (ASHMAN, 2007). Neste último caso encontra-se a dioicia, sistema sexual pouco comum nas angiospermas (cerca de 6%), mas que surgiu independentemente diversas vezes (em torno de 100) durante a evolução deste grupo (BARRETT, 2002). As possíveis pressões seletivas responsáveis pelo surgimento da dioicia são a prevenção da autofecundação e, especialmente, a especialização sexual, envolvendo o desenvolvimento diferencial maximizando uma única função sexual (GLOVER, 2007). A determinação do sexo em plantas dióicas é pouco conhecida, especialmente porque parece estar associada a múltiplos mecanismos, representando um intrigante quebra-cabeça para estudos de biologia evolutiva (BARRETT, 2010). Diferentes mutantes de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. e diversas espécies na natureza apresentam fenótipos relacionados ao aborto ou à perda da funcionalidade do gineceu ou do androceu durante a diferenciação de flores estaminadas ou pistiladas, bem como alterações na expressão de genes do modelo ABC no processo de esterilização (GLOVER, 2007).

Dioicia críptica se refere ao subtipo do sistema sexual dióico no qual um ou ambos os morfos funcionalmente unissexuais parecem possuir flores perfeitas. Os órgãos do sexo não funcional aparentam uma pseudo-normalidade morfológica uma vez que participam de um gradiente de redução da funcionalidade (MAYER & CHARLESWORTH, 1991).

Em *Garcinia brasiliensis*, estaminódios morfológica e estruturalmente idênticos aos estames, estão presentes nas flores pistiladas. Diferentes hipóteses podem ser invocadas para justificar a manutenção destas estruturas: (1) constrangimento genético, ou seja, forte e positiva correlação genética entre produção de anteras e grãos de pólen em flores estaminadas e pistiladas (DAVIS, 1977); (2) ancestralidade, ou seja, sua retenção como vestígios do estado ancestral, uma vez que não haveria benefício seletivo em sua remoção (DAVIS, 1977). Sendo néctar o recurso floral desta espécie (SILVA 2005), a hipótese de atração dos polinizadores (FREEMAN *et al.*, 1997) é descartada.

De acordo com dados fornecidos por MAYER & CHARLESWORTH (1991), espécies dióicas crípticas são encontradas em eudicotiledôneas basais, rosídeas e asterídeas. A elas podem ser acrescentados representantes dos gêneros *Mammea* L. (Calophyllaceae; DUNTHORN, 2004) e *Garcinia* (Clusiaceae; SILVA, 2005; PANGSUBAN *et al.*, 2007) do

grupo dos clusióides. É importante ressaltar que Calophyllaceae e Clusiaceae estão posicionadas, respectivamente, nas duas principais linhagens dos clusióides (RUHFEL *et al.*, 2011).

As estruturas protetoras das flores dos clusióides são de interpretação controversa. Bonnetiaceae apresenta inflorescências reduzidas, cujos pedúnculos possuem de duas a muitas brácteas ao longo de seu comprimento (WEITZMAN *et al.*, 2007) e as flores são acompanhadas por uma a cinco bractéolas (DICKISON & WEITZMAN, 1998). Calophyllaceae e Clusiaceae geralmente apresentam brácteas e bractéolas que, em alguns representantes de *Clusieae*, posicionam-se muito próximas ao perianto sendo de difícil distinção entre si e em relação às sépalas (STEVENS, 2007a). Em *Clusia valerioi* Standl. a diferenciação entre estes apêndices pode ser feita através de filotaxia. O arranjo oposto caracteriza brácteas e o espiralado, sépalas (HOCKWALLNER & WEBER, 2006). Em Hypericaceae, brácteas e bractéolas ocorrem simultaneamente (STEVENS, 2007b) e em Podostemaceae, brácteas ou espatelas estão presentes (COOK & RUTISHAUSER, 2007).

Em *G. brasiliensis*, no início do desenvolvimento, os botões florais estão envoltos por uma bractéola cupuliforme, espessa, que se rompe de forma irregular com o crescimento, sendo persistente. Característica semelhante parece estar presente em *Tovomita calodictyos* Sandwith, ocorrente na Guiana e descrita como possuindo uma bractéola que envolve o botão floral estaminado e que se rompe por uma caliptra. Não há referência para esta estrutura nas flores pistiladas (SANDWITH, 1936). *Garcinia* ocupa posição derivada em Clusiaceae, enquanto *Tovomita* é basal (RUHFEL *et al.*, 2011). Tal estrutura pode ainda ser comparada com a espatela membranosa e não vascularizada que envolve o botão floral e se rompe durante o desenvolvimento deste, característica da subfamília *Podostemoideae* (Podostemaceae) e que se originaria a partir da fusão de duas brácteas (RUTISHAUSER *et al.*, 2005; JÄGER-ZÜRN, 2005). Recentemente, KATAYAMA *et al.*, (2010), através da análise detalhada dos padrões de expressão de ortólogos de genes-chave na regulação do desenvolvimento em espécies de angiospermas, sugerem que a espatela seja homóloga ao cálice de outras angiospermas. Deste modo a questão permanece em aberto, sendo precipitadas quaisquer conclusões sobre a natureza destas estruturas protetoras nos clusióides.

O estudo anatômico das bractéolas persistentes de *G. brasiliensis* apontou o estado excepcionalmente espesso para a cutícula que recobre a epiderme na face abaxial e moderadamente espesso para as paredes das células parenquimáticas do mesofilo, muito semelhante ao descrito para bractéolas de espécies de Bonnetiaceae, família irmã de

Clusiaceae (DICKISON & WEITZMAN, 1998). A espessura da cutícula é variável e influenciada pelas condições ambientais (ESAU, 1976). Em áreas de restinga, tal característica pode estar relacionada à prevenção da dessecação já que as espécies estão sujeitas a estresse hídrico, relacionado a índices mais elevados de transpiração pela exposição direta à luz e ação de ventos. SILVA *et al.*, (2005), estudando em *Clusia hilariana* Schltldl., alterações anatômicas causadas por chuva ácida na restinga, através de simulação, verificou baixa susceptibilidade a este evento devido à espessura tanto da cutícula, com evidentes flanges, como das paredes das células compactas do mesofilo.

Em relação ao perianto, espécies das famílias Bonnetiaceae, Calophyllaceae e Hypericaceae apresentam flores com sépalas e pétalas (WEITZMAN *et al.* 2007; STEVENS 2007b), enquanto Podostemaceae exibe tépalas, muitas vezes posicionadas em um único lado da flor (COOK & RUTISHAUSER, 2007). Na família Clusiaceae, sépalas e pétalas estão quase sempre presentes, livres e, muitas vezes, de difícil distinção (GUSTAFSSON, 2000).

Como exemplo desta dificuldade pode-se citar a discutida circunscrição de *Rheedia* e *Garcinia*. A abordagem destes gêneros como diferentes baseava-se no fato de que flores de representantes de *Rheedia* apresentavam duas sépalas, ao invés de quatro, além de estames livres (VESQUE, 1893; SWEENEY, 2008). ROBSON (1958, *apud* SWEENEY, 2008, p. 1300) questionava tal separação, chamando atenção para a grande variação de estados destes caracteres em ambos os táxons, dando como exemplo a semelhança entre o perianto indefinido e subespiralado, de *Garcinia pachyclada* N. Robson, nativa do oeste da África, e das espécies de *Rheedia*, de Madagascar. O estudo das relações filogenéticas em *Garcinia* (SWEENEY, 2008) suporta a unificação dos dois gêneros, o que reforça a aceitação do nome *Garcinia brasiliensis* (também referida como *Rheedia brasiliensis* (Mart.) Planch. & Triana).

O estudo morfo-anatômico das flores de *Clusia gundlachii* A. Stahl mostrou que nesta espécie bractéolas e tépalas podem ser diferenciadas pela posição relativa, embora estes apêndices sejam anatomicamente similares. Foi evidenciado um aumento gradual no tamanho, em direção ao ápice floral, acompanhado por um decréscimo progressivo na espessura (GUSTAFSSON, 2000). No presente estudo, interpretação semelhante foi feita com relação a *G. brasiliensis*, por apresentar em ambos os tipos florais tépalas livres, alviverdes, de consistência membranácea com decréscimo gradual e centrípeto na espessura do mesofilo e da cutícula. SILVA (2005), no entanto, descreve para *G. brasiliensis* corola com três a cinco pétalas iguais entre si e cálice formado por duas a quatro sépalas, sendo duas menores e externas, correspondentes às bractéolas descritas neste trabalho, e duas maiores e internas que,

juntamente com as três a cinco pétalas, equivalem às tépalas. É importante ressaltar que a interpretação aqui apresentada baseou-se em dados morfológicos e de desenvolvimento tais como posição, arranjo, tamanho, coloração, morfologia externa e estrutura.

Tépalas ocorrem amplamente nas angiospermas basais e monocotiledôneas (SOLTIS *et al.*, 2007a) enquanto a maioria das eudicotiledôneas possui sépalas e pétalas. No entanto algumas espécies de grupos derivados, como *Cornus florida* L. (Cornaceae - asterídea), apresentam brácteas petalóides, indicando que aspectos das vias de desenvolvimento de pétalas se expressaram ectopicamente em novos lugares (IRISH, 2009). Evidências morfológicas e filogenéticas sugerem que as pétalas tenham surgido diversas vezes. Em algumas linhagens supõem-se que tenham surgido a partir de modificações em estruturas semelhantes a estames (andropetaloidia); em outras linhagens que derivaram de órgãos semelhantes a folhas ou a brácteas (bracteopetaloidia). A idéia de que pétalas tenham surgido a partir de modificações secundárias em órgãos pré-existentes está associada a modelos recentes sobre alterações na identidade de órgãos através de mudanças na expressão de genes homeóticos (IRISH, 2009).

Cada um dos verticilos é determinado por uma combinação única das atividades dos genes de identidade de órgãos florais, conhecidos como genes de função A, B e C. A expressão apenas de genes de função A determina o desenvolvimento de sépalas; A+B, especificam pétalas; B+C, estames e apenas C, carpelos. O modelo ABC original foi posteriormente ampliado, com a proposição dos modelos ABCD (ANGENENT *et al.*, 1995; COLOMBO *et al.*, 1995) e ABCDE (PELAZ *et al.*, 2000; THEISSEN, 2001), nos quais os genes de função D expressam-se apenas no ovário, estando associados ao desenvolvimento dos óvulos, e os genes de função E se expressam em todos os verticilos, regulando as identidades de todos os órgãos florais através de interações proteína-proteína com os genes de função A, B e C (MELZER *et al.*, 2010; IMMINK *et al.*, 2010).

A maioria das angiospermas basais apresenta tépalas que podem exibir uma gradação de características, indo desde mais externas e sepalóides até mais internas e petalóides (IRISH, 2009) pela extensão nos domínios *sliding borders* (SOLTIS *et al.*, 2007 a, b) ou por níveis de expressão com limites difusos destas classes de genes *fading borders* (BUZGO *et al.*, 2004; SOLTIS *et al.*, 2007 a, b). Transições graduais na morfologia seriam produto de um gradiente de nível de expressão de genes de identidade durante o desenvolvimento do meristema floral, resultando na formação de órgãos florais morfollogicamente intermediários. Seqüenciamentos e análises de expressão sugerem que as funções B, C e E sejam amplamente conservadas,

porém a função A - responsável pela especificação de sépalas, pétalas e repressão de genes de função C - não o é. Embora freqüentemente pesquisadores se refiram ao modelo ABC ou a suas recentes variantes (modelos ABCE ou ABCDE), a função A só foi realmente demonstrada em *Arabidopsis* (SOLTIS *et al.*, 2007).

Deste modo, para uma correta interpretação dos órgãos de proteção das flores de *G. brasiliensis*, estudos morfo-estruturais e de desenvolvimento necessitariam da abordagem molecular complementar.

Estruturas secretoras estão presentes no grupo dos clusióides. Para Bonnetiaceae (WEITZMAN *et al.*, 2007), Clusiaceae (STEVENS, 2007a; THOMAS, 1991), Calophyllaceae (STEVENS, 2007a) e Hypericaceae (STEVENS, 2007b) é apontada a presença de coléteres. Células secretoras ocorrem em Clusiaceae (METCALFE & CHALK, 1950), Hypericaceae (METCALFE & CHALK, 1950; CURTIS & LERSTEN, 1990; MAFFI *et al.*, 2005; CICCARELLI *et al.*, 2001) e Podostemaceae (METCALFE & CHALK, 1950). Cavidades e canais secretores são descritos para Clusiaceae (METCALFE & CHALK, 1950; STEVENS, 2007a), Calophyllaceae (STEVENS, 2007a), Hypericaceae (METCALFE & CHALK, 1950; STEVENS, 2007b; CURTIS & LERSTEN, 1990; MAFFI *et al.*, 2005; CICCARELLI *et al.*, 2001) e Podostemaceae (METCALFE & CHALK, 1950; COOK & RUTISHAUSER, 2007). Laticíferos estão presentes em algumas Podostemaceae (COOK & RUTISHAUSER, 2007).

Nas flores de *Garcinia brasiliensis*, coléteres persistentes, geralmente filiformes ocorrem entre bractéola e tépala (além de estarem presentes nas axilas das folhas, envolvendo as gemas vegetativas). Não são vascularizados, como aqueles observados na superfície adaxial de estípulas, brácteas e sépalas de *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum. (Rubiaceae; BARREIRO & MACHADO, 2007) e na face adaxial das estípulas de *Caryocar brasiliense* Cambess. (Caryocaraceae; PAIVA & MACHADO, 2006) sendo, nesta última espécie, também persistentes.

Coléteres, estruturas secretoras multicelulares, originadas a partir da protoderme e do meristema fundamental, vascularizadas ou não, associadas à face adaxial de diversos órgãos como estípula, pecíolo, lâmina, bráctea, bractéola, cálice ou corola, têm como provável função a proteção de meristemas em desenvolvimento através da secreção de um fluido viscoso, geralmente mucilagem (THOMAS, 1991) ou mistura de mucilagem e substâncias lipofílicas (FAHN, 1979). A composição da secreção e a função dos coléteres nas flores de *G. brasiliensis* são, provavelmente, semelhantes àquelas que estas estruturas apresentam nas

inflorescências de *Cleome rosea* Vahl ex DC. (Cleomaceae; GAMA, 2009), *Eugenia neonitida* Sobral (Myrtaceae; PIMENTEL, 2009) e *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae; LOPES, 2008). A secreção é mucilaginosa, composta por polissacarídeos ácidos e neutros e a função é a proteção dos botões florais.

A presença de coléteres associada à dioicia, estigmas capitados, botões florais não perolados e anteras introrsas caracterizam o clado *Garcineae* (SWEENEY, 2008).

Cavidades e canais secretores estão presentes em todos os órgãos florais de *G. brasiliensis*, com exceção dos estames e estaminódios. Em espécies de *Clusia*, como *C. valerioi* (HOCHWALLNER & WEBBER, 2006) e *C. lanceolata* Cambess. (D. O. LEAL, observação pessoal), por outro lado, os robustos filetes são constituídos basicamente pelo conjunto de cavidades e canais secretores. Curiosamente, a ausência destas estruturas apenas nos estames também é relatada para flores de *Hypericum perforatum* L. (CICCARELLI *et al.*, 2001).

Em *G. brasiliensis*, o processo esquizógeno origina cavidades e canais e o esquizolisígeno marca a fusão de dois ou mais canais, tornando-os ramificados. A presença de canais ramificados foi referida por STEVENS (2007a) para o gênero. A combinação de processos foi registrada por MACHADO & CARMELLO-GUERREIRO (2001) nos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) onde as cavidades secretoras iniciam-se por esquizogênese e desenvolvem-se pelo processo esquizolisígeno. A formação destas estruturas em *G. brasiliensis* é assincrônica, da mesma forma que em *Clusia valerioi* (HOCHWALLNER & WEBBER, 2006).

Em *G. brasiliensis* no lume de cavidades e canais é encontrada uma secreção composta por resina e polissacarídeos ácidos e neutros.

De acordo com BERG (1979), *G. brasiliensis* é a única espécie brasileira do gênero a apresentar flores com odor. Tal característica pode estar relacionada com a presença de resinas, devido aos terpenos voláteis. O néctar perfumado pode ter importante papel na atração de abelhas para flores recém-abertas, estimulando o movimento das mesmas entre plantas estaminadas e pistiladas, ao longo do dia. O fato de flores emasculadas não terem sido discriminadas pelas abelhas reforça a suposição de que o odor nas flores de *G. brasiliensis* seja mais importante como atrativo, do que as semelhanças morfológicas entre flores estaminadas e pistiladas (SILVA, 2005). Tal fato é salientado por ARMBRUSTER (1993) ao afirmar que as abelhas são atraídas pelas resinas que contêm terpenos voláteis, que os utilizam como precursores de feromônios sexuais.

Em *Garcinia* o androceu é extremamente variável. Estames e estaminódios variam em número e disposição, podendo estar agrupados, formando fascículos; fusionados entre si e em relação às pétalas, originando falanges; ou ainda serem livres, como em *G. brasiliensis*.

Nas lojas das anteras de estames e estaminódios de *G. brasiliensis* um fluido lipofílico foi observado. Nas flores pistiladas, o fluido persiste até o momento da deiscência, enquanto nas estaminadas, ele vai escasseando com a maturação floral. Os lóculos das anteras são comumente locais de armazenamento de secreções do tapete, sendo seu conteúdo o elo entre esporófito (tapete) e gametófito (grão de pólen). Estas secreções nutritivas apresentam composição variável durante o processo de desenvolvimento dos grãos de pólen, sendo, no início da microsporogênese, compostas por polissacarídeos, proteínas, aminoácidos, RNA e precursores de esporopolenina. Na fase correspondente ao final da microsporogênese e microgametogênese, os lóculos são preenchidos por pollenkitt, combinação de proteínas e gotículas de substâncias lipofílicas, que se deposita na superfície das paredes dos grãos de pólen. O uso das substâncias locais varia durante a ontogênese. Polissacarídeos, pectinas e proteínas são incorporados ao citoplasma e participam dos processos metabólicos, enquanto pollenkitt permanece na superfície dos grãos, conferindo-lhes maior adesão ou ainda participando em processos de compatibilidade (CLÉMENT *et al.*, 1998). Diferentemente de *G. brasiliensis*, nas flores de espécies de *Tovomita*, tanto estames como estaminódios secretam óleos fragrantes que atraem machos de abelhas polinizadoras e em *Symphonia globulifera* e *Garcinia gardneriana* os grãos de pólen são liberados misturados em óleo floral (MARSAIOLI *et al.*, 1999), o que lhes confere proteção contra ataques de fungos e bactérias, além de boa aderência aos polinizadores (BITTRICH & AMARAL, 1996). Em *Kielmeyera* (Calophyllaceae; OLIVEIRA & SAZIMA, 1990) e em Hypericaceae (STEVENS, 2007b) glândulas relacionadas a odor estão freqüentemente presentes no conectivo das anteras, embora não haja estudos sobre suas secreções.

Irregularidades no desenvolvimento dos grãos de pólen foram observadas em *G. brasiliensis*, tanto nos estames das flores estaminadas - onde alguns grãos ou a totalidade deles em uma mesma loja degeneram - quanto nos estaminódios das flores pistiladas - onde todos os micrósporos degeneram. O início deste processo ocorre na fase posterior à meiose, levando à esterilidade masculina, nas flores pistiladas. Em flores estaminadas, o processo pode ter início durante a microsporogênese e ser acompanhado pela degeneração precoce do tapete, ou após a meiose, resultando em hipertrofia e posterior degeneração de alguns micrósporos.

Analisando flores perfeitas e pistiladas de *Hypericum brasiliense* Choisy, dos pontos de vista anatômico e citológico, MORAES *et al.* (2009) associam às anteras estéreis do morfo pistilado, tapete hipertrofiado e desorganizado, lóculos com a presença precoce de precursores lipídicos de parede e micrósporos degenerados. A ocorrência simultânea destes fenótipos os leva a pensar em esterilidade masculina citoplasmática como a provável causa do dimorfismo sexual da espécie. A esterilidade masculina citoplasmática (CMS) em plantas é determinada pelo genoma mitocondrial (herança materna na maioria das espécies) e está associada a fenótipos de esterilidade, que podem ser suprimidos ou neutralizados por genes nucleares, conhecidos como genes-restauradores de fertilidade (CHASE, 2007). Alguns dos fenótipos relacionados à CMS são degeneração de estames, anteras ou tapete, ou ainda problemas no desenvolvimento ou funcionalidade dos grãos de pólen. Na maioria dos casos, as plantas que apresentam CMS são fenotipicamente normais em todos os aspectos, exceto quanto à fertilidade masculina. Em populações naturais, CMS e restauração de fertilidade são estudadas em sistemas reprodutivos ginodióicos, caracterizados pela presença de indivíduos femininos e hermafroditas (CHASE, 2007). A presença de fluido lipofílico e micrósporos degenerados nas anteras estéreis de *H. brasiliense* assemelham-se ao encontrado nas anteras dos estaminódios de *G. brasiliensis*, espécie dióica críptica, caráter aparentemente não compatível com CMS.

Em *Garcinia*, as flores pistiladas geralmente apresentam estaminódios livres ou reunidos em grupos, posicionados ao redor do ovário sincárpico com um óvulo por carpelo, sendo esta última característica uma sinapomorfia para o gênero (SWEENEY, 2008). Em algumas espécies, as flores estaminadas apresentam um pistilódio, definido por SWEENEY (2008) como órgão floral central com uma área estigmática óbvia.

Ao estudar as relações filogenéticas na tribo *Garcineae* e a diversidade floral em *Garcinia*, SWEENEY (2008) apresenta as espécies deste gênero distribuídas em duas linhagens principais (referidas como **A** e **B**), caracterizadas principalmente pela presença ou ausência de nectários florais e de pistilódio e pelo grau de fusão das peças do androceu. *G. brasiliensis* não foi amostrada neste trabalho.

As espécies da linhagem **A** possuem flores estaminadas com um verticilo de estames férteis fusionados, ante-pétalos e denominados falanges, ou um verticilo de estames férteis livres, que circunda uma estrutura central frequentemente lobada, referida como “disco”. As flores pistiladas apresentam grupos de estaminódios unidos pela base que se alternam a estruturas carnosas e ante-sépalas, chamadas de “apêndices”, ou estaminódios livres, que

circundam um “anel”. Estaminódios, apêndices e anel circundam o ovário. As espécies da linhagem **B** possuem flores sem discos, apêndices ou anéis, porém com pistilódios nas flores estaminadas. (SWEENEY, 2010). A função dos referidos discos, anéis e apêndices parece ser nectarífera e sua natureza tem sido discutida na literatura, sendo considerados originados a partir do androceu (STEVENS, 2007a), do gineceu (MONCUR 1988 *apud* SWEENEY, 2008, p. 1298) ou do receptáculo floral (SWEENEY, 2010). Estruturas semelhantes, presentes em Bonnetiaceae (DICKISON & WEITZMAN, 1998), *Symphonieae* (Clusiaceae; STEVENS 2007a), Calophyllaceae (RONSE DE CRAENE & SMETS, 1991) e Hypericaceae (STEVENS, 2007b) foram interpretadas como originadas de um verticilo externo ante-sépalo de estames modificados. Considerando correta esta interpretação, RONSE DE CRAENE & SMETS (1991) postulam que a condição diplostêmone seria a ancestral para o grupo.

No entanto, os resultados apresentados, baseados no acompanhamento da ontogênese e anatomia das flores, apontam para a origem carpelar dos nectários em *G. brasiliensis*. Nas flores estaminadas, após a formação dos primórdios dos estames, surge uma estrutura arredondada, com a porção distal ligeiramente convexa, ocupando a posição correspondente ao quarto verticilo. Com o desenvolvimento, esta estrutura cresce de forma intrusiva, envolve os filetes dos estames próximos e passa a ocupar toda a região central da flor. Os traços vasculares que aí chegam partem diretamente do estelo floral. Nas flores pistiladas, o nectário surge como uma discreta distensão da porção proximal do ovário. O aumento desta região causa um visível estrangulamento com diminuição do diâmetro do anel vascular que percorre toda a flor. Deste anel partem os traços que chegam ao nectário.

RENNER & FEIL (1993), tratando da relação entre polinizadores e angiospermas dióicas tropicais, fazem referência a espécies cujas flores oferecem mais de um tipo de recurso, como *Garcinia hombroniana* Pierre. Neste táxon, flores estaminadas possuem pistilódio e flores pistiladas não apresentam estaminódios. Os recursos florais são néctar, produzido no estigma de flores pistiladas e no pistilódio de flores estaminadas, e pólen, das anteras de flores estaminadas. A polinização é realizada por abelhas do gênero *Trigona* (RICHARDS, 1990). *G. hombroniana* pertence à linhagem **B**, na filogenia de *Garcinia* (SWEENEY, 2008).

Em *Garcinia brasiliensis* a polinização é igualmente realizada por abelhas, o recurso é néctar produzido no nectário globoso central (“disco”) da flor estaminada, que não possui “um órgão floral central com uma área estigmática óbvia” (pistilódio, *sensu* SWEENEY, 2008), e na saliência basal (“anel”), epiderme e camadas subepidérmicas do ovário e estigma

da flor pistilada, que apresenta estaminódios. Considerando estas características, poderíamos supor que a espécie pertencesse à linhagem **A** referida anteriormente. Além disto, *G. brasiliensis* já foi considerada *Rheedia brasiliensis* e os representantes amostrados do gênero *Rheedia* estão posicionados nesta linhagem (SWEENEY, 2008). Continuando o exercício, poderíamos hipotetizar que a linhagem **A** fosse derivada em relação à **B** e que, em espécies da linhagem **A**, as folhas carpelares ou uma região delas, tenha se diferenciado e especializado para desempenhar as funções de produção e/ou secreção de néctar, originando um nectário a partir do gineceu, mas localizado fora da área estigmática. De um modo geral, exsudados estigmáticos são compostos por lipídios, açúcares, aminoácidos, fenóis, alcalóides e antioxidantes, mas constituem o principal recurso floral em muito poucos casos, especialmente em flores que constituem armadilhas para insetos polinizadores (DAFNI, 2005) e primariamente em flores que apresentam estiletes rudimentares ou muito curtos, além de estigmas bem robustos (SIMPSON & NEFF, 1983). No entanto, danos potenciais à superfície receptiva e perturbações relacionadas com o crescimento do tubo polínico são fatores que, provavelmente, favoreceriam a seleção para o desenvolvimento de estruturas secretoras de recursos florais, como nectários, em áreas que minimizassem danos à superfície receptiva de grãos de pólen (SIMPSON & NEFF, 1983).

Na planta modelo *Arabidopsis thaliana*, *CRABS CLAW* (*CRC*), gene da família YABBY, é necessário para o desenvolvimento normal de carpelos e nectários (GOLZ & HUDSON, 1999), sendo *crabs claw* (*crc*) o único mutante conhecido que não apresenta nectários florais (BAUM *et al.*, 2001). Nos nectários, sua expressão se inicia imediatamente após a emergência da estrutura e continua até a pós-antese. Nas angiospermas basais os nectários florais tendem a estar associados ao perianto, enquanto nas eudicotiledôneas geralmente estão associados aos carpelos e estames. Com base na expressão e análise funcional, em um contexto filogenético, o seguinte cenário é proposto por LEE *et al.* (2005): nas eudicotiledôneas basais, *CRC* foi recrutado para desempenhar sua função na promoção da identidade ou polaridade do carpelo e no desenvolvimento dos nectários. Posteriormente, nas primeiras linhagens das eudicotiledôneas, este recrutamento teria sido concomitante com a associação dos nectários florais aos órgãos reprodutivos (LEE *et al.*, 2005).

Em todo o grupo dos clusióides a placentação é basicamente axial. Algumas exceções são relatadas na literatura (STEVENS, 2007a) como: placentação parietal em *Allanblackia* (Clusiaceae) e em membros de *Hypericum* (Hypericaceae) e laminar em *Clusiella* (Calophyllaceae).

Em angiospermas, ocasionalmente são encontrados sacos embrionários com menos de oito núcleos devido, principalmente, à degeneração precoce das antípodas, o que pode mascarar a sua verdadeira natureza. Um exemplo é o saco embrionário em *Garcinia* (MAHESHWARI, 1948). Em duas espécies do gênero, *G. kydia* Roxb. (referida como *G. kydia*) e *G. treubii* Pierre, TREUB (1911, *apud* MAHESHWARI, 1948, p. 06) descreve sacos embrionários com cinco núcleos, originados de forma normal até o estágio de quatro núcleos. A partir desta fase, apenas um dos núcleos posicionados no pólo micropilar sofreria divisão, os dois núcleos irmãos resultantes originariam as sinérgides e o terceiro núcleo posicionado neste pólo, a oosfera. Os dois núcleos calazais, se moveriam em direção à micrópila e funcionariam como núcleos polares. PURI (1939, *apud* MAHESHWARI, 1948, p. 07), estudando *G. livingstonei* T. Anderson, demonstra que o desenvolvimento do saco embrionário na espécie ocorre de forma usual, exceto pela degeneração precoce das antípodas. Também em *G. mangostana* L., LAN (1984) descreve o saco embrionário como do tipo *Polygonum* (sete células e oito núcleos) ressaltando, porém que as antípodas degeneram logo após sua formação. Em *G. brasiliensis*, as antípodas não foram observadas em nenhum estágio de desenvolvimento.

Em *Podostemum weddellianum* (Tul.) Philbrick & Novelo, o saco embrionário se enquadra no padrão da família Podostemaceae: é monospórico, tem apenas o módulo de desenvolvimento micropilar composto por quatro células (não existem antípodas). A espécie apresenta tétrades dispostas em um arranjo em T (SÁ-HAIAD *et al.*; 2010), também evidenciado em *G. brasiliensis*.

A dioécia é o sistema sexual predominante em Clusiaceae e Garcinieae (STEVENS, 2007a). No entanto, há relatos de espécies que apresentam variações neste sistema sexual. Populações de *Clusia nemorosa*, localizadas em Dois Irmãos e Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, são dióicas, ao passo que foram observadas populações ginodióicas na localidade de Morro do Chapéu, Bahia (LOPES & MACHADO, 1998). Também há registros de populações monóicas e dióicas de *Garcinia forbesii* King. na Malásia e em Borneo, respectivamente (RAMAGE *et al.*, 2004). O registro de emissão de algumas flores estaminadas em plantas femininas, feito para *Garcinia brasiliensis*, também existe para as populações ginodióicas de *C. nemorosa* (LOPES & MACHADO, 1998), além de outras espécies do gênero (MAGUIRE, 1966, 1978; MAGUIRE & WURDACK 1961; MARIZ, 1961 *apud* LOPES & MACHADO, 1998, p.85), não havendo referências sobre a funcionalidade dos estames destas flores. No caso de *G. brasiliensis*, as flores estaminadas

observadas em planta feminina não influenciam na sexualidade da mesma, já que apresentam estames estéreis. Diferentemente, o registro de um indivíduo predominantemente masculino, capaz de emitir flores perfeitas, com estames férteis, por dois anos consecutivos, e de produzir um fruto (C. R. BENEVIDES, observação pessoal), pode indicar uma alteração no status sexual do referido indivíduo, que apresentaria um terceiro tipo de flor (flor bissexual) e seria, portanto, um indivíduo andromonóico, incluído na população dióica. Até o presente momento, considera-se o evento excepcional, pois ocorre em baixas proporções (apenas um indivíduo) na população da restinga de Maricá. No entanto, estudos devem prosseguir no sentido de quantificar a proporção entre flores estaminadas / perfeitas e o sucesso reprodutivo feminino neste indivíduo, assim como tentar identificar outros indivíduos com a mesma característica na população.

A apomixia é a produção assexuada de sementes, também referida como agamospermia (WHITTON *et al.*, 2008). Sementes apomíticas contêm embriões cuja constituição genética é idêntica à da planta mãe (KOLTUNOW, 1993; RICHARDS, 1986, 2003). A produção de sementes apomíticas pode ocorrer a partir de três principais vias: embrionia adventícia, diplosporia e aposporia, sendo a primeira denominada de apomixia esporofítica, uma vez que não envolve a formação de um megagametófito, e as duas últimas de apomixia gametofítica (RICHARDS, 2003; WHITTON, 2008). Na poliembrionia adventícia, embriões desenvolvem-se a partir de células somáticas (nucelo ou tegumento interno) do óvulo. Na apomixia gametofítica, megagametófitos não reduzidos são produzidos e, subsequentemente, desenvolvem-se em embriões: na diplosporia, o megagametófito não reduzido é produzido por modificação ou supressão da meiose no megasporócito, de forma que fica impossibilitada a produção de um embrião pela via sexual, tornando a apomixia obrigatória (RICHARDS, 2003); na aposporia, o megagametófito não reduzido origina-se por divisões mitóticas a partir de células do nucelo, possibilitando a co-ocorrência de embriões sexuais e apomíticos numa mesma semente, tornando a apomixia um evento facultativo (RICHARDS, 2003).

Algumas espécies apomíticas dependem do pólen e da polinização para que ocorra a fertilização de pelo menos um dos núcleos da célula média, promovendo o desenvolvimento do endosperma. Este fenômeno é denominado de pseudogamia. A embrionia adventícia e a aposporia são em geral pseudógamas, ao passo que o desenvolvimento autônomo do endosperma é comum entre as diplospóricas (RICHARDS, 1986, 2003; KOLTUNOW, 1993).

Embora RICHARDS (1990a) tenha destacado que a apomixia é conhecida ou pelo menos suspeita em dez espécies do gênero *Garcinia*, incluindo um caso de apomixia

obrigatória - *Garcinia mangostana*, cujas populações sequer apresentam plantas masculinas (RICHARDS, 1990) - não foram encontradas evidências concretas da presença desse tipo de reprodução assexuada em *G. brasiliensis*. SILVA (2005), em estudos sobre a biologia reprodutiva da espécie, registrou 0% de frutos maduros a partir de botões de flores pistiladas ensacadas (impedida a polinização); entretanto registrou crescimento inicial dos ovários destas flores. Estes resultados minimizam a possibilidade de ocorrência de apomixia obrigatória na população da APA de Maricá, mas não excluem outros tipos de apomixia, como a embrionia adventícia e a aposporia.

Os experimentos envolvendo o ensacamento de flores pistiladas confirmaram o desenvolvimento dos ovários (90%), aparentando frutos jovens, mantidos na planta por cerca de quatro semanas. A análise anatômica desses frutos revelou sacos embrionários desorganizados, senescentes, e ausência de qualquer evidência de início de formação de endosperma ou de embrião. Assim, não foi confirmada a hipótese de apomixia pseudógama para *G. brasiliensis*, na qual pró-embriões, adventícios ou não, poderiam ter seu desenvolvimento iniciado, mas não levado adiante, em função da impossibilidade de desenvolvimento autônomo do endosperma, levando à queda dos mesmos.

Paralelamente, nos frutos submetidos à polinização natural (controle), notou-se a presença de embrião e endosperma na fase de núcleos livres (nuclear), sugerindo a ocorrência de polinização, seguida de fertilização.

Botões e flores também não mostraram sinais de alteração ou de supressão dos eventos sexuais ao longo do desenvolvimento, tendo-se registrado todas as evidências de reprodução sexual como diferenciação do megasporócito a partir do nucelo, megasporogênese (díades e tétrades), megagametogênese e maturação do saco embrionário.

Entretanto, RICHARDS (1990a) registra apomixia facultativa para duas espécies do gênero, a saber: *G. parvifolia* (Miq.) Miq. (sementes férteis produzidas a partir de flores ensacadas) e *G. hombroniana* (pró-embriões produzidos a partir do tegumento), além de fornecer evidências de apomixia para *G. cowa* Roxb., *G. treubii*, *G. livingstonei*, *G. malaccensis* Hook f. ex T. Anderson, *G. scortechinii* King, *G. atrovivirids* Griff ex T. Anderson e *G. nigrolineata* Planch. ex T. Anderson. Para muitas destas espécies, o referido autor relata baixa proporção de plantas masculinas, fato não observado na população estudada de *G. brasiliensis*, para a qual há relato de maior proporção de plantas masculinas (C. R. BENEVIDES, 2010, dados não publicados). RICHARDS (2003) considera que em *Garcinia*,

eventos como pseudogamia, embrionia autônoma e embrionia bem sucedida na ausência de endosperma podem ocorrer.

Dentro do grupo dos clusióides, *Hypericum perforatum* (Hypericaceae) tem sido apontado como planta modelo para o estudo da apomixia (MATZK *et al.*, 2001; SCHALLAU *et al.*; 2010). MATZK *et al.* (2003) indicam cerca de dezesseis espécies do gênero como apomíticas pseudogâmicas facultativas. De acordo com a análise cladística realizada por NÜRK & BLATTNER (2010) a apomixia surgiu independentemente pelo menos três vezes em *Hypericum*. Espécies apomíticas estão presentes em três diferentes clados desta análise.

Os resultados aqui obtidos não sustentam a hipótese de apomixia em *G. brasiliensis*. Entretanto, deve-se considerar que a apomixia facultativa pode ser um evento relativamente raro nas populações, de modo que a análise de um número grande de flores e de frutos pode ser necessária para que possíveis evidências deste tipo de reprodução sejam observadas. Investigações acerca do número de cromossomos das espécies e da ocorrência de poliplóides poderiam também fornecer subsídios para novos estudos, já que apomíticas apospóricas, em geral são poliplóides (WHITTON *et al.*, 2008).

Reverendo as hipóteses formuladas para *G. brasiliensis* à luz dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

1. A natureza da secreção dos canais existentes nas flores não é apenas resinífera. Trata-se de secreção mista, composta por resina e polissacarídeos. Os terpenos voláteis presentes nesta secreção conferem perfume às flores e podem ter importante papel na atração dos polinizadores;
2. O tecido nectarífero das flores não se origina a partir do androceu. A ontogênese e anatomia das flores apontaram para a origem carpelar dos nectários;
3. A meiose masculina ocorre e o material degradado presente na antera é proveniente da degeneração de grãos de pólen. Nas flores pistiladas o início do processo de degeneração de micrósporos ocorre na fase posterior à meiose; nas flores estaminadas, tal processo pode ter início durante a microsporogênese e ser acompanhado pela degeneração precoce do tapete, ou após a meiose, resultando em hipertrofia e posterior degeneração de alguns micrósporos;
4. A substância oleosa presente nos lóculos das anteras é produzida pelo tapete. Persiste até o momento da deiscência nos estaminódios das flores pistiladas e escasseia até se extinguir durante a maturação dos grãos de pólen nas estaminadas;
5. Não há evidências estruturais de ocorrência de apomixia em *G. brasiliensis*.

5. PERSPECTIVAS

Em função de nosso crescente interesse pelo grupo dos clusióides, estão sendo selecionadas espécies neotropicais pertencentes aos principais grupos estabelecidos nos estudos filogenéticos deste grupo (RUFHEL *et al.*, no prelo) e da família Podostemaceae (TIPPERY *et al.*, no prelo). Estas espécies serão estudadas quanto ao desenvolvimento e à anatomia floral, com o objetivo de selecionar caracteres estruturais e embriológicos e estabelecer seus estados e evolução nos referidos grupos. Já foram selecionadas e estão sendo analisadas as seguintes espécies: *Podostemum weddellianum*, *Podostemum saldanhanum* (Warm.) C. Philbrick & Novelo e *Lophogyne lacunosa* (Gardner) C. P. Bove & C. T. Philbrick (Podostemaceae); *Clusia lanceolata* Cambess. e *Clusia criuva* Cambess. (Clusiaceae); *Kielmeyera* sp. (Calophyllaceae).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL L. I. V., PEREIRA M. F. & CORTELAZZO A. L. 2001. Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento de sementes de urucum (*Bixa orellana* L. - Bixaceae). **Acta Botânica Brasileira** 15: 125-132.
- ANGENENT, G. C.; FRANKEN, J.; BUSSCHER, M.; DIJKEN, A.; WENT, J. L.; DONS, H. J. M. & TUNEN, A. J. 1995. A Novel Class of MADS Box Genes Involved in Ovule Development in *Petunia*. **The Plant Cell** 7: 1569-1582.
- ARMBRUSTER, W.S. 1993. Evolution of plant pollination systems: hypotheses and tests with the Neotropical vine *Dalechampia*. **Evolution** 47: 1480-1505.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. 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**: 1-17.
- ASHMAN, T.L. 2007. The evolution of separate sexes: a focus on the ecological context. In: Harder, L. D. & Barrett, S. C. H. (Ed.) Ecology and Evolution of Flowers. **Oxford University Press Inc.**, New York: 204-222.
- BARREIRO, D. P. & MACHADO, S. R. 2007. Coléteres dendróides em *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum., uma espécie não-nodulada de Rubiaceae. **Revista Brasil. Bot.** 30 (3): 387-399.
- BARRET, S. C. H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. **Nature Reviews Genetics** 3: 274-284.
- BARRET, S. C. H. 2010. Understanding plant reproductive diversity. **Phil. Trans. R. Soc. B** 365: 99-109.
- BAUM, S. F., ESHED, Y. & BOWMAN, J. L. 2001. The *Arabidopsis* nectary is an ABC-independent floral structure. **Development** 128: 4657-4667.
- BAWA, K. S. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** 11: 15-39.
- BERG, M. E. van den. 1979. Revisão das espécies brasileiras do gênero *Rheedia* L. (Guttiferae). **Acta Amazônica** 9 (1): 43-74.
- BENTLEY, B. & ELIAS, T. S. 1983. **The biology of nectaries**. New York: Columbia University Press: 204-222.
- BERNADELLO, G. 2008. A systematic survey of floral nectarines, in **Nectarines and nectar**. (Nicolson *et al.*, ed.), Netherlands, Springer, 395 p.
- BITTRICH, V. & AMARAL, M.C.E. 1994. O papel dos líquidos apolares na biologia da polinização de Clusiaceae. **Resumos do 45º Congresso Nacional de Botânica**. São Leopoldo, RS: 258.

- BITTRICH, V. & AMARAL, M.C.E. 1996. Pollination biology of *Symphonia globulifera* (Clusiaceae). **Pl. Syst. Evol.** 200: 101-110.
- BUZGO, M.; SOLTIS, P. S. & SOLTIS, D. E. 2004. Floral developmental morphology of *Amborella trichopoda* (Amborellaceae). **Int. J. Plant Sci.** 165 (6): 925-947.
- CHASE, C. D. 2007. Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial nuclear interactions. **Trends in Genetics** 23 (2): 81-90.
- CICCARELLI, D.; ANDREUCCI, A. C. & PAGNI, A. M. 2001. Translucent glands and secretory canals in *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae): morphological, anatomical and histochemical studies during the course of ontogenesis. **Annals of Botany** 88: 637-644.
- CLÉMENT, C.; LAPORTE, P. & AUDRAN, J. C. 1998. The loculus content and tapetum during pollen development in *Lilium*. **Sex Plant Reprod** 11: 94-106.
- COLOMBO, L.; FRANKEN, J.; KOETJE, E. WENT, J.; DONS, H. J. M.; ANGENENT, G. C. & TUNENAI, A. J. 1995. The *Petunia* MADS Box Gene *FBPI7* Determines Ovule Identity. **The Plant Cell** 7: 1859-1868.
- COOK & HUTSHAUSER, 2007. Podostemaceae in KUBITZSKI, K. (ed.). **The families and genera of vascular plants**, Springer, v. 9, 509p.
- CREPET, W. L. & NIXON, K. C. 1998. Fossil Clusiaceae from the late Cretaceous (Turoniano) of the New Jersey and implications regarding the history of bee pollination. **American Journal of Botany** 85 (8): 1122-1133.
- CURTIS, J. D. & LERSTEN, N. R. 1990. Internal secretory structures in *Hypericum* (Clusiaceae): *H. perforatum* L. and *H. balearicum* L. **New Phytol.** 114: 571-580.
- DAFNI, A. 2005. Rewards in flowers - introduction. In: DAFNI, A.; KEVAN, P. G. & HUSBAND, B. C. (Eds.) **Practical pollination biology**. Enviroquest Ltd., Ontario: 233-236.
- DAVIS, S. L. 1977. Stamens are not essential as an attractant for pollinators in females of cryptically dioecious *Thalictrum pubescens* Pursch. (Ranunculaceae). **Sex Plant Reprod** 10: 293-299.
- DAVIS, C. C.; WEBB, C. O.; WURDACK, K. J.; JARAMILLO, C. A. & DONOGHUE, M.J. 2005. Explosive radiation of Malpighiales supports a Mid - Cretaceous origin of modern tropical rain forests. **The American Naturalist** 165 (3): E36 - E65.
- DICKISON, W. C. & WEITZMAN, A. L. 1998. Floral morphology and anatomy of Bonnetiaceae. **Journal of the Torrey Botanical Society** 125 (4): 268-286.
- DUNTHORN, M. 2004. Cryptic dioecy in *Mammeae* (Clusiaceae). **Plant Syst. Evol.** 249: 191-196.
- ESAU, K. 1976. **Anatomia de plantas com sementes**. Editora Edgard Blücher, São Paulo. 393p.

- FAHN, A. 1979. Secretory Tissues in Plants. **Academic Press**, New York, 302p.
- FEDER, N. & O'BRIEN, T.P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany** 55: 123-142.
- FOSTER, A. S. 1949. **Practical plant anatomy**. New York, D. Van Nostrand, Inc., 228 p.
- FREEMAN, D. C.; DOUST, J. L.; EL-KEBLAWI, A. MIGLIA, K. J. & MCARTHUR, E. D. 1997. Sexual specialization and inbreeding avoidance in the evolution of dioecy. **Bot. Rev.** 63 (1): 65-93.
- GAHAN, P. B., 1984. **Plant Histochemistry and Cytochemistry - an introduction**. London: Academic Press Inc., 1984 xi + 301 p., il.
- GAMA, R. C. R. 2009. Estrutura e desenvolvimento de três tipos florais de *Cleome rosea* Vahl Ex DC. (Cleomaceae). **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- GIVNISH, T. J. 1982. Outcrossing versus ecological constraints in the evolution of dioecy. **The American Naturalist** 119: 849-865.
- GLOVER, B. 2007. Understanding flowers & flowering - An integrated approach. **New York: Oxford University Press**, 227p.
- GOLZ, J. R. & HUDSON, A. 1999. Plant development: YABBYs claw to the fore. **Current Biology** 9 (22): 861-863.
- GUSTAFSSON, M. H. G. 2000. Floral morphology and relationships of *Clusia gundlachii* with a discussion of floral organ identity and diversity on the genus *Clusia*. **Intl J. Pl. Sci.** 161: 43-53.
- GUSTAFSSON, M. H. G.; BITTRICH, V & STEVENS, P. F. 2002. Phylogeny of Clusiaceae based on *rbcL* sequences. **Int. J. Plant. Sci.** 163 (6): 1045-1054.
- HOCKWALLNER, H. & WEBER, A. 2006. Flower developmental and anatomy of *Clusia valerioi*, a Central American species of Clusiaceae offering floral resin. **Flora** 201: 407-418.
- IMMINK, R. G. H.; TONACO, I. A. N.; FOLTER, S.; SHCHENNIKOVA, A.; DIJK, A. D. J.; BUSSCHER-LANGE, J.; BORST, J. W. & ANGENENT, G. C. 2010. SEPALLATA3: the 'glue' for MADS box transcription factor complex formation. **Genome Biology** 10: R24.
- IRISH, V. F. 2009. Evolution of petal identity. **Journal of Experimental Botany**. 60 (9): 2517-2527.
- JÄGER-ZÜRN, I. 2005. Shoot apex and spathe: two problematical structures of Podostemaceae - *Podostemoideae*. **Pl. Syst. Evol.** 253: 209-218.
- JENSEN, W. A. 1962. **Botanical Histochemistry: principles and practice**. San Francisco: W. H. Freeman & Co., 408 p.

- JOHANSEN, D. A. 1940. **Plant Microtechnique**. London: Mac. Graw-Hill Comp. Book Inc., 593 p. il.
- KATAYAMA, N.; KOI, S. & KATO, M. 2010. Expression of *SHOOT MERISTEMLESS*, *WUSCHEL*, and *ASYMMETRIC LEAVES1* Homologs in the Shoots of Podostemaceae: Implications for the Evolution of Novel Shoot Organogenesis. **The Plant Cell Preview**. Disponível em www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.109.073189.
- KOLTUNOW, A. M. 1993. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The Plant Cell** 5: 1424-1437.
- KOROTKOVA, N.; SCHNEIDER, J. V.; QUANDT, D.; WORBERG, A.; ZIZKA, G. & BORSCH, T. 2009. Phylogeny of the eudicot order Malpighiales: analysis of a recalcitrant clade with sequences of the *petD* group II intron. **Plant Syst. Evol.** 282 (3-4): 201-228.
- LAN, A. L. 1984. The embriology of *Garcinia mangostana* L. (Clusiaceae). **Gard. Bull. Sing.** 37(1): 93-103.
- LANGENHEIM, J. H. 2003. Plant resins: chemistry, evolution, ecology and ethnobotany. **Timber Press**, Cambridge, 586 p.
- LANGERON, M. 1949. **Précis de microscopie**. Paris, Masson et Cie. Ed., 1430 p. il.
- LEE, J. Y. ; BAUM, S. F. ; OH, S. H., JIANG C. Z. ; CHEN, J. C. & BOWMAN J. L. 2005. Recruitment of *CRABS CLAW* to promote nectary development within the eudicot clade. **Development** 132 (22): 5021-5032.
- LOPES, A. V. & MACHADO, I. C. 1998. Floral biology and reproductive ecology of *Clusia nemorosa* (Clusiaceae) in northeastern Brazil. **Pl. Syst. Evol.** 213:71-90.
- LOPES, B. C. 2008. Anatomia, desenvolvimento da flor e estudo palinológico de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- MACHADO, S. R. & CARMELLO-GUERREIRO, S. M. 2001. Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Acta bot. bras.** 15 (2): 189-195.
- MACLEAN, R. C. & IVIMEY-COOK, W. R. 1952. **Textbook of practical botany**. 5a ed., London: Longmans Greenands Co., 476 p. il.
- MAFFI, L.; CAMONI, R.; BARONI-FORNASIERO, L. & BIANCHI, A. 2005. Morphology and development of secretory structures in *Hypericum perforatum* and *H. richeri*. **Nord. J. Bot.** 23: 453-461
- MAHESHWARI, P. 1948. The angiosperm embryo sac. **The Botanical Review** 14 (1): 1-56.
- MARSAIOLI, A. J.; PORTO, A. L. M.; GONÇALVES, R. A. C.; OLIVEIRA, C. M. A.; MANFIO, G. P. & BITTRICH, V. 1999. The Ecosystem of Microorganisms, Bees, and *Clusia* Floral Resin and Oils, from the Chemistry Point of View. **IUPAC**. Disponível em: <http://www.iupac.org/symposia/proceedings/phuket97/marsaioli.html>.

- MARTIN, F. W. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain Technol.** 34: 125-128.
- MATALLANA, G.; WENDT, T.; ARAUJO, D. S. D.; SCARANO, F. R.. 2005. High abundance of dioecious plants in a tropical coastal vegetation. **American Journal of Botany** 92 (9): 1513-1519.
- MATZK, F.; MEISTER, A.; BRUTOVSKÁ, R. & SCHUBERT, I. 2001. Reconstruction of reproductive diversity in *Hypericum perforatum* L. opens novel strategies to manage apomixis. **The Plant Journal** 26 (3): 275-282.
- MATZK, F.; HAMMER, K. & SCHUBERT, I. 2003. Coevolution of apomixis and genome size within the genus *Hypericum*. **Sex Plant Reprod** 16: 51-58.
- MAYER, S. S. & CHARLESWORTH, D. 1991. Cryptic dioecy in flowering plants. **Tree** 6 (10): 320-325.
- MELZER, R.; WANG, Y. Q. & THEISSEN, G. 2010. The naked and the dead: The ABCs of gymnosperm reproduction and the origin of the angiosperm flower. **Seminars in Cell & Developmental Biology** 21: 118-128.
- METCALFE, C. R. & CHALK, L. 1950. Anatomy of dicotyledones (1). **Clarendon Press**, Oxford.
- MORAES, I. C. R.; PINTO-MAGLIO, C. A. F. & LOMBELLO, R. A. 2009. Reproductive biology and cytology of *Hypericum brasiliense* Choisy (Hypericaceae). **Revista Brasil. Bot.** 32 (3): 539-544.
- NOGUEIRA, P. C. L.; MARSAIOLI, A. J.; AMARAL, M. C. E. & BITTRICH, V. 1998. The fragrant floral oils of *Tovomita* species. **Phytochemistry** 49 (4): 1009-1012.
- NICOLSON, S. W.; NEPI, M. & PACINI, E. 2007. Nectaries and nectar. Netherlands, **Springer**, 395 p.
- NÜRK, N. M. & BLATTNER, F. R. 2010. Cladistic analysis of morphological characters in *Hypericum* (Hypericaceae). **TAXON** 59 (5): 1495-1507.
- OLIVEIRA, P. E. A. M. & SAZIMA, M. 1990. Pollination biology of two species of *Kielmeyera* (Guttiferae) from Brazilian cerrado vegetation. **Pl. Syst. Evol.** 172: 35-49.
- ORMOND, W. T.; PINHEIRO, M. C. B.; LIMA, H. A.; CORREIA, M. C. R. & CASTRO, A. C. 1991. Sexualidade das plantas da restinga de Maricá, RJ. **Boletim do Museu Nacional. Nova Série Botânica** 87: 1-24.
- PAIVA, E. A. S. & MACHADO, S. R. 2006. Colleters in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) ontogenesis, ultrastructure and secretion. **Braz. J. Biol.** 66 (1B): 301-308.
- PANGSUBAN, S.; BAMROONGRUGSA, N.; KANCHANAPOOM, K. & NUALSRI, C. 2007. An evaluation of the sexual system of *Garcinia atroviridis* L. (Clusiaceae), based on reproductive features. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 29 (6): 1457-1466.

- PELAZ, S.; DITTA, G. S.; BAUMANN, E.; WISMAN, E. & YANOFISKY, M. F. 2000. B and C floral organ identity functions require *SEPALLATA* MADS-box genes. **Nature** 405: 200-203.
- PIMENTEL, R. R. 2010. Anatomia e desenvolvimento da flor de *Eugenia neonitida* Sobral (Myrtaceae). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- QUINT, M. & CLAßEN-BOCKHOFF. 2006. Floral ontogeny, petal diversity and nectar uniformity in Bruniaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 150, 459-477.
- RAMAGE, C. M.; SANDO, L. PEACE, C. P.; CARROLL, B. J. & DREW, R. A. 2004. Genetic diversity revealed in the apomictic fruit species *Garcinia mangostana* L. (mangosteen). **Euphytica** 136 (1): 1-10.
- RENNER, S. S. & FEIL, J. P. 1993. Pollinators of tropical dioecious angiosperms. **Am. J. Bot.** 80 (9): 1100-1107.
- RICHARDS, A. J. 1986. **Plant Breeding Systems**. Allen & Unwin (publishers) Ltda. 529 p.
- RICHARDS, A.J. 1990. Studies in *Garcinia*, dioecious tropical forest trees: agamospermy. **Bot. Journ. Linn. Soc.** 103: 233-250.
- RICHARDS, A. J. 1990a. Studies in *Garcinia*, dioecious tropical forest trees: the phenology, pollination biology and fertilization of *G. hombroniana* Pierre. **Bot. Journ. Linn. Soc.** 103: 251-261.
- RICHARDS, A. J. 2003. Apomixis in flowering plants: an overview. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B** 358: 1085-1093.
- RONSE DE CRAENE, L. P. & SMETS, E. 1991. Androecium and floral nectaries of *Harungana madagascariensis* (Clusiaceae). **Pl. Syst. Evol.** 178: 179-194.
- RUHFEL, B. R.; BITTRICH, V.; BOVE, C. P.; GUSTAFSSON, M. H. G.; THOMAS-PHILBRICK, C.; RUTISHAUSER, R.; XI, Z. & DAVIS, C. C. 2011. Phylogeny of the clusioid clade (Malpighiales): evidence from the plastid and mitochondrial genomes. **Am. J. Bot.** Disponível em <http://www.amjbot.org/cgi/content/abstract/ajb.1000354v1>
- RUTISHAUSER, R.; PFEIFER, E.; NOVELO, R. A. & PHILBRICK, C. T. 2005. *Diamantina lombardii* - an odd Brazilian member of the Podostemaceae. **Flora** 200: 245-255.
- SÁ-HAIAD, B.; TORRES, C. A.; ABREU, V. H. R.; MENDONÇA, C. B. F.; SANTIAGO-FERNANDES, L. D. R.; BOVE, C. P. & GONÇALVES-ESTEVES, V. 2010. Floral structure and palynology of *Podostemum weddellianum* (Podostemaceae: Malpighiales). **Plant Systematics and Evolution** 290: 141-149.
- SANDWITH, N. Y. 1936. Contributions to the flora of tropical America: XXVI. **Bulletin of Miscellaneous Information (Royal Gardens, Kew)** 36 (3): 210-221.
- SCHALLAU, A.; ARZENTON, F.; JOHNSTON, A. J.; HÄHNEL, U.; KOSZEGI, D.; BLATTNER, F. R.; ALTSCHMIED, L.; HABERER, G.; BARCACCIA, G. & BÄUMLEIN,

- H. 2010. Identification and genetic analysis of the APOSPORY locus in *Hypericum perforatum* L. **The Plant Journal** 62: 773-784.
- SILVA, R. C. P. 2005. Estudos Reprodutivos em *Garcinia brasiliensis* Mart. na Restinga de Maricá, RJ. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- SILVA, L. C.; OLIVA, M. A.; AZEVEDO, A. A.; ARAÚJO, J. M. & AGUIAR, R. M. 2005. Micromorphological and anatomical alterations caused by simulated acid rain in restinga plants: *Eugenia uniflora* and *Clusia hilariana*. **Water, Air, and Soil Pollution** 168: 129-143.
- SILVEIRA, M. 1998. Preparo de amostras biológicas para microscopia eletrônica de varredura. In: Souza, W. DE (ed.), **Técnicas Básicas de Microscopia Eletrônica Aplicada às Ciências Biológicas**. Rio de Janeiro, Sociedade Brasileira de Microscopia: 33-34.
- SIMPSON, B.B. & NEFF, J. L. 1983. Evolution and diversity of floral rewards. In: JONES, C. E. & LITTLE, R. J. (Eds.) **Handbook of experimental pollination biology**. Van Nostrand Reinhold Company Inc. New York. pp. 142-159.
- SOLTIS, D. E.; CHANDERBALI, A. S.; KIM, S.; BUZGO, M. & SOLTIS, P. S. 2007a. The ABC Model and its Applicability to Basal Angiosperms. **Annals of Botany** 100: 155-163.
- SOLTIS, D. E.; MA, H. ; FROHLICH, M. W. ; SOLTIS, P. S. ; ALBERT, V. A. ; OPPENHEIMER, D. G. ; ALTMAN, N. S. ; PAMPHILIS, C. & LEEBENS-MACK, J. 2007b. The floral genome: an evolutionary history of gene duplication and shifting patterns of gene expression. **Trends in Plant Science** (12) 8: 358-367.
- SOUZA, V. C. & LORENZI, H. 2008. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2ª edição. Ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 704 p.
- STEVENS, P.F. 2007a. Clusiaceae-Guttiferae in KUBITZSKI, K. (ed.). **The families and genera of vascular plants**, Springer, v. 9, 509p.
- STEVENS, P. F. 2007b. Hypericaceae. in KUBITZSKI, K. (ed.). **The families and genera of vascular plants**, Springer, v. 9, 509p.
- SWEENEY, P. W. 2008. Phylogeny and floral diversity in the genus *Garcinia* (Clusiaceae) and relatives. **Int. J. Plant. Sci.** 169 (9): 1288-1303.
- SWEENEY, P. W. 2010. Floral anatomy in *Garcinia nervosa* and *G. xanthochymus* (Clusiaceae): A first step toward understanding the nature of nectaries in *Garcinia*. **Bulletin of the Peabody Museum of Natural History** 51(2): 157-168.
- TOKUOKA, T. & TOBE, H. 2006. Phylogenetic analyses of Malpighiales using plastid and nuclear DNA sequences with particular reference to the embryology of Euphorbiaceae sens. str. **J. Plant. Res.** 119: 599-616.
- TABOGA S. R. & VILAMAIOR P. S. L. 2001. **Citoquímica** in Carvalho H. F., Recco-Pimentel S. M. (eds.). A célula. Barueri: Manoli Ltda.

- THEISSEN, G. 2001. Development of floral organ identity: stories from the MADS house. **Current Opinion in Plant Biology** 4: 75-85
- THOMAZ, V. 1991. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. **Annals of Botany** 68: 287-305.
- TIPPERY, N. P.; PHILBRICK, C. T.; BOVE, C. P. & LES, D. H. Systematics and phylogeny of neotropical riverweeds (Podostemaceae: Podostemoideae) (no prelo).
- VESQUE, J. 1893. Epharmosis, sive materiae ad instruendam anatomiam - Systematis naturalis. **Pars Prima** 421p.
- WEITZMAN, A. L.; KUBITZKI, K.; & STEVENS P.F. 2007. Bonnetiaceae. In: KUBITZSKI, K. (ed.). **The families and genera of vascular plants**, Springer, v. 9, 509p.
- WHITTON, J.; SEARS, C.J.; BAACK, E.J. & OTTO, S.P. 2008. The dynamic nature of apomixis in the Angiosperms. **Int. J. Plant Sci.** 169 (1):169-182.
- WU, H. M. & CHEUNG, A. Y. 2000. Programmed cell death in plant reproduction. **Pl. Molec. Biol.** 44: 267-281.
- WURDACK, K. J. & DAVIS, C. C. 2009. Malpighiales phylogenetics: gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the Angiosperm tree of life. **American Journal of Botany** 96(8): 1551-1570.