



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

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

Prospecção da diversidade do gineceu
e das estruturas secretoras associadas em Myrteae
(Myrtaceae): inferências sobre a evolução de
caracteres.

Rafael Ribeiro Pimentel

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

Rio de Janeiro
2013

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

Prospecção da diversidade do gineceu e das estruturas secretoras associadas em Myrteae (Myrtaceae): inferências sobre a evolução de caracteres.

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

**Rafael Ribeiro Pimentel
2013**

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

Prospecção da diversidade do gineceu e das estruturas secretoras associadas em Myrteae (Myrtaceae): inferências sobre a evolução de caracteres.

Rafael Ribeiro Pimentel

Tese de Doutorado 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 Doutor em Ciências Biológicas (Botânica).

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

Rio de Janeiro

2013

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


Prospecção da diversidade do gineceu e das estruturas secretoras associadas em Myrteae (Myrtaceae): inferências sobre a evolução de caracteres.

Rafael Ribeiro Pimentel

Aprovada por:


Dra. Lygia Dolores Ribeiro de Santiago Fernandes (Presidente)


Dra. Silvia Rodrigues Machado


Dra. Alessandra Ike Coan


Dra. Cláudia Petean Bove


Dra. Bárbara de Sá Haiad

Rio de Janeiro
2013

FICHA CATALOGRÁFICA

P644 Pimentel, Rafael Ribeiro.
Prospecção da diversidade do gineceu e das estruturas secretoras associadas em Myrteae (Myrtaceae): inferências sobre a evolução de caracteres / Rafael Ribeiro Pimentel. Rio de Janeiro: UFRJ/MN, 2013. xiv, 141 f.: il. color. ; 30 cm.

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

Tese (Doutorado) – Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Programa de Pós-Graduação em Botânica, 2013. Inclui bibliografia.

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

CDD 583.42

À minha mãe Rosa,
à minha esposa Samara
e ao meu filho Pedro.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Profa. Dr^a. Lygia Dolores Ribeiro de Santiago Fernandes e Prof. Dr. Joecildo Francisco Rocha, pela paciência, pela dedicação e respeito demonstrados durante todo o curso.

À Lygia, por nunca desistir de me tornar mais objetivo, enquanto me instigava sempre a pensar mais alto e além, e por me ensinar que na natureza nem tudo é tão certo quanto parece.

Ao Joel, por nunca desistir de me tornar mais abrangente, enquanto me instigava sempre a colocar os pés no chão, e por me ensinar que se uma coisa parece certa, é por que é certa.

À dupla Lygia & Joel. Por serem as melhores referências que eu poderia ter em matéria de caráter, ética, inteligência e sabedoria. Cada um na medida exata contribuiu para minha formação acadêmica, profissional, para a minha percepção do mundo, para o mosaico que compõe minha atual gama de conhecimentos. Suas preocupações nunca foram apenas com o orientado Pimentel, R.R., mas também com a pessoa Rafael e seu bem estar. Além do mais, que outra dupla poderia ter realizado um sonho da minha infância?

À Dr^a. Bárbara de Sá Haiad, pela eterna coorientação “*honoris causa*”, pela companhia nas viagens e por algumas fotografias das inflorescências.

Ao Dr. Vidal de Freitas Mansano do Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pelo acompanhamento desde a seleção do projeto até a revisão desta tese.

Ao Dr. Marcelo da Costa Souza pela identificação das espécies estudadas, pelas informações e pela parceria nos trabalhos presentes e futuros.

À Dr^a Silvia Rodrigues Machado, pelo acolhimento e pela atenção dispensada durante a parte do trabalho desenvolvida na UNESP de Botucatu e por tornar possíveis as sessões de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Ao MSc. Daniel Leal, pelo companheirismo, querido irmão de todas as horas boas e más.

À Nathane Cardin, por ser meu braço direito, peça fundamental neste trabalho e por me aturar mesmo quando fui rabujento e por sorrir sempre nestes momentos.

À Diego Spala e Natália Barreira pela parceria e troca de informações durante todo o desafiador trabalho com as Myrtaceae.

À Raiza, Patrícia, Rosa, Pâmela, pela confecção das lâminas.

À Isabella Haddad, Max Barbosa, pela amizade e momentos de trabalho e risadas.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) pela eficiência.

Ao Museu Nacional, pela oportunidade.

Aos funcionários do Museu Nacional, pela presteza.

Ao Departamento de Botânica da UFRuralRJ, por ter permitido que parte desta pesquisa fosse realizada em suas instalações.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da UNESP, Botucatu-SP, pelo apoio nas sessões de microscopia eletrônica de transmissão.

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

À Rosa Maria Ribeiro Pimentel, por ser a melhor mãe que alguém poderia ter.

À Samara dos Santos Pimentel, pela cumplicidade na vida e por ser o sustento em cada momento difícil.

Ao Pedro dos Santos Pimentel, por ser minha nova fonte de inspiração.

Aos meus Irmãos, pelo apoio e incentivo.

À todos aqueles que cumprem seu papel. Os que fazem o que deve ser feito. Não falo dos que superam as expectativas e fazem além do necessário, se entregando de corpo e alma ao trabalho. Dirijo-me aos que tão somente honram com seus deveres, cientes do seu papel na sociedade e da importância que é estar no local que ocupam. Falo de boa vontade, ética e compromisso. Falo ao que, conhece seu ofício e a conveniência de se saber do que está falando. Em especial àqueles que hão de mudar a cara do serviço público no Brasil, eu agradeço pelo palho de luz lançado sobre a penumbra da ineficiência e por me incentivarem a seguir confiante na direção de um horizonte que já se vislumbra, onde o público pertence a todos, ao invés de a ninguém.

RESUMO

A identificação das espécies de Myrteae é considerada difícil devido a semelhança de seus caracteres morfológicos. Caracteres do gineceu são considerados potencialmente relevantes para a sistemática de Myrtaceae. No entanto, na literatura atual, apenas dois destes caracteres foram analisados a partir de uma abordagem evolutiva. A presença de coléteres é uma sinapomorfia de Myrtales. No entanto, não há descrições morfológicas e histoquímicas de tais estruturas para as espécies de Myrtaceae. Analisamos aqui a ontogenia e anatomia do gineceu combinadas com a ontogenia, anatomia, ultraestrutura e histoquímica das estruturas secretoras de doze espécies de Myrteae e dois representantes do grupo externo, a fim de mapear seus estados no cladograma e compreender a evolução destes caracteres na tribo. Nossas descobertas podem ajudar a elucidar a história evolutiva dessa tribo produtora de frutos carnosos que são importantes para a manutenção do equilíbrio ecológico nas florestas tropicais. A anatomia, ontogênese floral e das estruturas secretoras foram analisadas usando microscopias de luz e eletrônica de varredura. Foram realizadas análises histoquímicas e ultraestruturais das estruturas secretoras. Para mapear os caracteres foi utilizado o critério de parcimônia através do programa Mesquite versão 2.71. Os caracteres estruturais aqui analisados fornecem uma visão geral da evolução do gineceu e das estruturas secretoras das Myrteae sul-americanas, bem como sinapomorfias para os clados *Plinia* + *Myrcia* e *Pimenta* + *Eugenia*. Detectamos duas possibilidades de origem para a placenta: caulinar ou carpelar. Esta variação é apresentada pela primeira vez para a família assim como a correlação inesperada entre a ocorrência de coléteres e a vascularização da placenta. Os dados relativos à diversidade estrutural do gineceu da tribo Myrteae lançam um novo olhar sobre suas flores morfológicamente uniformes. Do ponto de vista reprodutivo, a presença de dois tegumentos protegendo os óvulos, além de esclereídes e coléteres protegendo o gineceu e o fruto jovem, garantem o sucesso da tribo nas florestas tropicais onde seus frutos carnosos são componentes importantes da dieta de pássaros e mamíferos assegurando a manutenção do equilíbrio ecológico destes ambientes.

ABSTRACT

Identification of Myrteae species is considered difficult because many morphological characters are similar among species. Characters of the gynoecium are considered potentially relevant for the systematics of Myrtaceae. However, only two such characters have been addressed from an evolutionary perspective. Colleter presence is a synapomorphy of Myrtales. However, no morphological and histochemical descriptions of such structures have been done in Myrtaceae. Here we analyzed the ontogeny, anatomy, ultrastructure, and histochemistry of the colleters, combined with analysis of the ontogeny and anatomy of the gynoecium, to study the evolution of these characters and map their states in the Myrteae phylogenetic tree. Our findings may help elucidate the evolutionary history of this tribe of fleshy-fruit producers so relevant towards maintaining ecological balance in the rainforest. Floral anatomy and ontogeny were analysed using light microscopy. Secretor structures samples were processed using standard methods for light and transmission electron microscopy. The main metabolites in the secretor structures were detected via histochemistry. To map character states the program Mesquite version 2.71 was used. The morphological characters here analysed provide an overview of the evolution of gynoecium characters and secretor structures of the South American Myrteae, as well as synapomorphies for the clades *Plinia* + *Myrcia* and *Eugenia* + *Pimenta*. We detected two possibilities of origin for the placenta—cauline or carpellate—and also found an unexpected correlation among colleters and placenta vasculature. Our findings regarding gynoecium structural diversity of the tribe Myrteae give a new insight on their morphologically uniform flowers. The presence of two integuments protects the ovules. Sclereids and colleters protect the gynoecium and the young fleshy fruit assuring the efficient dispersal of their seeds.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I- Diversidade estrutural do gineceu na tribo Myrteae DC

Figura 1: Locais de coleta	28
Figura 2: Inflorescências I	29
Figura 3: Inflorescências II	30
Figura 4: Morfologia da inflorescência e da flor	31
Figura 5: Organogênese dos verticilos reprodutivos	32
Figura 6: Estabelecimento do gineceu	33
Figura 7: Eixo caulinar.....	34
Figura 8: Origem da placenta	35
Figura 9: Placentação	36
Figura 10: Primórdio dos óvulos.....	37
Figura 11: Tegumentos e megasporócito	38
Figura 12: Meiose e estabelecimento do megásporo funciona	39
Figura 13: Posição do ovário.....	40
Figura 14: Parede do ovário	41
Figura 15: Estigma e tecido transmissor	42
Figura 16: Fenda no tecido transmissor	43
Figura 17: Comunicação entre os lóculos	44
Figura 18: Saco embrionário	45
Figura 19: Óvulos com dois sacos embrionários.....	46
Figura 20: Vascularização do hipanto	47
Figura 21: Vascularização da placenta - Feixes caulinar	48
Figura 22: Vascularização da placenta - Feixes transeptais	49
Figura 23: Vascularização do estilete.....	50
Figura 24: Esclereídes	51

CAPÍTULO II- Estruturas secretoras do eixo reprodutivo da tribo Myrteae DC. (Myrtaceae).

Figura. 1: Hábito I.....	80
Figura. 2: Hábito II.....	81
Figura. 3: Ocorrência.....	82
Figura. 4: Origem da cavidades	83
Figura. 5: Desenvolvimento das cavidades	84
Figura. 6: Cavidades maduras	85
Figura. 7: Ultraestrutura do epitélio secretor	86
Figura. 8: Ultraestrutura da bainha.....	87
Figura. 9: Histoquímica das cavidades.....	88
Figura. 10: Coléteres.....	89
Figura. 11: Anatomia dos coleteres.....	90
Figura. 12: Ultraestrutura dos coléteres I	91
Figura. 13: Ultraestrutura dos coléteres II	92
Figura. 14: Histoquímica dos coléteres e idioblastos	93
Figura. 15: Nectários	94

CAPÍTULO III- Diversidade do gineceu e das estruturas secretoras associadas em Myrteae (Myrtaceae): inferências sobre a evolução de caracteres.

Figura.. 1: Carpelos.....	123
Figura.. 2: Origem da placenta	124
Figura.. 3: Número de feixes do hipanto	125
Figura.. 4: Vascularização da placenta	126
Figura.. 5: Origem do ovário ínfero.....	127
Figura.. 6: Esclereídes	128
Figura.. 7: Número de óvulos por lóculo.....	129
Figura.. 8: Número de tegumentos.....	130
Figura.. 9: Coléteres.....	131
Figura.. 10: Osmóforo	132

LISTA DE TABELAS E QUADROS

INTRODUÇÃO

Quadro 1: Quadro sinóptico das mudanças na sistemática da família Myrtaceae . 7

Tabela 1: Caracteres do gineceu utilizados em estudos filogenéticos 8

CAPÍTULO I

Tabela 1: Espécies, local de coleta, origem, hábitat e voucher 20

CAPÍTULO II

Tabela 1: Resultado dos testes histoquímicos nas cavidades secretoras..... 75

Tabela 2: Resultado dos testes histoquímicos nos coléteres..... 76

Tabela 3: Resultado dos testes histoquímicos nos idioblastos..... 77

Tabela 4: Resultado dos testes histoquímicos nos nectários 78

Tabela 5: Estruturas secretoras ocorrentes no eixo reprodutivo.....79

CAPÍTULO III

Tabela 1: Espécies herborizadas utilizadas no presente trabalho com seus respectivos, locais de coleta e voucher..... 120

Tabela 2: Matriz de caracteres utilizada para o mapeamento por espécies..... 121

Tabela. 3: Matriz de caracteres utilizada para o mapeamento por grupos 122

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS E QUADROS	xiii
1 Introdução.....	1
Referências.....	9
2. Diversidade estrutural do gineceu na tribo Myrteae DC.....	14
2.1 Introdução.....	14
2.2 Material e métodos	18
2.3 Resultados.....	21
2.4 Discussão	52
2.5 Conclusões	59
2.6 Referências.....	60
3. Estruturas secretoras do eixo reprodutivo da tribo Myrteae DC. (Myrtaceae).	67
3.1 Introdução.....	67
3.2 Material e métodos	70
3.3 Resultados.....	71
3.4 Discussão	95
3.5 Conclusões	104
3.6 Referências.....	105
4. Diversidade do gineceu e das estruturas secretoras associadas em Myrteae (Myrtaceae): inferências sobre a evolução de caracteres.....	115
4.1 Introdução.....	115
4.2 Material e métodos	117
4.3 Resultados.....	119
4.4 Discussão	133
4.5 Conclusões	136
4.6 Referências.....	137
5 Considerações finais	139

1 Introdução

Myrtaceae Juss. apresenta distribuição geográfica pantropical e abrange 132 gêneros e 5.774 espécies tendo como principais centros de diversidade a América Tropical, a Austrália e o sudeste da Ásia (Wilson *et. al.*, 2001; Govaerts *et al.*, 2011). As espécies de Myrtaceae são consideradas um dos principais componentes das florestas tropicais, onde desempenham importante papel na cadeia alimentar produzindo frutos carnosos que são consumidos por muitos grupos de animais como pássaros, raposas, morcegos, roedores, e macacos (Lughadha & Proença, 1996).

Os representantes de Myrtaceae (*sensu* Wilson *et al.*, 2005) possuem tronco esfoliante, folhas opostas ou alternas, inteiras com glândulas que podem ou não conter óleos voláteis - em geral terpenos. As inflorescências são do tipo panícula ou reduções desta que levaram à formação de racemo, dicásio ou uma única flor (Briggs & Johnson, 1979; Wilson 2011). As flores são uni ou bissexuais (Wilson *et. al.*, 2005; Wilson 2011) com cálice imbricado e corola frequentemente caduca (Stevens, 2001). Os estames são geralmente numerosos com anteras tetra ou biloculares (Wilson *et. al.*, 2005), apresentando uma cavidade secretora apical (Stevens, 2001). O ovário varia de ínfero a semi-ínfero com óvulos bi ou monosporados apresentando respectivamente saco embrionário do tipo *Allium* ou *Polygonum* (Wilson *et. al.*, 2005; Wilson 2011). Os frutos são carnosos, cápsulas ou secos indescentes. (Wilson 2011).

As espécies de Myrtaceae são comumente utilizadas na indústria madeireira (*Eucalyptus* - “eucalipto”), na fabricação de cosméticos (*Melaleuca alternifolia* - “árvore do chá”), na medicina popular (*Psidium guajava* - “goiaba”) ou consumidas como especiarias (*Syzygium aromaticum* - “cravo-da-índia”), sucos, doces, chás ou frutas *in natura* (*Syzygium jambos* - “maçã rosa”, *Plinia cauliflora* - “jaboticaba”, *Eugenia uniflora* - “pitanga”) (Francis, 1990; Priest, 1999; Banerjee *et. al.*, 2006; Souza & Morim, 2008; Fortes *et. al.* 2011).

No Brasil ocorrem 24 gêneros e 927 espécies de Myrtaceae, caracterizando-se como uma das famílias mais representativas na flora do país,

estando presente nos domínios Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Sobral *et al.*, 2011). As espécies brasileiras de Myrtaceae pertencem à tribo Myrteae DC. e formam um grupo filogeneticamente coeso (Souza *et al.*, 2007).

Apesar de bem delimitada, Myrtaceae apresenta problemas na circunscrição de grupos infrafamiliares. Candolle (1828) dividiu inicialmente a família com base no tipo de fruto em três tribos – Myrteae DC, Leptospermeae DC. e Chamelaucieae DC. que incluíam gêneros com, respectivamente, frutos carnosos multiloculares, secos multiloculares e secos com um único lóculo. Esta classificação, com pequenas variações, permaneceu vigente até o final do século XX quando Kausel (1956, 1966 *apud* Lucas *et al.* 2007) propôs uma divisão de Myrtaceae (*sensu* Candolle) em dois grupos: 1- Leptospermaceae, contendo as espécies subordinadas por Candolle às tribos Leptospermeae, Chamelaucieae e parte de Myrteae e 2- Myrtaceae, abrangendo apenas as espécies atualmente pertencentes a tribo Myrteae e divididas em dois grupos e cinco subfamílias, com base no tipo de germinação. Em 1979, Johnson & Briggs propuseram a divisão em duas subfamílias – Myrtoideae e Leptospermoideae-, com subdivisões em alianças e subalianças baseadas em caracteres florais. Neste trabalho os autores apresentam a primeira proposta para as relações filogenéticas dentro da família. A classificação mais amplamente aceita até o início do século XXI, foi proposta por Niedenzu (1898 *apud* Wilson *et al.* 2005) e divide Myrtaceae em duas subfamílias. *Leptospermoideae*, com frutos secos e distribuição paleotropical e *Myrtoideae* com frutos carnosos e com a maioria das espécies ocorrendo na América do Sul (Briggs & Johnson, 1979; Schmid, 1980; Wilson *et al.* 2001, 2005; Lucas *et al.* 2005, 2007).

O primeiro estudo filogenético realizado para a família foi apresentado por Johnson & Briggs (1984), utilizando caracteres morfológicos e anatômicos. No século XXI, dados morfológicos e moleculares combinados em análise cladística (Wilson *et al.* 2001) levaram ao reconhecimento do monofiletismo da família e à proposição de redefinição dos táxons infrafamiliares, dada a inconsistência dos caracteres tradicionalmente utilizados nas delimitações. O fruto carnoso teve revelada sua origem em três momentos distintos da evolução da família, deixando

de ser, portanto, confiável como caráter taxonômico (Wilson *et al.*, 2001). Na proposta mais recente (Wilson *et al.*, 2005), os gêneros anteriormente pertencentes às famílias Chamelauciaceae F. Rudolphi, Heteropyxidaceae Engl. & Gilg, Kaniaceae Nakai, Leptospermaceae F. Rudolphi, Melaleucaceae Vest, Myrrhniaceae Arn. e Psiloxylaceae Croizat, passam a integrar a família Myrtaceae *sl.*, dividida em duas subfamílias: *Myrtoideae* com quinze tribos e *Psiloxylloideae* com duas tribos (Quadro 1).

A tribo Myrteae teve sua circunscrição e monofiletismo estabelecidos por Wilson *et al.* (2005). Posteriormente, Lucas e colaboradores (2007) estabeleceram as relações infratribais. Estes autores indicaram, para os representantes sul-americanos da tribo, a presença de seis clados correspondentes aos grupos informais “*Plinia*”, “*Myrcia*”, “*Myrceugenia*”, “*Myrteola*”, “*Pimenta*” e “*Eugenia*” (Anexo A). No momento, há a tendência entre especialistas do grupo de sinonimizar alguns gêneros estruturalmente semelhantes, separados apenas por um ou dois caracteres morfológicos dentro destes grupos (Marcelo da Costa Souza, comunicação pessoal). No clado “*Myrcia*”, recentemente, análises moleculares indicaram a reunião dos gêneros componentes (*Gomidesia*, *Marlierea* e *Calyptranthes*), que passaram a ser considerados como linhagens de “*Myrcia sl.*” (Lucas *et al.* 2011). Os especialistas da família apontam para um quadro semelhante no grupo *Plinia* e no grupo *Eugenia*. (Marcelo da Costa Souza, comunicação pessoal).

O trabalho de identificação das espécies de Myrteae é considerado difícil e tedioso, além de requerer muita coragem (Bentham 1869) em razão da maioria de seus caracteres se mostrarem semelhantes na maioria das espécies (McVaugh, 1963; Kawasaki, 1989; Proença, 1990). Barroso & Peixoto (1995) atribuíram as referidas dificuldades taxonômicas não apenas ao que denominam de “forte paralelismo filogenético”, mas também às diferentes interpretações morfológicas dos caracteres e às coleções pouco representativas em relação à variabilidade e à distribuição geográfica das espécies. As análises moleculares que trouxeram novas contribuições à compreensão da história evolutiva dos seres vivos em geral (Palmer *et al.*, 2004) e das plantas em particular (Friedman *et al.*, 2004; APG III, 2009) têm sido acompanhadas, nos últimos anos, por reavaliações morfológicas

de grupos-chave que vêm permitindo reconstruções de caracteres ancestrais e apontando aqueles filogeneticamente informativos. A homoplasia dos caracteres morfológicos em Myrtaceae tem sido relacionada à rápida e recente diversificação da família (Landrum, 1981; Wilson, 2001). Análises biogeográficas apontam para a ocorrência da diversificação das linhagens basais australianas entre 80 e 30 milhões de anos atrás, tendo o grupo Myrtoid passado por uma rápida radiação há cerca de 56 milhões de anos tanto na América do Sul como na Australasia (Sytsma *et al.*, 2004).

Schönenberger & Balthazar (2006) descrevem a importância da utilização de caracteres morfológicos e anatômicos para auxiliar em estudos filogenéticos, principalmente no clado Rosid - Eudicotiledônea core - (APG III, 2009), no qual Myrtales está inserida. Como exemplos deste tipo de abordagem, para análises do eixo reprodutivo de integrantes da ordem, podem ser citados os estudos do desenvolvimento floral em Vochysiaceae A. St.-Hil. (Myrtales) (Litt & Stevenson, 2003 a, b) que ajudou a esclarecer os caminhos evolutivos do gineceu e do androceu nesta família; o estudo da diversidade morfológica das anteras no gênero *Verticordia* DC. (Myrtaceae) (Ladd *et al.*, 1999) gerando hipóteses sobre a evolução destas estruturas, as investigações sobre a estrutura do pistilo de *Leptospermum myrsinoides* Schtdl. e *L. continentale* J. Thompson (Myrtaceae) (O'brian, 1994); e a ontogenia do óvulo em representantes do grupo "Eucalypt" (Myrtaceae) (Bohte & Drinnan, 2005). Merece destaque o fato de que nestas análises poucos representantes da flora neotropical foram incluídos, notadamente os da tribo Myrteae (Gomes *et al.*, 2009).

Aproximadamente quinze caracteres estruturais do gineceu são considerados importantes para os estudos filogenéticos de Myrtaceae (ver Tab. 1), No entanto apenas dois, o número de óvulos e a placentação, foram estudados levando-se em consideração as relações evolutivas entre as espécies (Lucas *et al.*, 2007). Tendo em vista os indícios de que há muito mais variação do que a registrada na literatura, o gineceu em especial, dado o caráter epígino da flor, requer uma análise detalhada, de modo a se estabelecer o número de carpelos, a natureza da placentação, o padrão da vascularização e o tipo de ovário. A análise da evolução destes caracteres pode ser relevante para a

compreensão das relações dentro de Myrteae e Myrtaceae.

Além do gineceu, a organização anatômica das estruturas secretoras (Judd *et al.*, 2009), associada ao estudo da composição química da secreção e aos aspectos do desenvolvimento e da ultraestrutura das suas células vem sendo utilizada para auxiliar a compreensão das relações entre as angiospermas (Fahn, 1979, 1988; Thomas, 1991; Machado, 2000; Judd *et al.*, 2009).

Os dados anatômicos de Lopes (2008) e Pimentel (2010) revelaram a presença de coléteres do tipo filiforme protegendo os meristemas vegetativos e florais de *Eugenia neonitida* e *E. uniflora*. Nestas espécies os coléteres têm origem e estrutura semelhantes. Os autores descrevem ainda processos diferentes de formação do lume para as cavidades secretoras das espécies. Processos esquizógeno e esquizolisígeno são atribuídos à *E. neonitida* e *E. uniflora* respectivamente. Estes registros recentes e escassos da ocorrência de coléteres em representantes de Myrteae e a ocorrência de diferentes processos de formação do lume das cavidades secretoras indicam a necessidade de uma investigação mais detalhada da evolução das estruturas secretoras na tribo.

Neste trabalho foram analisadas a ontogenia e a anatomia do gineceu, combinadas à ontogenia, anatomia, ultraestrutura, e histoquímica das estruturas secretoras de representantes da tribo Myrteae a fim de eleger caracteres potencialmente informativos do ponto de vista evolutivo e mapear suas variações sobre a árvore filogenética da tribo. Este estudo pretende auxiliar na compreensão da história evolutiva desta tribo de frutos carnosos, tão importante para a manutenção do equilíbrio ecológico nas florestas tropicais.

Dados da literatura (Lopes, 2008 e Pimentel 2010) e resultados preliminares do estudo da anatomia floral de espécies de Myrteae sugerem que, devido a variações encontradas, alguns caracteres podem ser valiosos para a formulação de análises filogenéticas com maior sustentação e contribuir para um cenário diferente do referido na literatura. Dentre estes caracteres estão como o número de tegumentos do óvulo, o tipo de vascularização da placenta, a composição do septo, o tipo de placentação e a presença e morfologia das estruturas secretoras

Neste contexto o presente trabalho visa ampliar os estudos relativos à estrutura floral de representantes sul-americanos de Myrteae através do mapeamento de caracteres do gineceu e estruturas secretoras associadas sobre análises filogenéticas.

Quadro 1: Quadro sinóptico das mudanças na sistemática de Myrtaceae

Autor	Família	Subfamílias	Subdivisão	
			Tribos (t)/Alianças (a)	Caracteres
Candolle (1828)	Myrtaceae		Myrteae (t) Leptospermeae (t) Chamelaucieae (t)	Tipo de fruto
Niedenzu (1898) *	Myrtaceae		Myrteae (t) Leptospermeae (t)	Tipo de fruto
Kausel (1956)	Myrtaceae Leptospermaceae			Tipo de germinação
Johnson & Briggs (1979)	Myrtaceae	Myrtoidea <hr/> Leptospermoideae	<i>Myrcia</i> (a) <i>Myrtus</i> (a) <i>Cryptorhiza</i> (a) <i>Osbornia</i> (a) <hr/> <i>Meterosideros</i> (a) <i>Heteropyxis</i> (a) <i>Backhousia</i> (a) <i>Eucalyptopsis</i> (a) <i>Eucalyptus</i> (a) <i>Leptospermum</i> (a) <i>Chamelaucium</i> (a)	Anatomia e morfologia do eixo vegetativo e reprodutivo
Schmid (1980)	Myrtaceae	Myrtoidea Leptospermoideae Chamaelaucoideae Psiloxiloideae		Principalmente anatomia e morfologia floral
Wilson <i>et al.</i> (2001, 2005)	Myrtaceae	Myrtoideae <hr/> Psiloxiloideae	Myrteae (t) Xanthostemoneae (t) Lophostemoneae (t) Osbornieae (t) Melaleuceae (t) Kanieae (t) Backhousieae (t) Metrosidereae (t) Tristanieae (t) Syzygieae (t) Eucalypteae (t) Syncarpieae (t) Lindsayomyrteae (t) Leptospermeae (t) Chamelaucieae (t) <hr/> Psiloxyleae (t) Heteropyxideae(t)	Wilson <i>et al.</i> (2001) Moleculares e morfológicos de Johnson & Briggs (1979) Wilson <i>et al.</i> (2005) Moleculares de plastídeo

*divisão tradicionalmente usada por mais de dois séculos

Tabela 1: Caracteres do gineceu utilizados em estudos filogenéticos

Carater	Referência
Ovário estipitado	Johnson & Briggs, 1984
Desenvolvimento posterior exagerado da porção livre do ovário sobre a porção fixa	Johnson & Briggs, 1984
Vascularização transeptal do ovário	Johnson & Briggs, 1984
Redução do estilete	Johnson & Briggs, 1984
Lobo estigmático exagerado	Johnson & Briggs, 1984
Lobo estigmático reduzido	Johnson & Briggs, 1984
Ausência do afundamento da base do estilete	Johnson & Briggs, 1984
Placenta peltada	Johnson & Briggs, 1984
Placentação	Lucas <i>et al.</i> , 2007
Inserção do óvulo	Johnson & Briggs, 1984
Número de óvulos por ovário	Lucas <i>et al.</i> , 2007
Redução do número de fileiras de óvulos na placenta	Johnson & Briggs, 1984
Redução do número de óvulos	Johnson & Briggs, 1984
Modificação na condição anátropo dos óvulos	Johnson & Briggs, 1984
Ovulóides	Johnson & Briggs, 1984

Referências

- Angiosperm Phylogeny Group. 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot J Linn Soc* 161:105–121.
- Banerjee S, Panda CK, Das S. 2006.** Clove (*Syzygium aromaticum* L.), a potential chemopreventive agent for lung cancer. *Carcinogenesis*. **27** (8):1645–1654.
- Barroso GM, Peixoto AL. 1995.** Myrtaceae da Reserva Florestal de Linhares, ES, Brasil – gêneros *Calypttranthes* e *Marlierea*. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão* **3**: 3-38.
- Bentham G. 1869.** Notes on Myrtaceae. *Botanical Journal of Linnean Society Bot.***10**: 101–166.
- Bohte, A. & Drinnan, A. 2005.** Ontogeny, anatomy and systematic significance of ovular structures in the ‘eucalypt group’ (*Eucalypteae*, Myrtaceae). *Plant Systematic and Evolution*. **255**: 17–39.
- Briggs BG, Johnson LAS. 1979.** Evolution in the Myrtaceae-evidence from inflorescence structure. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* **102** (4): 157-256.
- Candolle, AP. De. 1828.** *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis* **3**: 207-296.
- Fahn A. 1979.** *Secretory tissues in plants*. London: Academic Press.
- Fahn A. 1988.** Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* **108**: 229-257.
- Fortes GAC, Naves SS, Godoi FFF, Duarte AR, Ferri PH Santos SC. 2001.** Assesment of a maturity index in jaboticaba fruit by the evaluation of phenolic compounds, essential oil components, sugar content and total acidity. *American Journal of Food Technology*. 6(11): 974-984.
- Francis JK. 1990.** *Syzygium jambos* (L.) Alst. Rose apple. New Orleans, LA. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 506-509.
- Friedman WE, Moore RC, Purugganan MD. 2004.** The evolution of plant development. *American Journal of Botany* **91**(10): 1726–1741.
- Gomes SM, Somavilla NSDN, Gomes-Bezerra KM, Miranda SC, De-Carvalho OS, Graciano-Ribeiro D. 2009.** Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. *Acta botanica brasílica* **23**(1): 223-238.

- Govaerts, R., Sobral, M., Ashton, P., Barrie, F., Holst, B.K., Landrum, L.L., Matsumoto, K., Mazine F., Nic Lughadha, E., Proenca, C. Soares-Silva, L.H., Wilson, P.G. & Lucas, E., 2011.** World Checklist of Myrtaceae. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <<http://apps.kew.org/wcsp/myrtaceae/> accessed>. Acesso em 21 nov.
- Johnson LAS, Briggs BG. 1984.** Myrtales and Myrtaceae – a phylogenetic analysis. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **71** (3): 700–756.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. 2009.** *Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético*. 3ªed. Porto Alegre: Artmed.
- Kawasaki ML. 1989.** Flora da Serra do Cipó, MG, Brasil: Myrtaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* **11**: 121-170.
- Ladd, P. G.; Parnell, J. A. N. & Thomson, G. 1999.** Anther diversity and function in *Verticordia* DC. (Myrtaceae). *Plant Syst. Evol.* **219**: 79-97.
- Landrum LR. 1981.** The phylogeny and geography of *Myrceugenia* (Myrtaceae). *Brittonia* **33**: 105–129.
- Lopes BC. 2008.** Desenvolvimento floral e estudo palinológico de *Eugenia uniflora* L. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Litt A, Stevenson DW. 2003 a.** Floral development and morphology of Vochysiaceae. I. The structure of the gynoecium. *American Journal of Botany* **90** (11): 1533-1547.
- _____ **2003 b.** Floral development and morphology of Vochysiaceae. II. The structure of the gynoecium. *American Journal of Botany* **90** (11): 1548-1559.
- Lucas EJ, Belsham SR, Nic Lughadha EM, Orloyich DA, Sakuragui CM, Chase MW, Wilson PG. 2005.** Phylogenetic patterns in the frash-fruited Myrtaceae – preliminary molecular evidence. *Plant Systematics and Evolution* **251**: 35-51.
- Lucas EJ, Harris SA, Mazine FF, Belsham SR, Nic Lughadha EM, Telford A, Gasson PE, 2007.** Chase MW. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (myrtales). *Taxon* **56** (4):1105-1128.
- Lucas EJ, Matsumotok, Harris SA, Nic Lughadha EM, Benardini B, Chasey MW. 2011.** Phylogenetics, Morphology, and evolution of the large genus *Myrcia* S.L. (Myrtaceae). *International Journal of Plant Science.* **172**(7):915–934.

- Lughadha EN, Proença C. 1996.** survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* **83**:480-503.
- Machado SR. 2000.** Aspectos subcelulares da secreção. *In* Cavalcanti TB, Walter BMT. (coords.). *Tópicos atuais em botânica*: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Sociedade Botânica do Brasil.
- Mcvaugh R. 1963.** Tropical American Myrtaceae II. *Fieldiana, Botany* **29** (8): 393-532.
- O'brian SP. 1994.** Andromonoecy and Fruit Set in *Leptospermum myrsinoides* and *L. continentale* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany* **42**(6): 751 – 762.
- Palmer JD, Soltis DE, Chase MW. 2004.** The plant tree of life: an overview and some points of view. *American Journal of Botany* **91**(10): 1437– 1445.
- Pimentel RR. 2010.** Anatomia e desenvolvimento da Flor de *Eugenia neonitida* Sobral (Myrtaceae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Priest D. 1999.** Tea tree oil in cosmeceuticals: from head to toe. *Med Arom Plants Indust Profiles* **9**: 203–206.
- Proença CEB. 1990.** Revision of *Siphoneugena* Berg. *Edinburgh Journal of Botany* **47** (3): 239-271.
- Schmid R. 1980.** Comparative anatomy and morphology of *Psiloxylon* and *Heteropyxis*, and the subfamilial and tribal classification of Myrtaceae. *Taxon* **29**: 559–595.
- Schönenberger J, Balthazar M von. 2006.** Reproductive structures and phylogenetic framework of the rosids - progress and prospects. *Plant Systematic Evolution* **260**: 87–106.
- Sobral, M., Proença, C., Souza, M., Mazine, F., Lucas, E., 2011.** *Myrtaceae*. Lista de Espécies da Flora do Brasil, Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB000171>>. Acesso em 21 nov. 2011.
- Souza MC, Morim MP, Conde MMS, Menezes LFT. 2007.** Subtribo Myrciinae O. Berg (Myrtaceae) na Restinga da Marambaia, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*. **21**(1): 49-63.
- Souza MC, Morim MP. 2008.** Subtribos Eugeniinae O. Berg e Myrtinae O. Berg (Myrtaceae) na Restinga da Marambaia, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **22**(3): 652-683.

- Stevens PF.** (2001 em diante). Angiosperm Phylogeny Website. versão 9 de Junho de 2008. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. último acesso em 05 de Junho de 2012.
- Sytsma KJ, Litt A, Zjhra ML, Pires JC, Nepokroeff M, Conti E, Walker J, Wilson PG. 2004.** Clades, clocks, and continents: historical and biogeographical analysis of Myrtaceae, Vochysiaceae, and relatives in the Southern Hemisphere. *International Journal Plant Science* **165**(4 Suppl.): S85– S105.
- Thomas V. 1991.** Structural, Functional and phylogenetic Aspects of the Colleter. *Annals of botany* **68**: 287-305.
- Wilson PG. 2011.** Myrtaceae *in*: Kubitzki K. *The Families and Genera of Vascular Plants*, Vol. 10 Flowering Plants Eudicots, 212-271.
- Wilson PG, O'Brien MM, Gadek PA, Quinn CJ. 2001.** Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany* **88**: 2013–2025.
- Wilson PG, O'Brien MM, Helsewood MM, Quinn CJ. 2005.** Relationships within Myrtaceae *sensu lato* based on a *matK* phylogeny. *Plant Systemetics and Evolution* **251**:3-19.

CAPÍTULO I

2. Diversidade estrutural do gineceu na tribo Myrteae DC.

2.1 Introdução

Espécies brasileiras de Myrtaceae estão subordinadas à tribo Myrteae (Souza *et al.* 2007), que abrange 49 gêneros e 2.500 espécies de ocorrência predominantemente neotropical (Lucas *et al.*, 2007) e está representada por árvores ou arbustos com folhas opostas e tricomas simples ou ocasionalmente em forma de “T”. A inflorescência é axilar, por vezes paniculada; o perianto é livre ou com o cálice formando uma caliptra e os estames, livres e numerosos, apresentam anteras versáteis de deiscência rimosa. O ovário é ínfero, bi ou trilobular com vascularização transeptal, placentação axial e óvulos com disposição radial, às vezes pendular. Os frutos são indeiscentes e carnosos (Wilson *et al.*, 2005) cujo aparecimento e evolução estão relacionados à excepcional riqueza de espécies da tribo nas florestas tropicais (Biffin *et al.*, 2010) por possibilitarem a dispersão das sementes por animais (Lughadha e Proença 1996).

Paralelamente aos avanços da filogenia molecular, estudos das estruturas florais continuam sendo importantes para a compreensão das relações em diversos grupos de plantas (O’Leary *et al.*, 2012; Xi *et al.* 2012). Xi *et al.*, (2012) reconhecem doze caracteres florais filogeneticamente informativos em Malpighiales. Em Verbenaceae caracteres do androceu (par de estames adaxiais férteis ou estéreis- e do gineceu) (base do estilete larga ou delgada) são reconhecidos como sinapomorfias para grupos infrafamiliares (O’Leary *et al.*, 2012). Em Myrtaceae, dados como o número de carpelos, o tipo de vascularização do ovário, a inserção e morfologia da placenta e a disposição dos óvulos ao longo desta são considerados importantes para os estudos filogenéticos (Johnson & Briggs, 1984, Wilson *et al.*, 2001, Lucas *et al.* 2007).

A tipificação morfológica da placenta, em geral, como axial e, em alguns casos, como parietal (Bentham, 1869; Landrum, 1988 e Lucas *et at.*, 2007) é controversa. Em táxons com placentação axial como *Psidium* há por vezes

dificuldade de definição dos estados deste caráter, onde ocorre uma variação gradual da placentação não peltada para a peltada (Lucas *et al.*, 2007). Mc Vaugh (1968) aponta para a inadequação de caracteres como placentação na separação de gêneros em Myrteae. Neste trabalho, o autor discorda da proposta de elevação de um grupo de espécies de *Psidium* à categoria de gênero com base na semelhança de caracteres ovarianos.

Lucas *et al.*, (2007) interpretam a placentação axial como não significativamente diferente da parietal em Myrteae, o que leva ao pressuposto de que a placenta tem sua origem exclusivamente nas margens dos carpelos. Ambas representariam uma condição homoplásica que surge mais de uma vez em função de variações no grau de desenvolvimento do septo. A condição unilocular com placentação parietal observada em *Rhodamnia* e *Neomyrtus* seria produto de seu desenvolvimento incipiente (Bentham, 1869), que teria ocorrido em momentos diferentes nos gêneros em questão, visto que não são filogeneticamente relacionados.

A placentação ancestral em Myrteae é bi ou multisseriada em placentas planas, recobrimdo pelo menos parte do septo (Lucas *et al.*, 2007). Placentas peltadas ou projetadas de outra maneira surgiram independentemente no grupo “Australasiano” e nos grupos “*Myrteola*” e “*Pimenta*” além do gênero *Myrcianthes*. Aparentemente houve uma transição subsequente para o arranjo dos óvulos em um único ponto no septo de forma independente no gênero *Eugenia* e na associação entre o grupo “*Plinia*” + *Algrizea* + grupo “*Myrcia*” – que corresponde ao clado L do trabalho de Lucas *et al.* (2007) (ver anexo A) com pelo menos uma reversão parcial ao estado bi ou multiseriado em parte do septo, como observado em *Neomitranthes* e *Siphoneugenia*. Neste contexto, os autores consideram que esta distinção é tênue, face às diferenças maiores desconsideradas, como ovários uniloculares x bi ou multi loculares. Assim, os autores consideram a natureza da placentação pouco informativa como caráter definidor de grupos em Myrteae, podendo fornecer sinapomorfias potenciais apenas se a ocorrência de um número alto e improvável de reversões e paralelismos for assumida, o que requer análises do desenvolvimento do gineceu similares àquelas realizadas por Bothe & Drinnan

(2005) que descrevem a ontogenia e anatomia dos óvulos de representantes do grupo “Eucalypt” (*sensu* Wilson *et al.* 2005).

Resultados relativos ao projeto de análise estrutural da flor de espécies sul-americanas de Myrteae realizado pela equipe do Laboratório de Anatomia Vegetal do MN/UFRJ forneceram uma interpretação diferente da placenta em *Eugenia uniflora* (Lopes, 2008) e *E. neonitida* (Pimentel, 2010). A origem da placenta independente dos carpelos, a partir de um meristema central residual interno ao verticilo carpelar, constituiu uma interpretação mais acurada da categoria axial empregada de forma geral na literatura da família. Essa nova interpretação diverge da pressuposta natureza carpelar, implícita no trabalho de Lucas *et al.* (2007) o que leva à hipótese de que a placentação axial em Myrteae (*sensu* Lucas) é de natureza caulinar e não carpelar marginal.

Ainda no âmbito do referido projeto, dados preliminares relativos à *Gomidesia fenzliana* O.Berg, pertencente ao clado L do grupo “Myrcia”, também fornecem indícios de que a placenta tem origem caulinar e sua vascularização, diferentemente do observado nas espécies de *Eugenia*, tem origem, pelo menos em grande parte, no próprio eixo caulinar (Diego Spala, comunicação pessoal). A origem caulinar da placenta também é perceptível nas figuras de espécies de *Eugenia* e *Syzygium* analisadas no trabalho de Schmid (1972 a,b,c), onde espécies que originalmente pertenciam a *Eugenia* foram transferidas para o gênero *Syzygium*, com base na vascularização transeptal.

A vascularização do gineceu tem sido utilizada para tipificar a origem do ovário ínfero em diversas famílias. A natureza receptacular é caracterizada pela presença de feixes condutores que sobem pelo hipanto até os verticilos florais e, a partir daí, descem invertidos até os óvulos. Na maioria das famílias com ovário ínfero, o hipanto possui origem apendicular, caracterizada pelo sistema vascular sempre ascendente, não havendo a inversão dos feixes (Kaplan, 1967). Para Myrtaceae não há registros sobre a natureza do ovário ínfero. Em *E. neonitida* e *E. uniflora* (Lopes, 2008; Pimentel, 2010) algumas evidências apontam para a origem receptacular. À semelhança do observado em *E. confusa* (Schmid, 1972c),

os vários feixes placentários se originam em diferentes níveis do tubo floral, penetram nos bordos carpelares fundidos e se unem na sua maior parte formando dois grandes feixes compostos que descem, invertidos, até a placenta. Nesta região formam um plexo que consiste em uma massa sólida de xilema e floema de onde seguem os feixes ovulares.

O número de tegumentos dos óvulos em *Eugenia* é apontado na literatura (Schmid, 1980) como dois, porém em *E. uniflora*, os óvulos, inicialmente bitegmos, tornam-se unitegmos na maturidade (Lopes, 2008) evidenciando a necessidade da investigação da extensão do desenvolvimento da unitegmia na tribo Myrteae.

Neste contexto o presente trabalho objetiva descrever a ontogênese e a anatomia do gineceu de doze espécies de cinco dos seis grupos sul-americanos da tribo Myrteae e de dois representantes do grupo externo a fim de levantar os estados dos seguintes caracteres florais relativos ao gineceu na tribo Myrteae: número de carpelos, origem do ovário ínfero, origem do septo ovariano, tipo de placentação, vascularização floral e o número de tegumentos dos óvulos.

2.2 Material e métodos

Foram selecionadas para o estudo doze espécies representantes de cinco dos seis clados sul-americanos da tribo Myrteae, e dois representantes do grupo externo (tab. 1). Não foi possível localizar as espécies isoladas apesar do esforço empreendido para a coleta das plantas nas áreas indicadas nos registros de herbário. O grupo Myrteola não está representado neste trabalho em virtude da dificuldade de acesso às espécies do grupo Myrteola (Roraima e países do norte da América do Sul).

As espécies foram selecionadas com base nos critérios de representação específica ou genérica na filogenia de Lucas *et al.* (2007) (Anexo A). As amostras foram coletadas em populações naturais ou cultivadas de diferentes localidades do estado do Rio de Janeiro (Fig. 1). O material coletado foi identificado pelo Dr. Marcelo da Costa Souza, especialista do grupo.

A tipificação das inflorescências foi feita com base em Briggs e Johnson, (1979). Para descrição anatômica os botões florais e flores foram coletados em vários estádios de desenvolvimento, fixados em solução composta por formaldeído 4% + glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 50mM pH 7,2 (Gahan, 1984), mensurados, desidratados em série etanólica e emblocados em Histoiresin® (Leica). Secções seriadas de 1-3µm de espessura, obtidas com navalha de vidro em micrótomos rotativos Spencer e Leica 2255, foram coradas com Azul de Toluidina (Feder & O'Brien, 1968). A análise do material foi realizada em microscópio ótico Olympus BX-51 com sistema de captura composto por câmera Q color 5 e software Image-Pro Express. As imagens foram editadas no software Corel Photo-Paint ® 13 e as pranchas montadas utilizando o Corel DRAW® 13.

Para identificar as diferentes classes de compostos químicos e a natureza das paredes celulares foram utilizadas secções de material recém coletado, não fixado e/ou fixado em álcool 70%, as quais foram tratadas com Sudan IV (Johansen 1940) para detecção de lipídeos em geral; dicromato de potássio 10% (Gabe 1968) para compostos fenólicos; Lugol (Johansen 1940) para amido; ácido

acético e ácido clorídrico (Howart & Horner 1959) para identificação de cristais de oxalato de cálcio; floroglucinol em ácido clorídrico (Sass 1951) para lignina. Foi aplicado tratamento controle para todos os testes histoquímicos.

Para o acompanhamento morfológico da ontogênese floral, as amostras, fixadas como descrito acima foram desidratadas em série etanólica, levadas ao ponto crítico de CO₂ (Robards 1978) e metalizadas com ouro - paládium (Silveira, 1998). As observações e a documentação do material foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM – 5800, do Departamento de Invertebrados do Museu Nacional / UFRJ.

Tabela 1: Espécies, local de coleta, origem, hábitat e voucher

Clado	Espécie	Localidade	Origem e hábitat	Coletor e voucher
(Lucas <i>et al.</i> ,2007)				
Plinia	<i>Myrciaria floribunda</i> (H.West ex Willd.) O.Berg	Brasil, RJ, Restinga da Marambaia	Espontânea / mata sobre duna	R.R.Pimentel 7 (R)
	<i>Neomitranthes obscura</i> (DC.) N.Silveira	Brasil, RJ, APA de Maricá	Espontânea / vegetação arbustiva de restinga	B.Sá 216 (R)
	<i>Plinia grandifolia</i> (Mattos) Sobral	Brasil, RJ, Guaratiba	Sub-espontânea / zona rural	Souza 644(RB)
	<i>Plinia edulis</i> (Vell.) Sobral	Brasil, RJ Guaratiba	Sub-espontânea / area rural	Souza 643(RB)
Myrcia	<i>Myrcia racemosa</i> (O.Berg) Kiaersk.	Brasil, RJ, APA de Maricá	Espontânea / região inundável de restinga	B.Sá 207 (R)
	<i>Myrcia selloi</i> (Spreng.) N.Silveira	Brasil, RJ, Horto do Museu Nacional	Cultivada / Horto botânico	B.Sá 217 (R)
Myrceugenia	<i>Myrceugenia myrcioides</i> (Cambess.) O.Berg	Brasil, RJ, PARNA da Tijuca	Espontânea / borda de florasta ombrófila densa	R.R.Pimentel 9 (R)
Pimenta	<i>Psidium cattleianum</i> Afzel. ex Sabine	Brazil, RJ, PARNA da Restinga de Jurubatiba	Espontânea / região inundável de restinga	Curso tax. Myrtaceae 05 (R)
	<i>Psidium guineense</i> Sw.	Brasil, RJ, Pirai	Espontânea / area rural	R.R.Pimentel 10 (R)
Eugenia	<i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.	Brasil, RJ, Restinga da Marambaia	Espontânea / mata sobre duna	R.R.Pimentel 8 (R)
	<i>Eugenia sulcata</i> Spring ex Mart.	Brasil, RJ, Jardim Botânico do Rio de Janeiro	Cultivada / Horto botânico	R.R.Pimentel 11 (R)
	<i>Eugenia selloi</i> B.D.Jacks.	Brasil, RJ, Restinga da Marambaia	Espontânea / mata sobre duna	R.R.Pimentel 5 (R)
Grupo externo	<i>Syzygium jambos</i> (L.) Alston	Brasil, RJ, Ilha da Marambaia	Cultivada / restinga	Souza 999 (R)
	<i>Syzygium malaccense</i> (L.) Merr. & L.M.Perry	Brasil, RJ, Jardim Botânico da UFRuralRJ	Cultivada / Horto botânico	R.R.Pimentel 12 (R)

2.3 Resultados

Características morfológicas gerais

Os tipos de inflorescências encontrados nas espécies estudadas foram: panículas em *Myrcia racemosa* e *M. selloi* (Fig. 2A e B); racemos em *Syzygium jambos* (Fig. 2C); dicásios em *Psidium guineense* (Fig. 2D); fascículos em *Myrciaria floribunda* (Fig. 2E), *Neomitranthes obscura* (Fig. 2F), *Plinia grandifolia*, *P. edulis*, *Myrceugenia myrcioides* (Fig. 3A) e *Eugenia puniceifolia* (Fig. 3B); racemo “stenocalyx” em *Eugenia sulcata* e *E. selloi* (Fig. 3C e D); glomérulos em *Syzygium malaccense* (Fig. 3E); mônades em *Psidium guineense* e *P. cattleianum* (Fig. 3F).

Todas as inflorescências são protegidas por ferófilos e prófilos (Fig. 4A e B). A filotaxia oposta, encontrada no eixo vegetativo é mantida no eixo reprodutivo (Fig. 4C e D). Cada um dos verticilos das inflorescências, desde os ferófilos até os carpelos (nas espécies com ovário bicarpelar), apresenta-se em pares opostos decussados (Fig. 4C e D).

A forma dos botões florais é obovada na maioria das espécies (Fig. 2C e F), (Fig. 3B e E) podendo variar de globosa (*Myrciaria floribunda* e *Eugenia selloi*) a uma forma onde ocorre uma constrição entre o ovário e a extensão do hipanto em *Psidium guineense* (Fig. 2D).

As flores são diclamídeas, perfeitas com sépalas verdes (Fig. 4 E e F) e pétalas brancas (Fig. 4E). Exceção feita apenas a *Syzygium malaccense*, que apresenta pétalas e estames com coloração rosa (Fig. 4F).

O androceu está representado por numerosos estames dispostos sobre o hipanto e radialmente em relação ao estilete (Fig. 3 D e F), (Fig. 4E e F). Os estames apresentam filetes filiformes e anteras bitecas de deiscência rimosa. O hipanto apresenta superfície reta em *Myrceugenia myrcioides*, *Psidium guineense* e *P. cattleianum*, *Eugenia puniceifolia*, *E. sulcata* e *E. selloi* (Fig. 2D e 4E) e apresenta uma expansão acima do ovário em *Myrciaria floribunda*, *Neomitranthes*

obscura, *Plinia grandifolia*, *P.edulis*, *Myrcia racemosa*, *M. selloi*, *Syzygium jambos* e *S. malaccense* (Fig. 2B e 4F).

O ovário é ínfero, bilocular, exceto em *Myrciaria floribunda*, com ovário semi-ínfero, *Psidium guineense* e *Myrceugenia myrcioides* que apresentam, três lóculos e *Psidium cattleianum* que exhibe quatro lóculos.

Quanto ao número de óvulos as espécies podem ser divididas em dois grupos: um com dois óvulos por lóculo, tendo como representantes *Myrciaria floribunda*, *Neomitranthes obscura*, *Plinia grandifolia*, *P. edulis*, *Myrcia racemosa* e *M. selloi* e outro grupo com ovários pluriovulados, representado por *Myrceugenia myrcioides*, *Psidium cattleianum*, *P. guineense*, *Eugenia puniceifolia*, *E. sulcata*, *E. selloi*, *Syzygium jambos* e *S. malaccense*.

Organogênese floral e estabelecimento do gineceu

A organogênese floral tem início com o estabelecimento do domo do meristema floral, protegido pelos primórdios dos prófilos adjacentes (Fig. 5A - D). Em algumas espécies como (*Myrcia racemosa*, *Myrceugenia myrcioides*, *Psidium guineense* *Eugenia selloi*) essa proteção recebe o incremento de tricomas tectores e, de coléteres em *Plinia grandifolia*, *P. edulis*, *Myrceugenia myrcioides*, *Psidium cattleianum*, *P. guineense*, *Eugenia puniceifolia*, *E. sulcata* e *E. selloi* (Fig. 5D).

O primeiro verticilo a se diferenciar é o cálice (Fig. 5E), seguido da corola (Fig. 5F). A partir deste ponto, tem início a diferenciação do gineceu, interrompendo desta forma o desenvolvimento centrípeto dos verticilos.

Os primórdios carpelares têm bases adnatas e ápices livres (Fig. 6A) e assim permanecem dando origem à fenda do estigma (Fig. 6B). Na maioria das espécies os primórdios carpelares são em número de dois (Fig. 6C e D). Em *Psidium guineense* e *Myrceugenia myrcioides* são três e em *Psidium cattleianum* quatro (Fig. 6A).

Desenvolvimento do gineceu

Estabelecimento do eixo central

Nas espécies bicarpelares surge um eixo entre os primórdios carpelares (Fig. 7A – C) a partir do meristema caulinar residual na base da câmara localizada entre os carpelos. O desenvolvimento deste eixo só não foi evidente em *Psidium cattleianum* (Fig. 7D), *P. guineense* e *Myrceugenia myrcioides* (Fig. 7E).

O ápice do eixo é formado por células meristemáticas e a porção basal apresenta um grande número de células em divisão periclinal promovendo o alongamento desta estrutura (Fig. 7A). Nas espécies onde esse eixo não foi observado, é a superfície interna dos carpelos que exhibe células com características meristemáticas (Fig. 7D e E). As células da face interna dos carpelos das espécies bicarpelares exibem citoplasma denso, núcleos conspícuos e vacúolos pequenos (Fig. 7A). Esse tecido dará origem ao tecido transmissor (Fig. 7B).

Desenvolvimento do eixo central e da placenta

Na maioria das espécies, o ápice do eixo central forma projeções (Fig. 8A), que darão origem a placenta em um único ponto (Fig. 8A – D). O procâmbio que dará origem a vascularização da placenta e dos óvulos encontra-se estabelecido (Fig. 8B, C e E). Em *Myrceugenia myrcioides*, *Psidium cattleianum* e *P. guineense*, a placenta se origina ao longo dos bordos carpelares (Fig. 8E e F, 9A - C). Os óvulos penetram livremente nos lóculos ovarianos de forma involuta (Fig. 9B e C). Nas espécies com dois carpelos, os mesmos se encontram fusionados pelos bordos (Fig. 9D e E), exceto em um ponto mais ou menos central do septo, onde ocorre a comunicação entre os dois lóculos ovarianos (Fig. 9D e F).

Primórdios dos óvulos

Durante o surgimento dos primórdios dos óvulos (Fig. 10A – F) pode-se observar o início da diferenciação dos tegumentos (Fig. 10 E). Em alguns primórdios de óvulos, notam-se traços vasculares em fase procambial (Fig. 10A–C). Nas espécies com dois óvulos por lóculo (*Plinia grandifolia*, *P. edulis*, *Myrciaria floribunda*, *Myrcia racemosa* e *M. selloi*), o eixo caulinar é pouco desenvolvido (Fig. 10A) quando comparado com as pluriovuladas (Fig. 10B).

Estabelecimento do megasporócito

Encontra-se estabelecido um tegumento nas espécies de *Syzygium* (Fig. 11A) e dois tegumentos nas demais espécies (Fig. 11B – D). Esta fase é marcada pela diferenciação do megasporócito (Fig. 11B – F) e os óvulos são crassinucelados (Fig. 11B – D). Todas as espécies apresentam sincronismo no desenvolvimento dos óvulos.

Meiose

Nesta fase ocorre a divisão meiótica do megaesporócito e o estabelecimento do megásporo funcional que inicia seu desenvolvimento (Fig. 12A-G) e posteriormente a gametogênese e a formação do saco embrionário. O comprimento dos tegumentos e o grau de envolvimento do nucelo por estes são variáveis (Fig. 12A – D e G). Em algumas espécies o tegumento interno se estende além do externo e ambos envolvem apenas parcialmente o nucelo (Fig. 12A). Nos casos como o observado em *Myrciaria floribunda* e *Syzygium malaccense* o nucelo está totalmente envolvido por um dos tegumentos, em alguns casos pelos dois tegumentos (Fig. 12B e C). Em outros casos os tegumentos têm o mesmo tamanho e recobrem parcialmente nucelo (Fig. 12D). Em *Eugenia selloi* o nucelo estende-se além dos dois tegumentos e o tegumento interno se alonga além do tegumento externo (Fig. 12G).

O gineceu maduro

O ovário encontra-se totalmente fusionado ao receptáculo (Fig. 13 A e B). A exceção ocorre em *Myciaria floribunda* onde o grau de fusão é variável (Fig. 13C - F). Embora as substâncias fenólicas estejam presentes em praticamente todos os tecidos, nota-se uma concentração maior destas substâncias nas primeiras camadas celulares do hipanto (Fig. 14A e B) e naquelas que circundam o ovário (Fig. 14C – E) onde ocorrem também cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (Fig. 14C). Nas espécies de *Syzygium* esta camada pode apresentar cavidades secretoras (Fig. 14E) e encontra-se envolvida por parênquima formado por células ricas em compostos fenólicos de formas e tamanhos irregulares, delimitando grandes lacunas (Fig. 14D – F).

A região estigmática é papilosa (Fig. 15A) e o tecido transmissor é formado por células estreitas (Fig. 15B) e muito alongadas (Fig. 15C – E), de parede delgada, citoplasma denso, núcleos alongados e pouco vacuolizadas. Comumente o tecido transmissor e o parênquima a ele adjacente são ricos em grãos de amido (Fig. 15F). Ocorre neste tecido uma fenda na região de contato entre os carpelos, ao longo de todo o estilete (Fig. 16 A –C). O tecido transmissor se estende até a região de comunicação entre os lóculos (Fig. 16D – F; 17A - F), sendo maior nas espécies com dois óvulos por lóculo (Fig. 17C e D). Nesta região do septo não há fusão entre a porção apical do septo (originada da intrusão da face adaxial do ápice carpelar) e a porção que teve origem da fusão do eixo caulinar com os bordos dos carpelos (Fig. 17A - F). Desta forma, na maioria das espécies o septo ovariano é formado pela fusão da porção apical com as margens dos carpelos e o eixo central (Fig. 17C e D). *Myrceugenia myrcioides*, *Psidium cattleianum* e *P. guineense* não apresentam o eixo caulinar e não há a formação do septo na parte apical do ovário.

O saco embrionário é alongado (Fig. 18A). Em alguns casos, as células do nucelo próximas ao saco embrionário são ricas em grãos de amido (Fig. 18A, B e F). O aparato fibrilar é evidente apenas em *Myciaria floribunda* (Fig. 18E e F) onde foram observados esporadicamente mais de dois óvulos por lóculo. Em *M. floribunda* e *Eugenia puniceifolia* foram registrados óvulos com dois sacos embrionários (Fig. 19 A – F). As imagens sugerem que mais de um megásporo se

mantenha funcional (Fig. 19A) e que, em alguns casos, dois nucelos compartilham os mesmos tegumentos (Fig 19 E e F).

A vascularização floral em todas as espécies tem origem no cilindro vascular do antopódio (Fig. 20A). Na base do hipanto esse feixe se divide em numerosos pequenos feixes (Fig. 20B, C e F). Notadamente, nas espécies de *Psidium* e *Eugenia*, destacam-se oito feixes de maior calibre que se dispõem em um anel (Fig. 20D e E).

A placenta é vascularizada de duas formas distintas. Em *Myrciaria floribunda*, *Neomitranthes obscura*, *Myrcia racemosa*, *M. selloi*, *Syzygium jambos* e *S. malaccense* os feixes vasculares penetram o septo ovariano por baixo e seguem em direção ascendente até a região de inserção da placenta, onde divergem em direção aos óvulos (Fig. 21A a F). Em *Plinia grandifolia*, *P. edulis*, *Myrceugenia myrcioides*, *Psidium cattleianum*, *P. guineense*, *Eugenia puniceifolia*, *E. sulcata* e *E. selloi* vários feixes se originam em diferentes níveis do tubo floral, penetram transversalmente nos bordos carpelares e em alguns casos descem invertidos, até o ponto de inserção da placenta (Fig. 22A –F). Neste ponto os feixes transeptais de *Eugenia* e *Plinia* formam um plexo que consiste em uma massa sólida de xilema e floema de onde seguem os feixes ovulares.

A vascularização do estilete é variável entre as espécies quanto ao número, ao tipo e ao posicionamento dos feixes condutores. O número de feixes varia de dois em *Plinia edulis* a quatorze em *Psidium cattleianum*. Estes feixes podem estar arranjados em um único cilindro como em *Myrcia racemosa* (Fig. 23A) e *Eugenia puniceifolia* (Fig. 23B) ou em dois cilindros concêntricos como em *Syzygium jambos* (Fig. 23 C) e *S. malaccense* (Fig. 23D). Os feixes podem ser tipicamente anficrivais ou, a exemplo de *Eugenia puniceifolia*, anastomizados formando um anel quase totalmente fechado que envolve o tecido transmissor. Estas diferenças ocorrem entre espécies de um mesmo gênero. Em *Syzygium malaccense*, por exemplo, o arranjo dos feixes é similar ao de *S. jambos* diferindo pelo número de feixes externos (Fig. 23 C e D).

Em *Psidium cattleianum*, *P. guineense*, *Syzygium jambos* e *S. malaccense*, foram observadas células com paredes esclerificadas (Fig 24A - I). Em *P. cattleianum* e *S. malaccense* estas células estão dispersas pelo parênquima do hipanto (Fig 24A) e possuem formas variadas (Fig. 24F e H). Em *S. jambos* as

esclereides ocorrem ao longo dos feixes vasculares do hipanto (Fig. 24B, D e E) formando uma bainha em torno destes, sendo comuns os formatos mais alongados (Fig. 24E e G). As esclereides de *P. guineense* envolvem o ovário (Fig. 24C) e apresentam formato anelar (Fig. 24I). Quando jovens estas células exibem citoplasma denso que se cora fortemente com o azul de toluidina (Fig. 24D). Ocorre uma concentração destas células abaixo dos nectários de *Syzygium jambos* (Fig 24B).

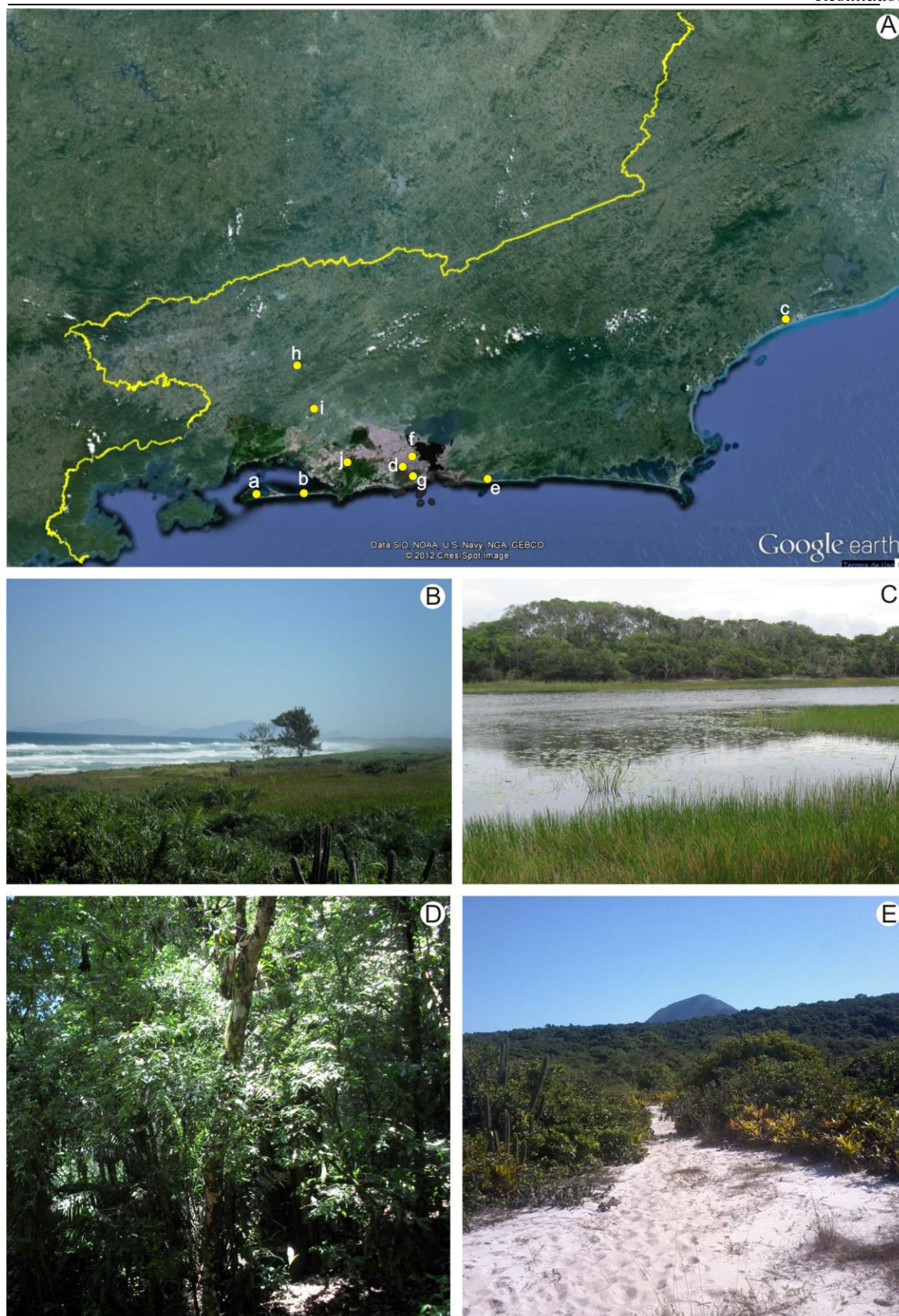


Figura 1: Locais de coleta. A- mapa do Estado do Rio de Janeiro mostrando os locais de coleta, a-Ilha da Marambaia, b- Restinga da Marambaia, c- PARNA da Restinga de Jurubatiba, d- PARNA da Tijuca, e- APA de Maricá, f- horto do Museu Nacional, g- Jardim Botânico do RJ, h-Piraí, i- Jardim Botânico da UFRRJ; j-Guaratiba; B - Restinga da Marambaia; C - PARNA da Restinga de Jurubatiba; D - PARNA da Tijuca; E - APA de Maricá.

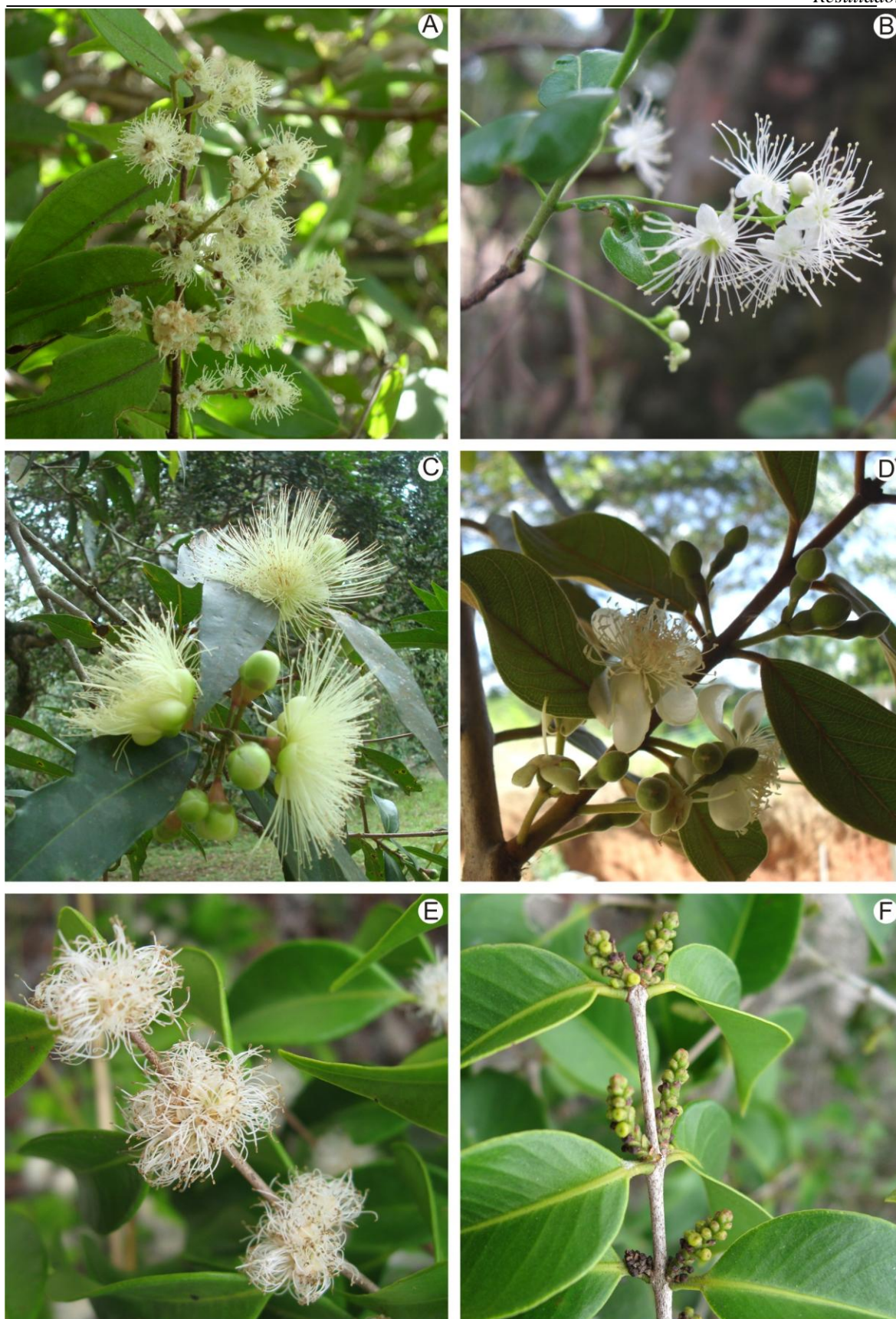


Figura 2: Inflorescências. A e B- panícula; A- *Myrcia racemosa*; B- *M. selloi*; C- racemo em *Syzygium jambos*; D- dicásio em *Psidium guineense*; E e F- fascículo; E- *Myrciaria floribunda*; F- *Neomitranthes obscura*.



Figura 3: Inflorescência II. A e B fascículo; A- *Myrceugenia myrcioides*; B- *Eugenia punicifolia* ; C e D- racemo "stenocalyx"; C- *Eugenia sulcata*; D- *E. selloi*; E- glomérulo em *Syzygium malaccense*; F- monade em *Psidium cattleianum*.

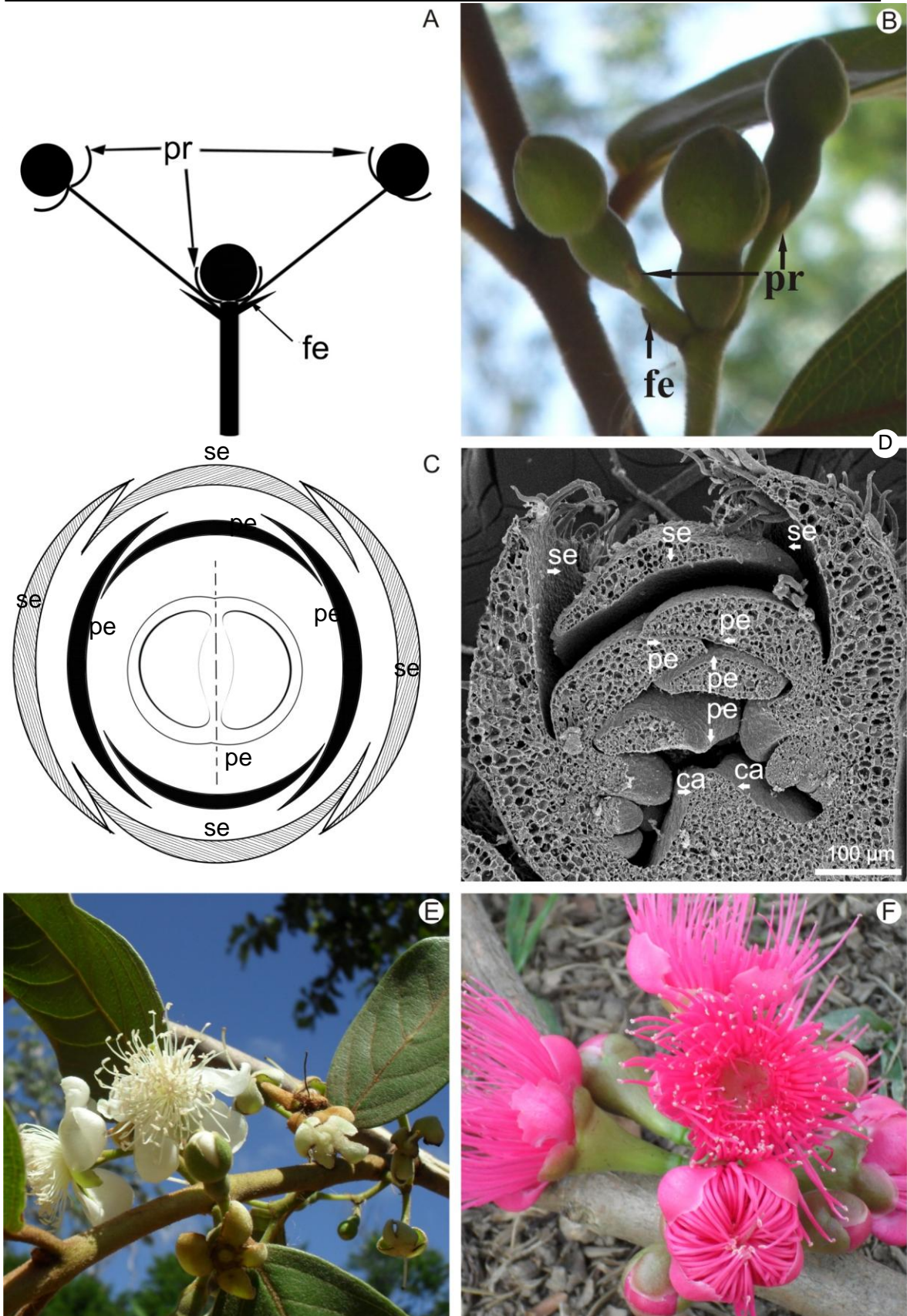


Figura 4: Morfologia da inflorescência e da flor. A e B- inflorescências mostrando ferófilos (fe) e prófilos (pr); A- Desenho esquemático; B- *Psidium guineense*; C e D- Prefloração; C- diagrama floral; D- microscopia eletrônica de varredura do botão de *Plinia grandilolia* mostrando sépala (se), pétalas(pe) e carpelos(ca); as setas indicam a direção das peças; E- *Psidium guineense*; F- *Syzygium malaccense*.

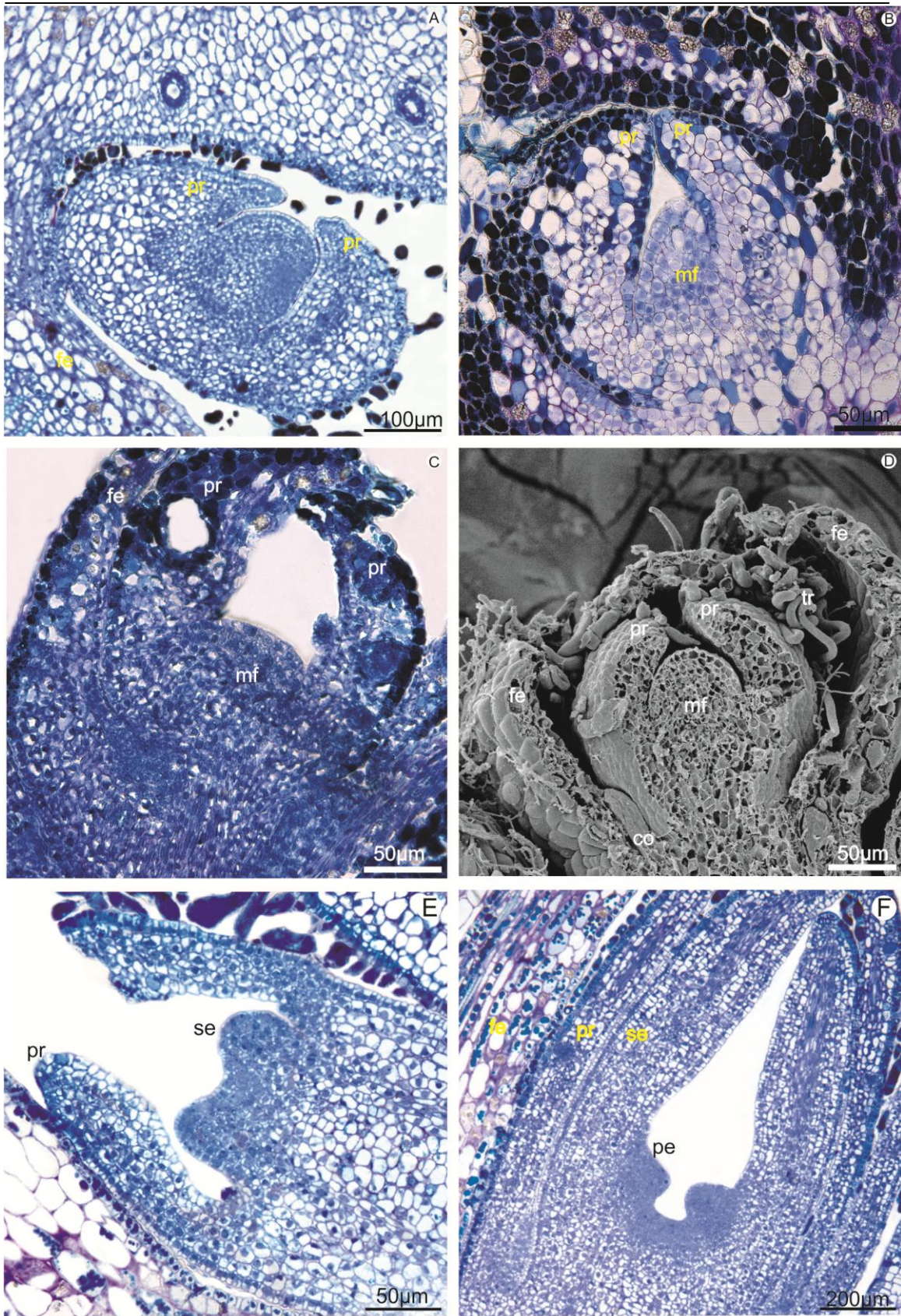


Figura 5: Organogênese dos verticilos protetores. Secções longitudinais vistas em microscopia de luz em A a C, E, F e microscopia eletrônica de varredura em D; A, E e F- *Eugenia selloi*; A a D- domo formado pelo meristema floral B- *Sygygium malaccense*; C- *Neomitranthes obscura*; D- *Plinia grandifolia*; E- início da diferenciação do cálice; F- início da diferenciação da corola. co- colôler; mf- meristema floral; fe- ferófilo; pe- pétala; pr- prófilo; se- sépala; tr- tricoma tector.

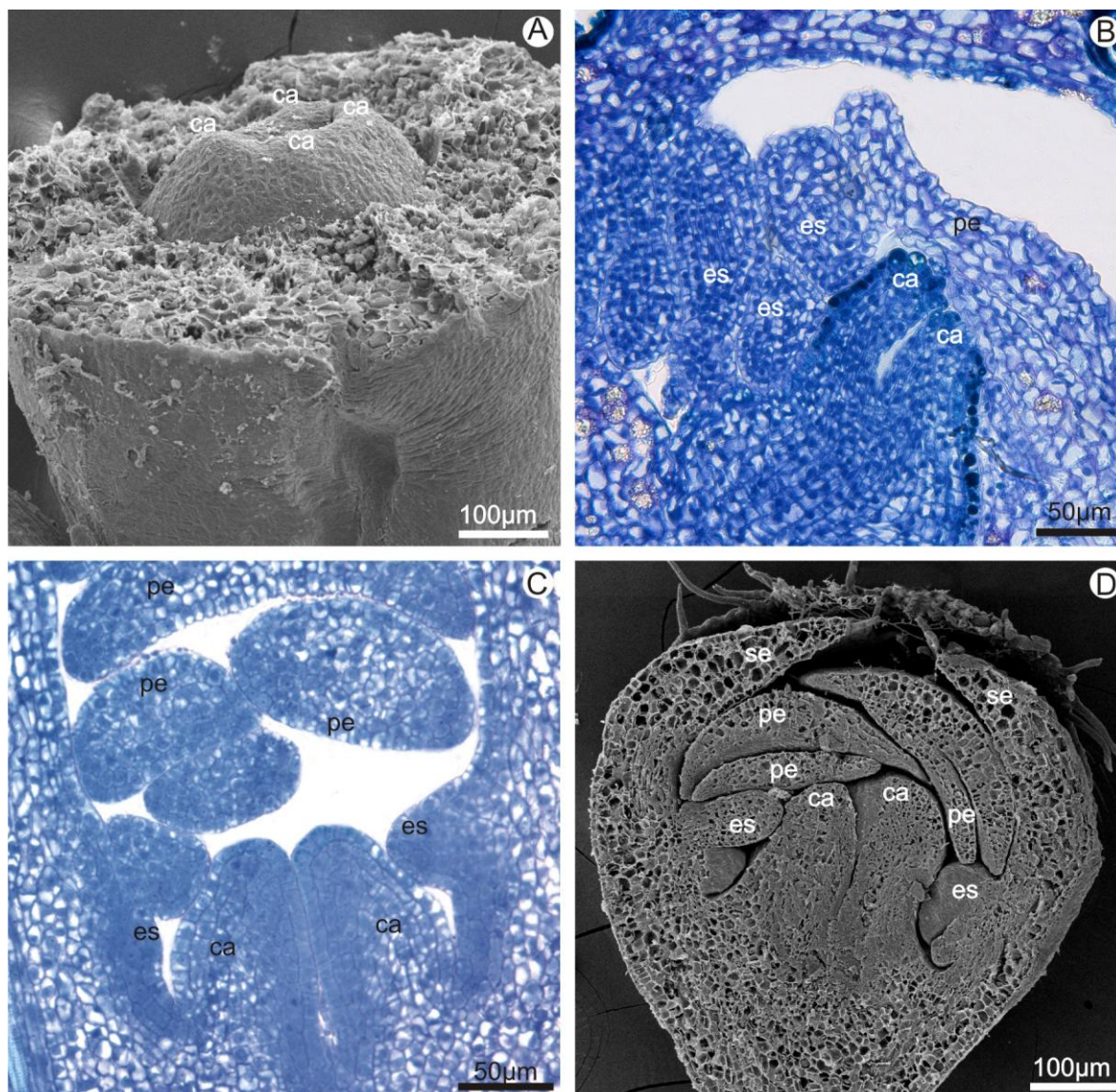


Figura 6: Estabelecimento do gineceu. A- primórdio do gineceu de *Psidium cattleianum* com quatro carpelos em microscopia eletrônica de varredura (MEV); B e C- seções longitudinais do gineceu bicarpelar observadas em microscopia de luz; B- *Neomitranthes obscura*; C- *Eugenia selloi*; D- seção longitudinal de *Plinia grandifolia* observada em (MEV). ca- carpelo; es- estame; pe- pétala; se- sépala.

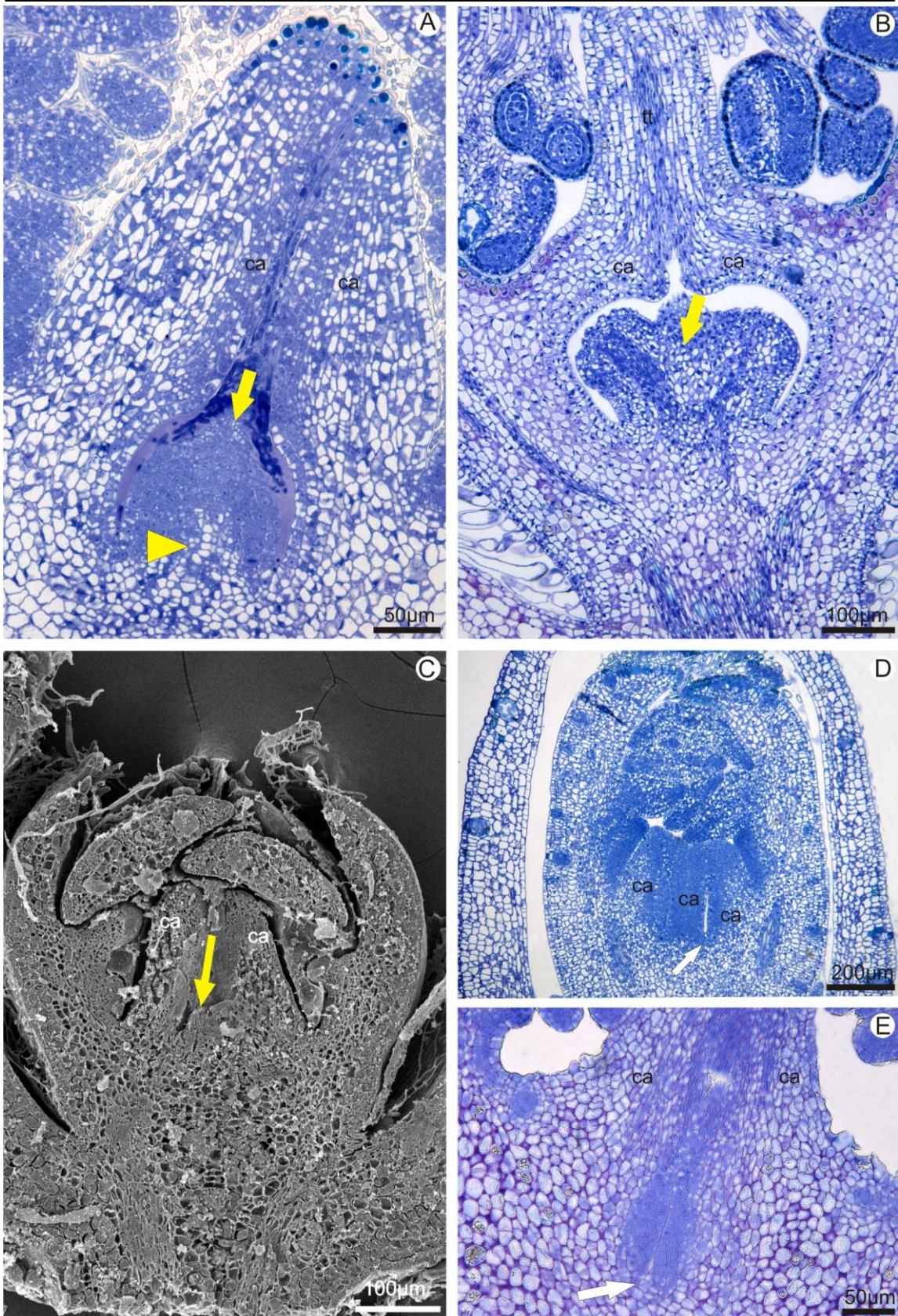


Figura 7: Eixo central. A, B, D e E- secções longitudinais observadas em microscopia de luz; A- *Eugenia selloi*, notar células em divisão no sentido periclinal (cabeça de seta) promovendo o alongamento do eixo; B- *Myrcia racemosa*; C- Secção longitudinal de *Eugenia puniceifolia* observada em (MEV); D- *Psidium cattleianum*; E- *Myrcogenia myrcioides*. As setas amarelas mostram o eixo central; as setas brancas indicam a região basal entre os carpelos sem evidências da formação de um eixo; ca- carpelo; tt- tecido transmissor.

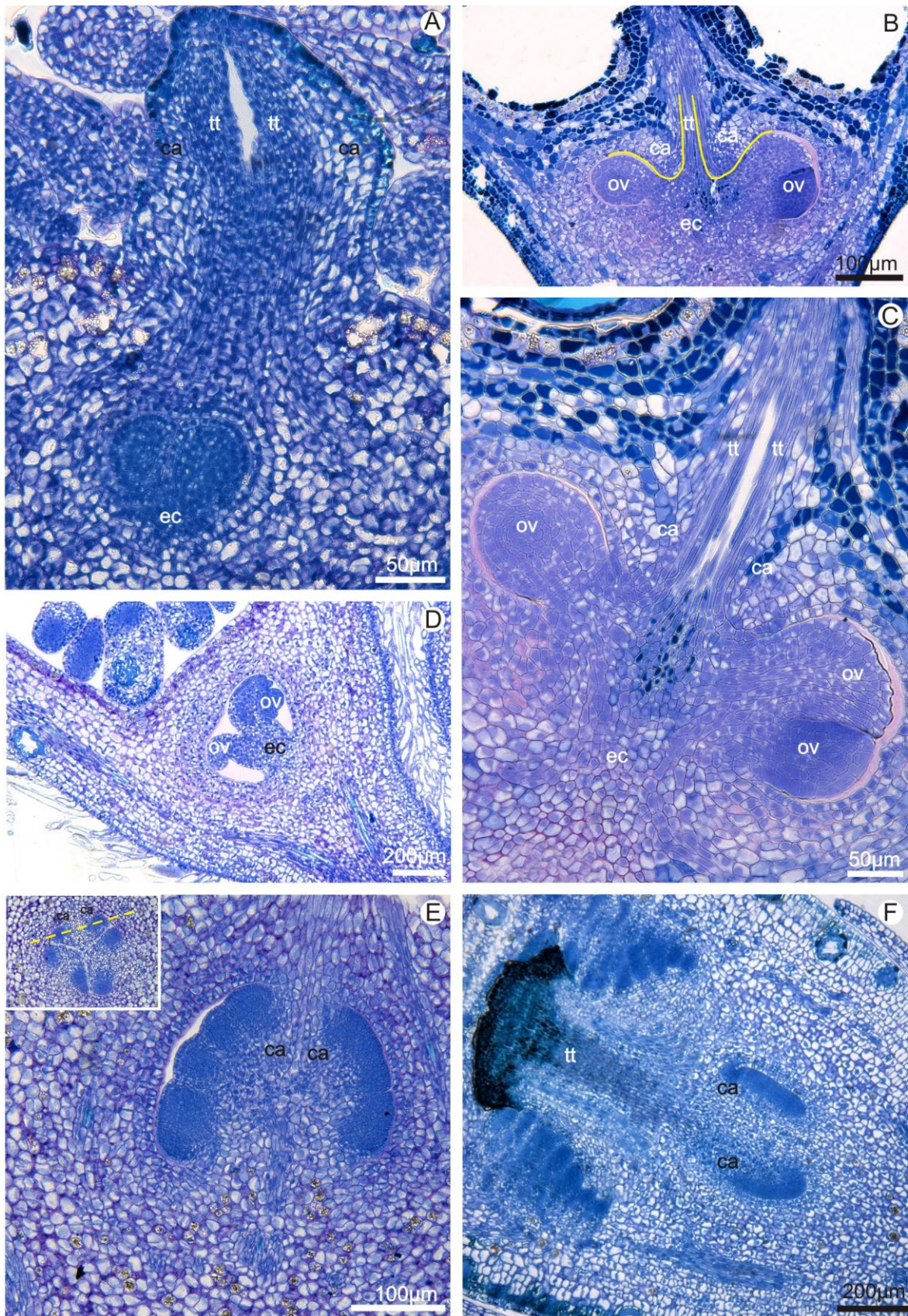


Figura 8: Origem da placenta: A a F- Secções longitudinais do ovário vistas em microscopia de luz; A- *Neomitranthes obscura* ; B- *Myrciaria floribunda* destacando o contorno dos carpelos; C- detalhe de B; D- *Myrcia racemosa*; E- *Myrceugenia myrcioides*, em destaque uma secção transversal mostrando o plano de corte; F- *Psidium cattleianum*. ca- carpelo; ec- eixo caulinar; ov- óvulo; tt- tecido transmissor.

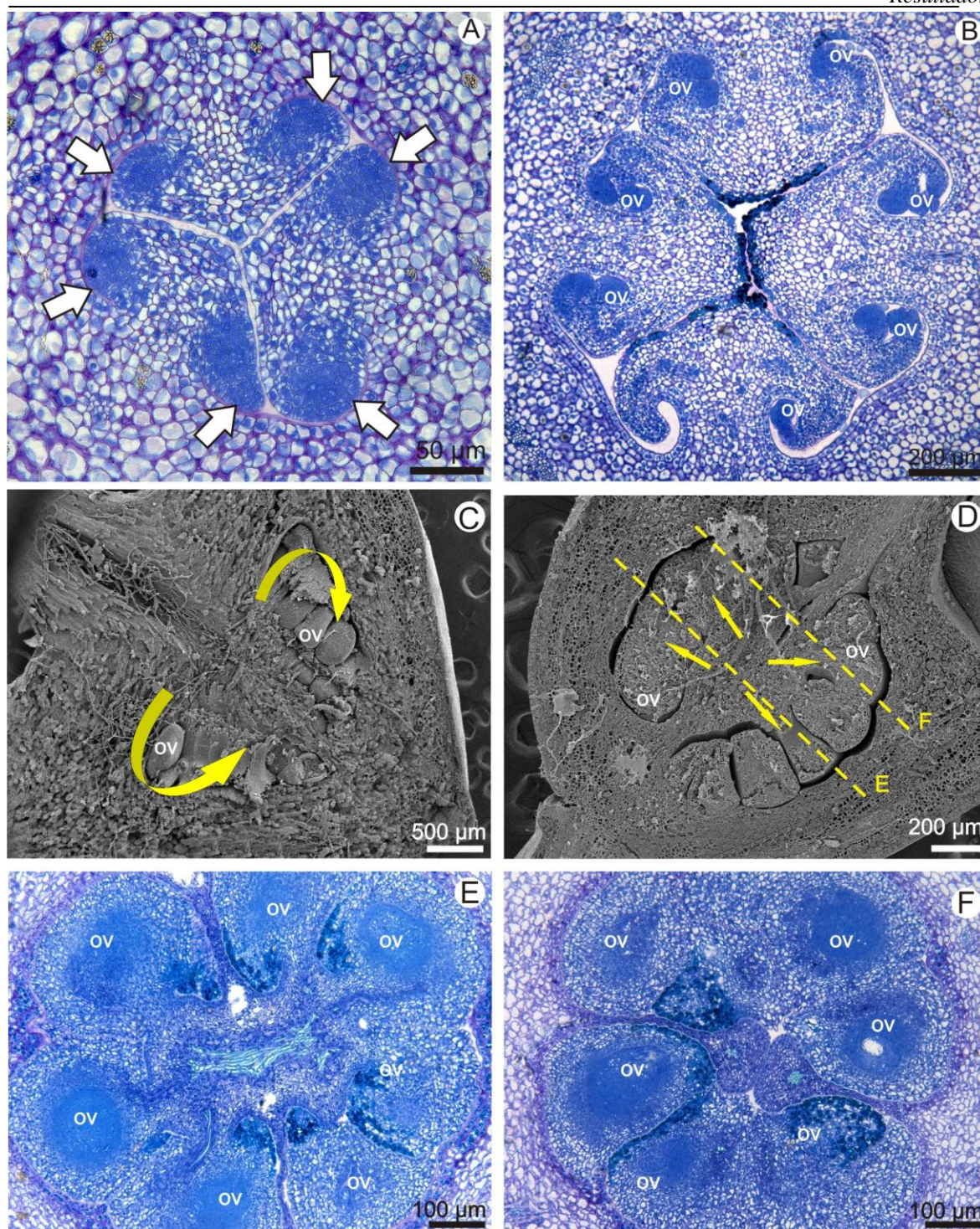


Figura 9: Placentação. A, B, E, F- secções transversais observadas em microscopia de luz. C e D- Secções longitudinais observadas em (MEV); A- primórdios dos óvulos (setas brancas) surgindo dos bordos dos carpelos em *Myrceugenia myrcioides*; B e C- óvulos nos bordos dos carpelos de *Psidium cattleianum*; D- óvulos inseridos em um único ponto em *Eugenia punicifolia*, as linhas pontilhadas mostram o plano de corte e altura aproximados das figuras E e F; E- secção na região de inserção dos óvulos em *E. sulcata*; F- secção na altura da região de comunicação entre os lóculos (base do "comptum") de *E. sulcata*. As setas indicam o direcionamento dos óvulos. ov- óvulos.

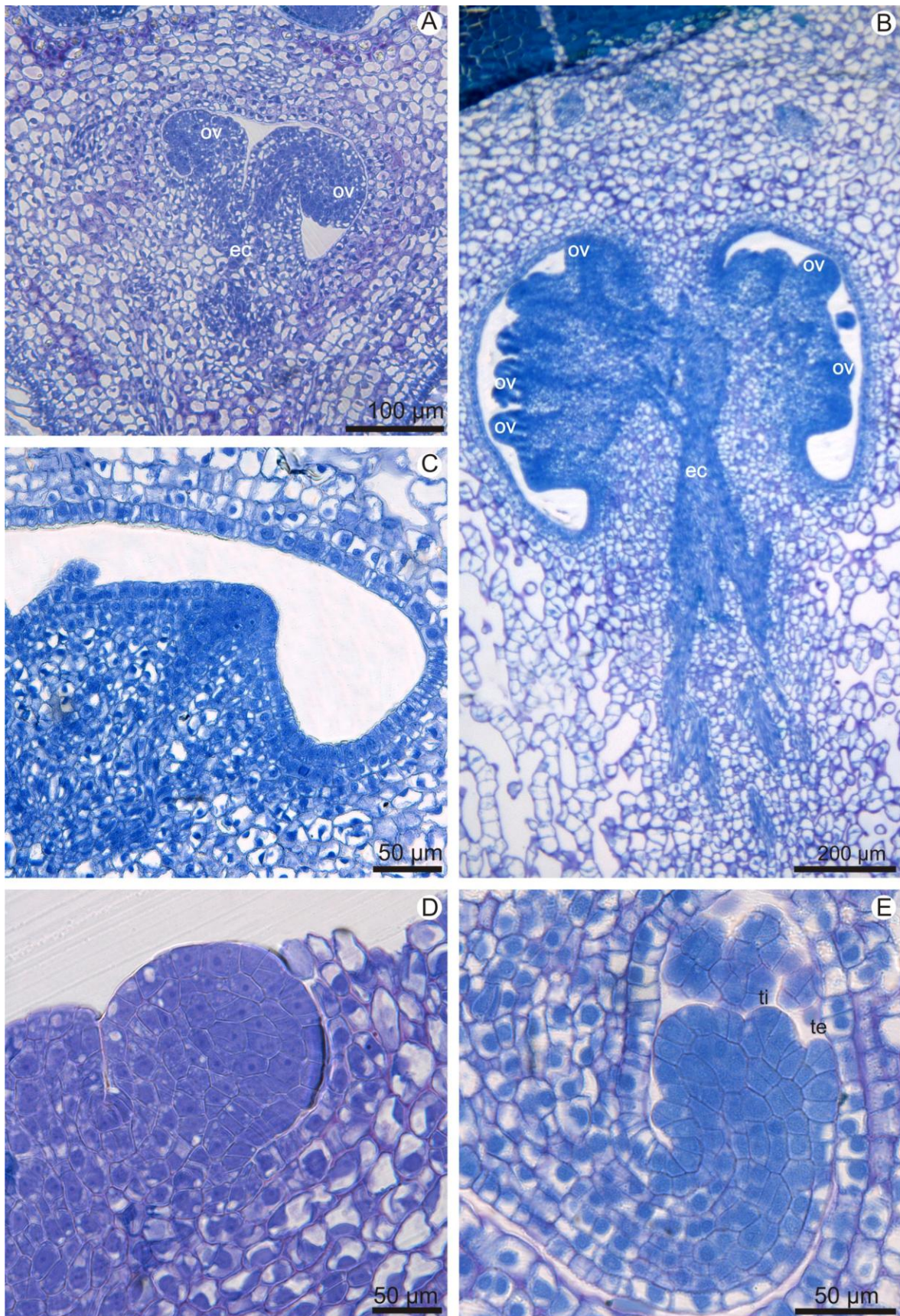


Figura 10: Primórdios dos óvulos. A a E- seções longitudinais observadas em microscopia de luz; A- *Myrcia selloi*; B- *Syzygium jambos*; C a E- primórdios de óvulos; C- *Syzygium jambos* mostrando primórdio de óvulo (seta amarela) com vascularização procambial (seta branca); D- *Myrciaria floribunda*; E- *Psidium cattleianum*. ec- eixo caulinar; te- tegumento externo; ti- tegumento interno. ov- óvulo.

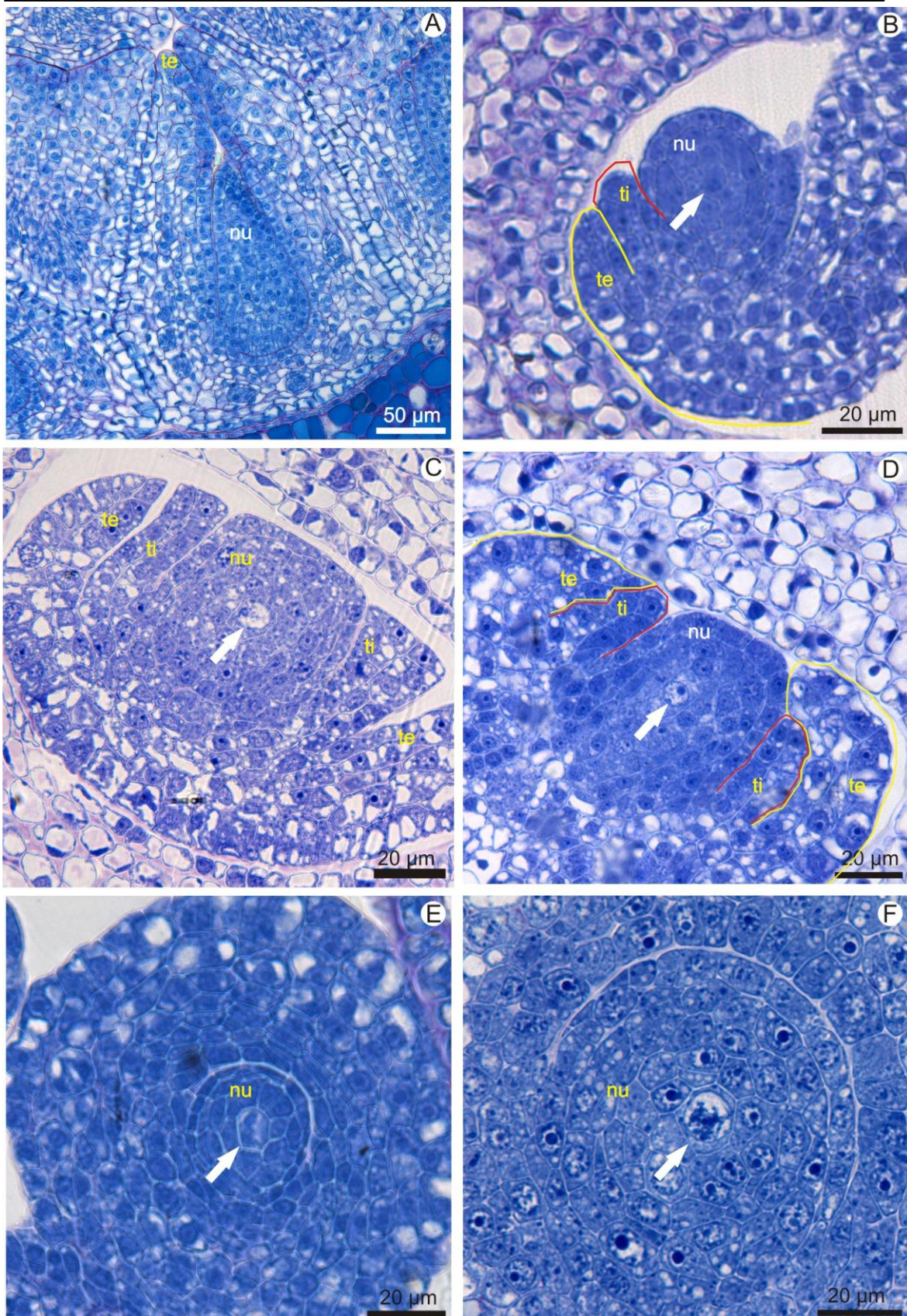


Figura 11: Tegumentos e megasporócitos. A a D- seções longitudinais dos óvulos observadas em microscopia de luz. A- *Syzygium jambos* com tegumento único; B- *Myrcia racemosa* com tegumento externo demarcado em amarelo e interno em vermelho; C- *Plinia edulis*; D- *Psidium guineense* com tegumento externo demarcado em amarelo e interno em vermelho; E- *Eugenia sulcata*; F- *E. selloi*. As setas indicam o megasporócito. nu- nucelo; te- tegumento externo; ti- tegumento interno.

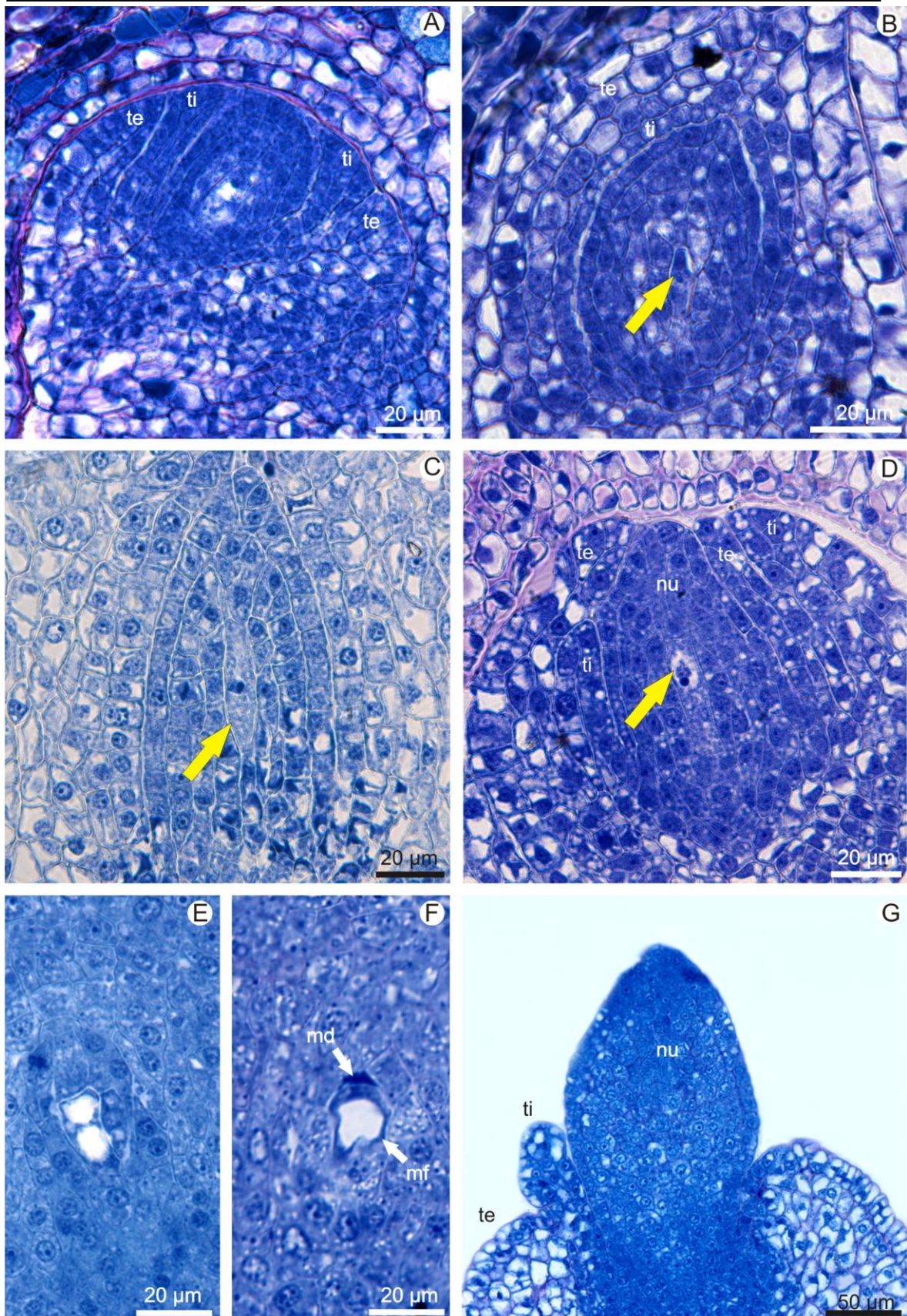


Figura 12: Meiose e estabelecimento do megáspero funcional. A a G- Secções longitudinais dos óvulos em microscopia de luz; A- *Myrcia selloi*; B a D megasporócito (setas) de: B- *Myrciaria floribunda*; C- *Syzygium malaccense*; D- *Myrcia racemosa*; E a G- *Eugenia selloi*. E- megásporos; F- estabelecimento do megáspero funcional. md- megáspero degenerado; mf- megáspero funcional; nu- nucelo; te- tegumento externo; ti- tegumento interno.

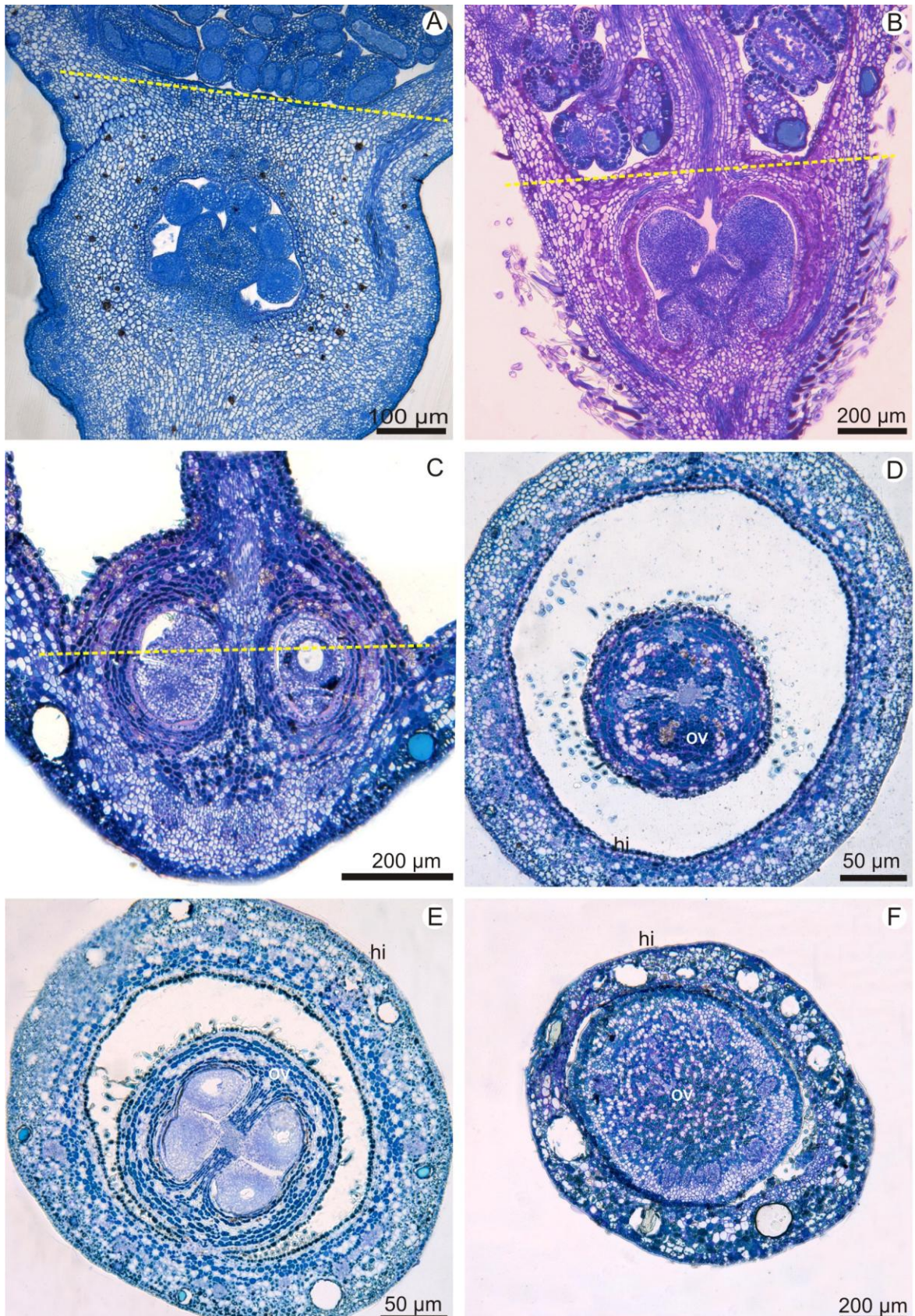


Figura 13: Posição do ovário. A a C- seções longitudinais em microscopia de luz; A- ovário ínfero em *Eugenia sulcata*; B- ovário ínfero em *Myrcia racemosa*; C a F ovário semi-ínfero em *Myrciaria floribunda*; D a F- Seções transversais em diferentes regiões do ovário de *M. floribunda*; D- ápice; E- região mediana; F- base. As linhas amarelas marcam a inserção da projeção do hipanto; hi- hipanto; ov-ovário.

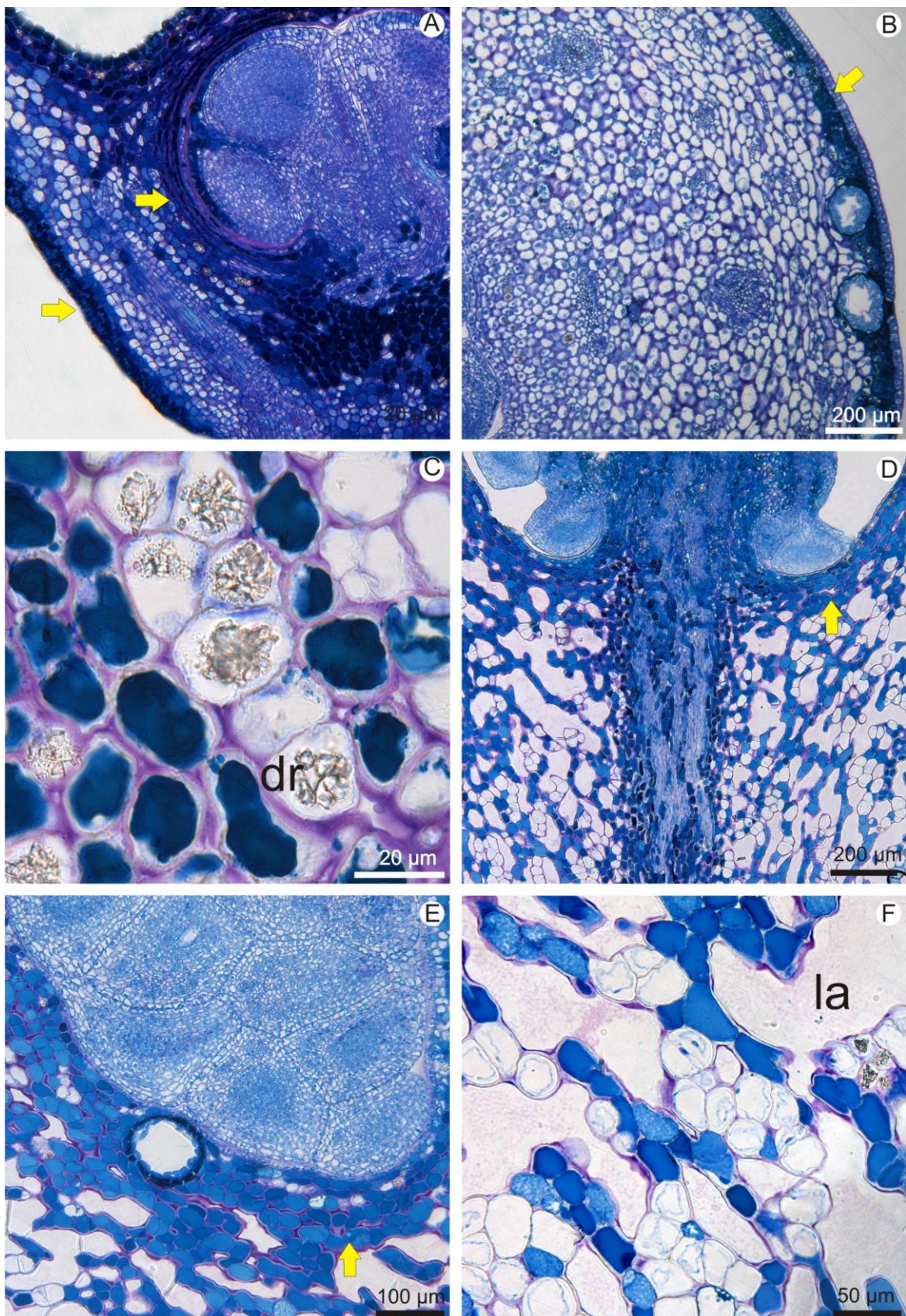


Figura 14: Parede do ovário. A, C a F- secções longitudinais em microscopia de luz; A- *Myrciaria floribunda*; B- secção transversal do hipanto de *Psidium guineense*; C- detalhe das drusas ao redor do ovário de *Eugenia punicifolia*; D a F- *Syzygium jambos*; D e E- parede do ovário; F- detalhe do aerênquima. As setas apontam as camadas ricas em compostos fenólicos. dr- drusa; la- lacuna.

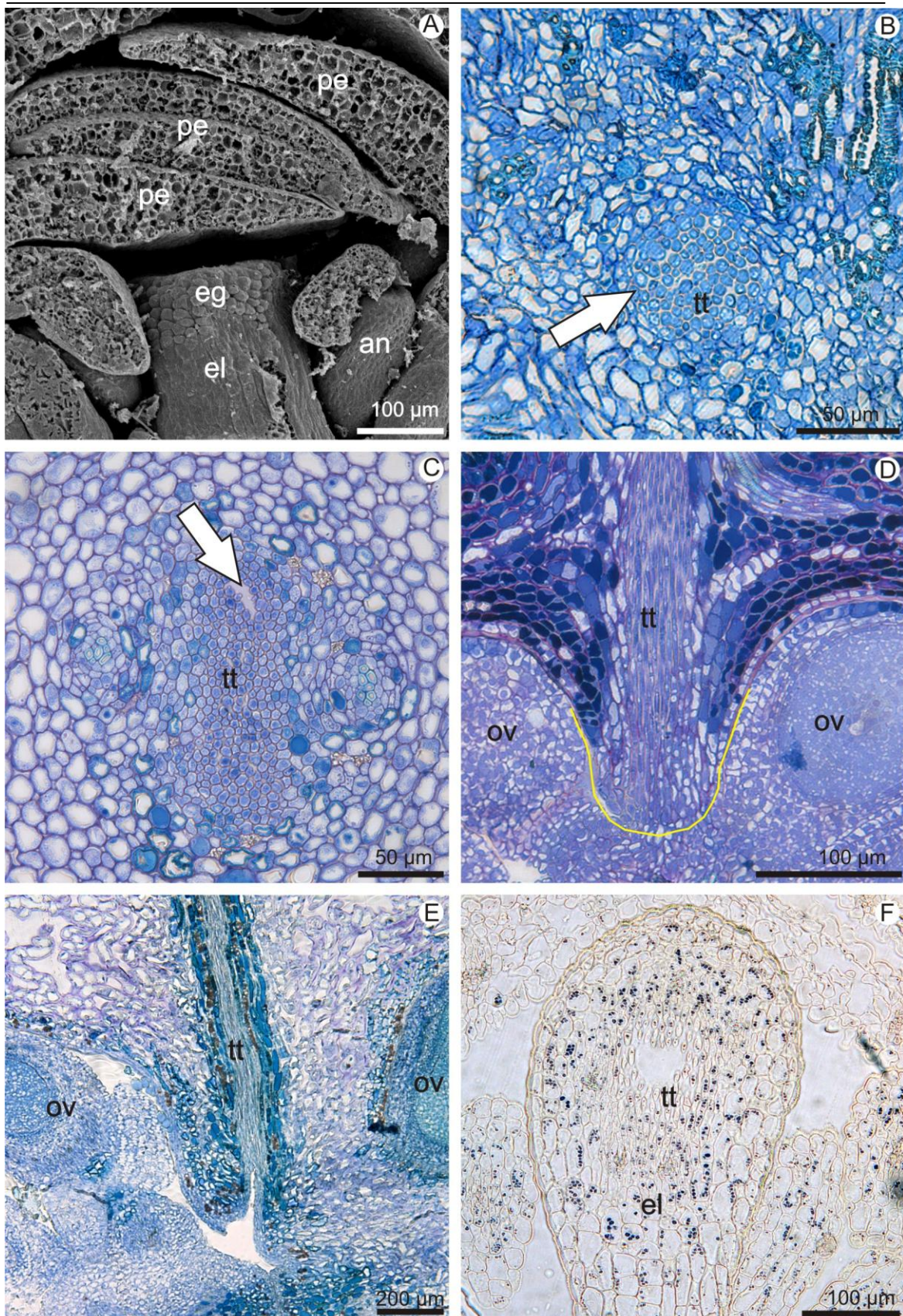


Figura 15: Estigma e tecido transmissor. A- estigma papiloso de *Plinia grandifolia* em microscopia eletrônica de varredura; B a F- microscopia de luz; B e C- seção transversal do ápice do hipanto mostrando canal estilar (setas). B- *Eugenia sulcata*; C- *Syzygium jambu*; D e E- seções longitudinais do ápice do ovário; D- *Myrciaria floribunda*; E- *Syzygium malaccense*; F- teste com reagente lugol no estilete de *Myrcia selloi*. an- antera; eg- estigma; el- estilete; ov- óvulo; pe- pétala; tt- tecido transmissor.

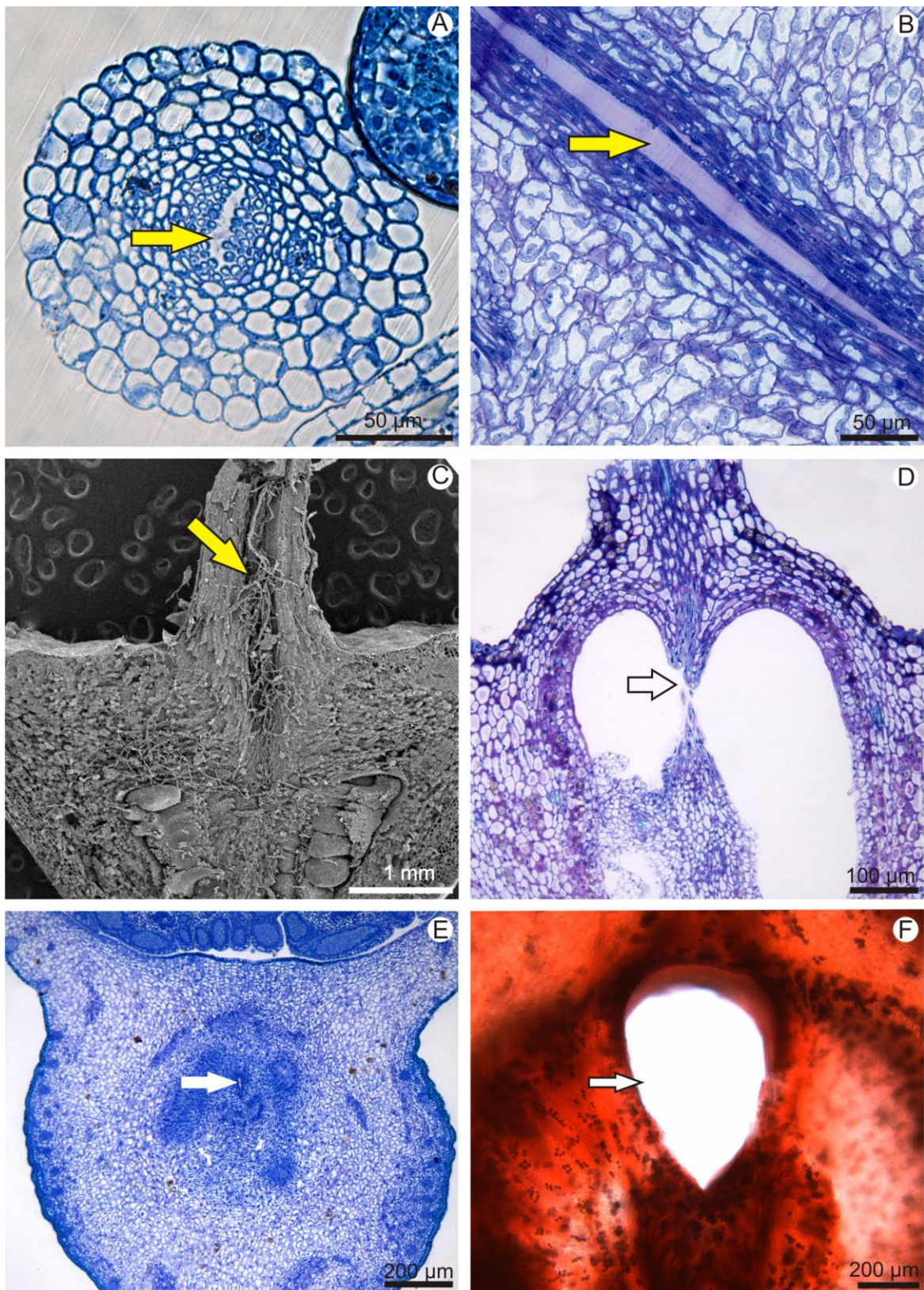


Figura 16: Fenda do tecido transmissor. A, B, D a F-Microscopia de luz; A- seção transversal do estilete de *Myrcia selloi*; B a F - seções longitudinais; B- estilete de *Eugenia selloi*; C- *Psidium cattleianum* em microscopia eletrônica de varredura; D- seção perpendicular ao septo de *Myrcia racemosa*; E e F- seção paralela ao septo; E- *Eugenia sulcata*; F- *Syzygium malaccense*. As setas amarelas apontam a fenda do tecido transmissor e as brancas apontam a comunicação entre os lóculos do ovário. Em A e B a fenda do canal estilar está preenchida com mucilagem, que se cora de rosa quando submetida ao azul de toluidina.

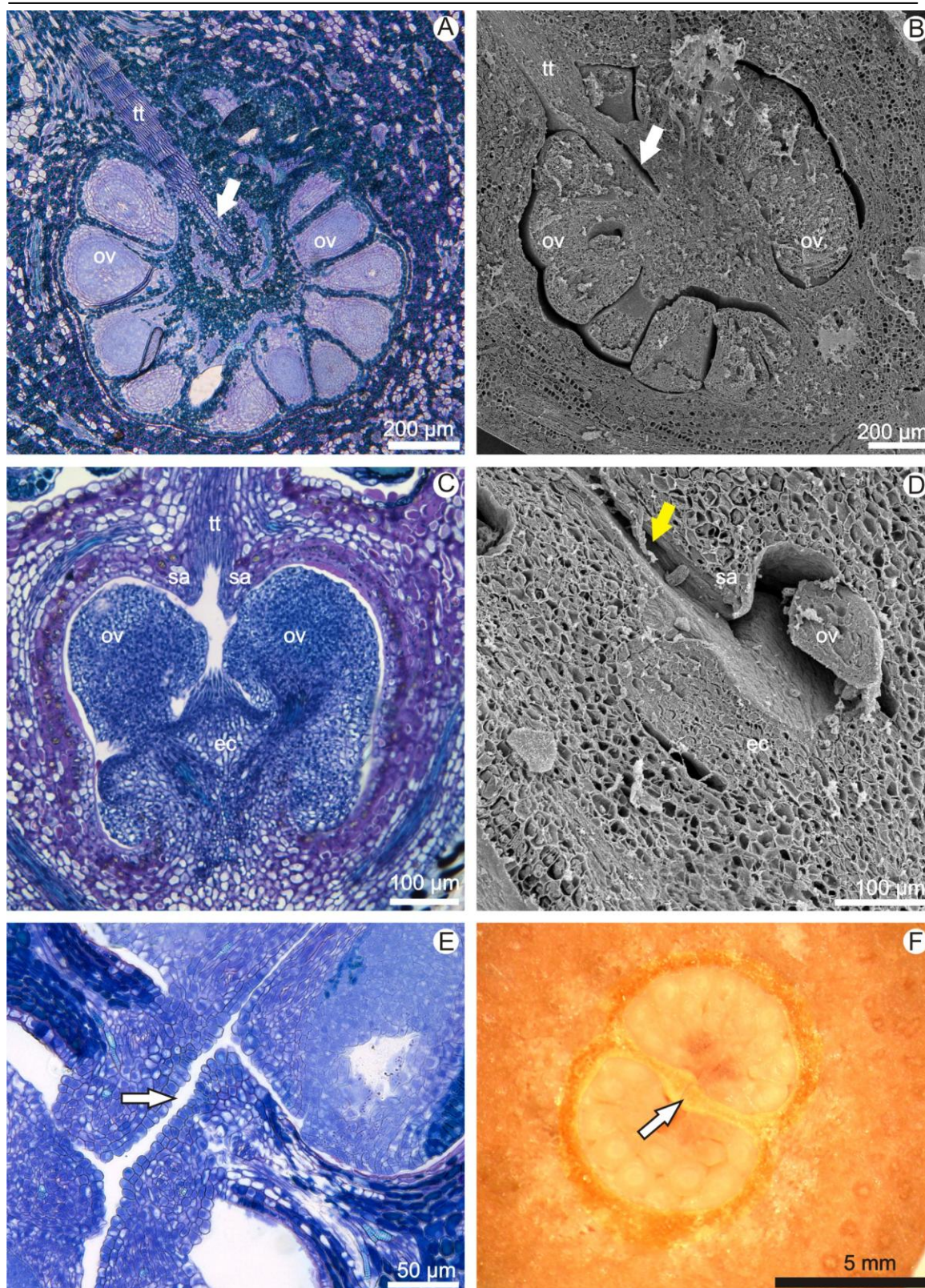


Figura 17: Comunicação entre os lóculos. A, C e E- microscopia de luz; B e D- microscopia eletrônica de varredura; A e B- secções longitudinais paralelas ao septo de *Eugenia punicifolia*; C e D- secções longitudinais perpendiculares ao septo de *Myrcia racemosa*; E- secção transversal do septo ovariano de *Myrciaria floribunda*; F- secção transversal do ovário de *Syzygium jambos* observada na lupa (o contraste da imagem na região dos carpelos foi aumentado). As setas brancas apontam a comunicação entre os lóculos e a amarela mostra a fenda do tecido transmissor. ec- eixo caulinar; ov- óvulo; sa- septo apical; tt- tecido transmissor.

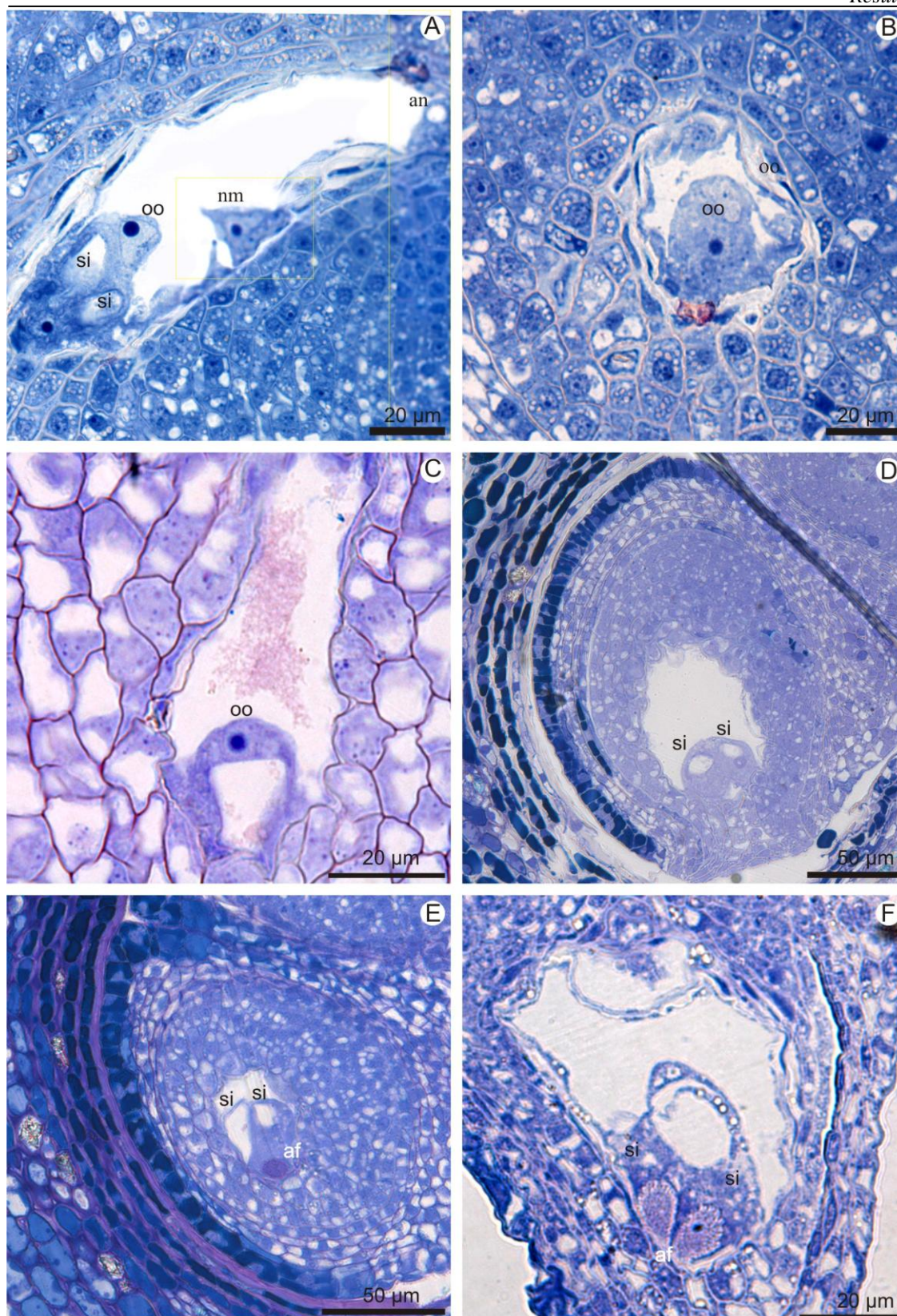


Figura 18: Saco embrionário. A a F- Secções oblíquas de sacos embrionários vistas em microscopia de luz; A e B- *Eugenia selloi*; A- montagem permitindo visualização total do saco embrionário (as imagens destacadas em amarelo foram obtidas em vários planos do mesmo óvulo); B- detalhe da oosfera; C- oosfera em *Eugenia puniceifolia*; D- sinérgides em *Plinia edulis*; E- sinérgides em *Myrciaria floribunda*; F- detalhe do aparato fibrilar em *M. floribunda*. af- aparato fibrilar; an- antípodas; nm- núcleo da célula média; oo- oosfera; si- sinérgides.

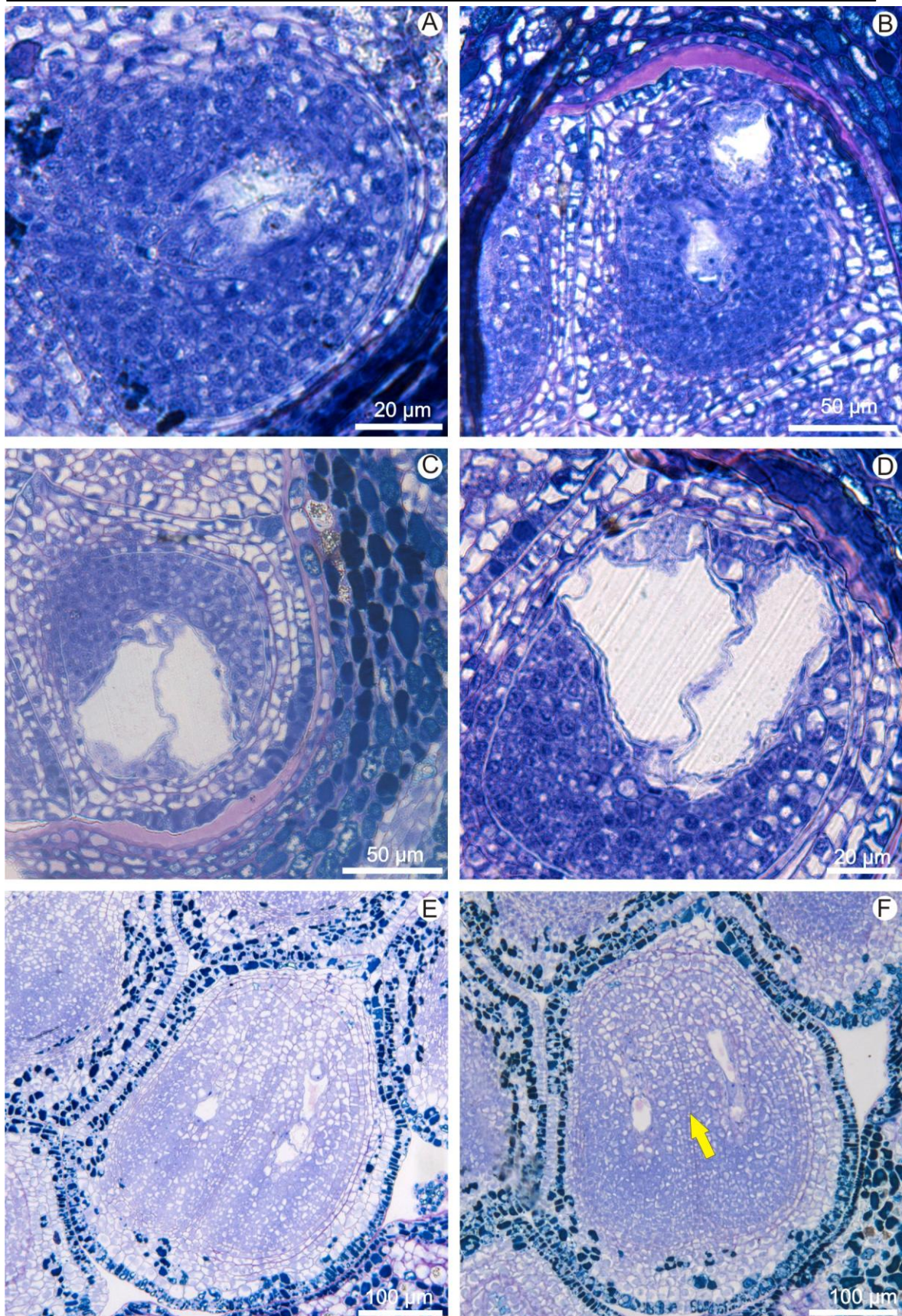


Figura 19: Óvulos com dois sacos embrionários. A a F- secções obliquas de óvulos vistas em microscopia de luz; A a D- Dois sacos embrionários envolvidos pelo mesmo nucelo em *Myrciaria floribunda*; E e F- sacos embrionários em nucelos distintos em um mesmo óvulo de *Eugenia punicifolia*. A seta indica a separação entre dois nucelos de um mesmo óvulo.

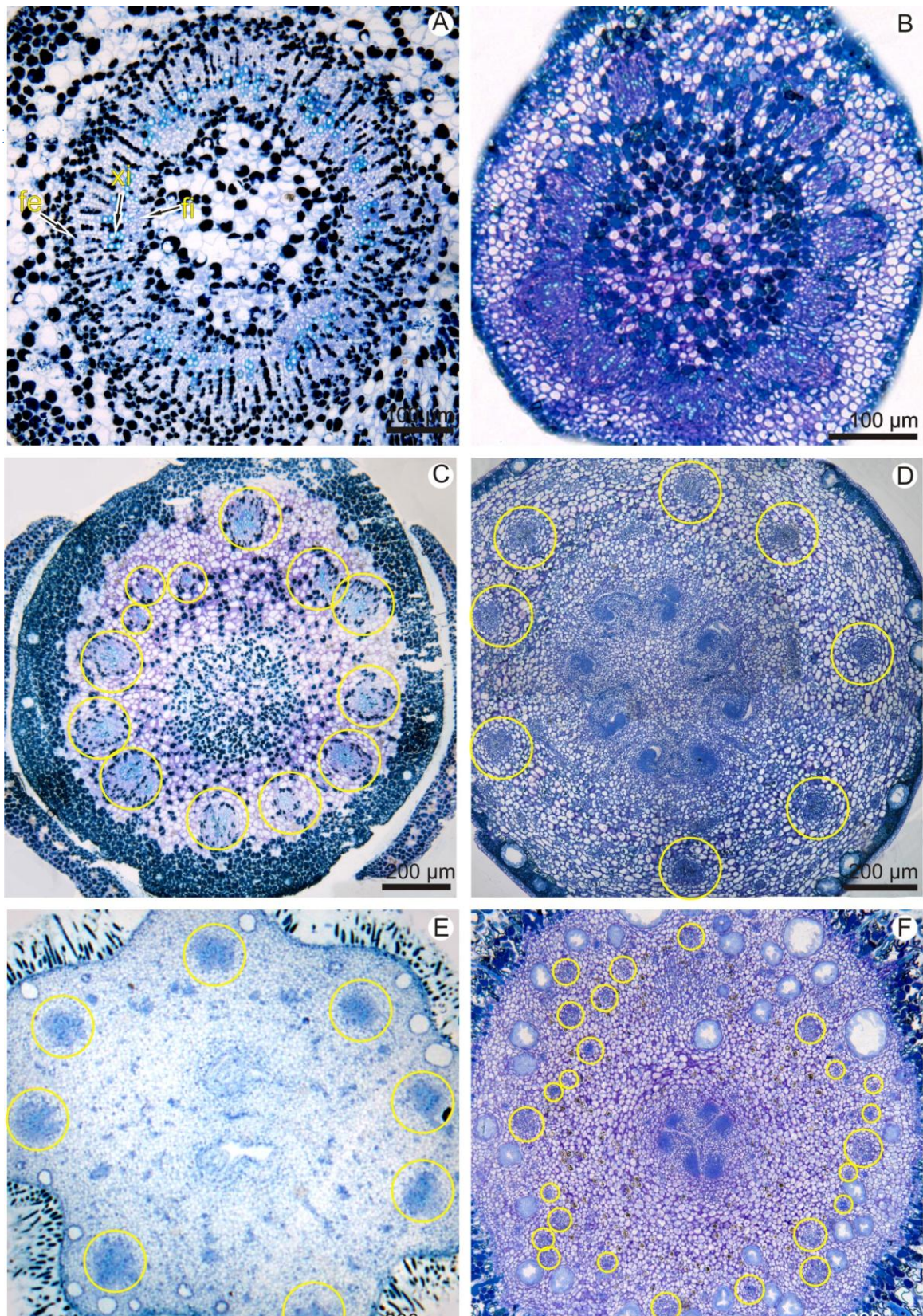


Figura 20: Vascularização do hipanto. A a F- seções transversais observadas em microscopia de luz; A - antopódio de *Eugenia puniceifolia* mostrando a origem dos feixes do hipanto; B a F- hipanto; B- base do hipanto de *Myrciaria floribunda*; C- secção da região imediatamente abaixo do ovário de *Eugenia puniceifolia*; D- secção da região mediana do ovário de *Psidium cattleianum*; E- secção do ápice do ovário de *Eugenia selloi*; F- secção do ápice do ovário de *Myrceugenia myrcioides*. Os círculos amarelos destacam os feixes condutores. fe- floema externo; fi- floema interno; xi- xilema.

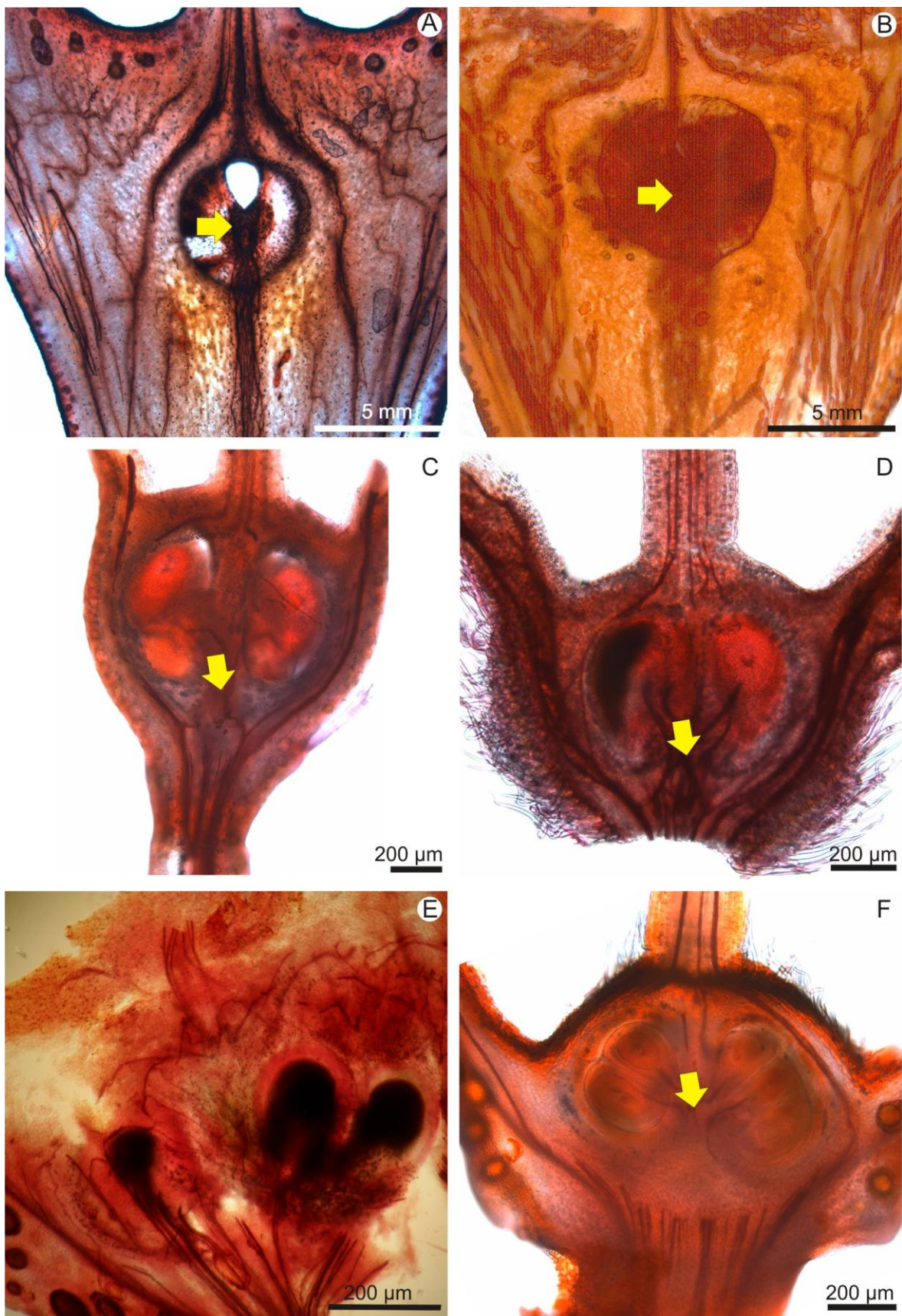


Figura 21: Vascularização da placenta. A a F- Secções longitudinais obtidas a mão livre, coradas com safranina e observada em microscopia de luz; A- *Syzygium malacense*; B- *S. jambos*; C- *Myrcia selloi*; D- *M. racemosa*; E- *Neomitranthes obscura*; F- *Myrciaria floribunda*. As setas amarelas indicam o ponto de inserção dos óvulos.

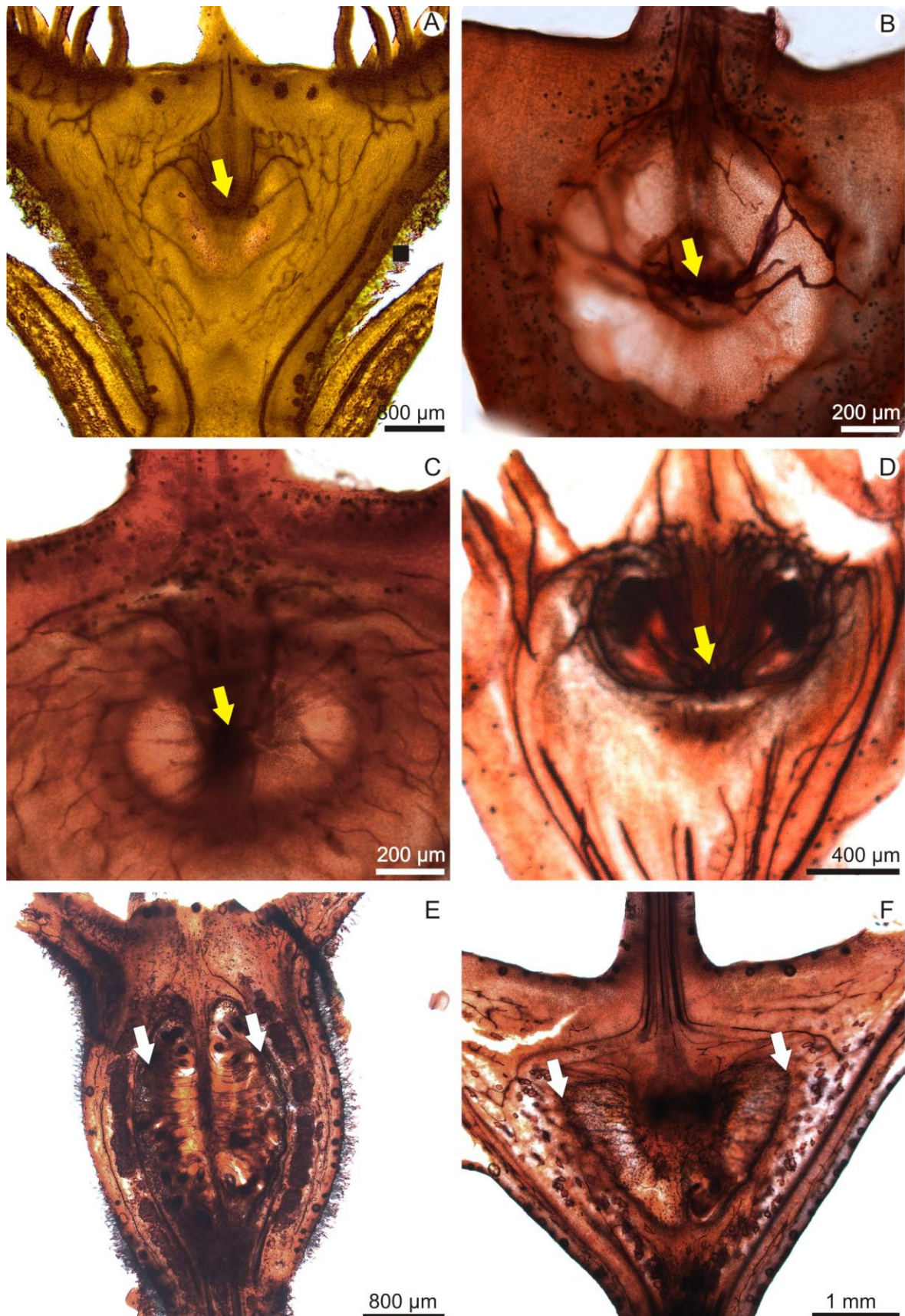


Figura 22: Vascularização da placenta / Feixes transeptais. A a F- Seções longitudinais paralelas ao septo obtidas a mão livre, coradas com safranina e observada em microscopia de luz; A- *Eugenia selloi*; B- *E. puniceifolia*; C- *Plinia edulis*; D- *P. grandifolia*; E- *Psidium guineense*; F- *P. cattleianum*. As setas amarelas indicam o ponto de inserção dos óvulos. As setas brancas apontam as margens dos carpelos onde os óvulos estão inseridos.

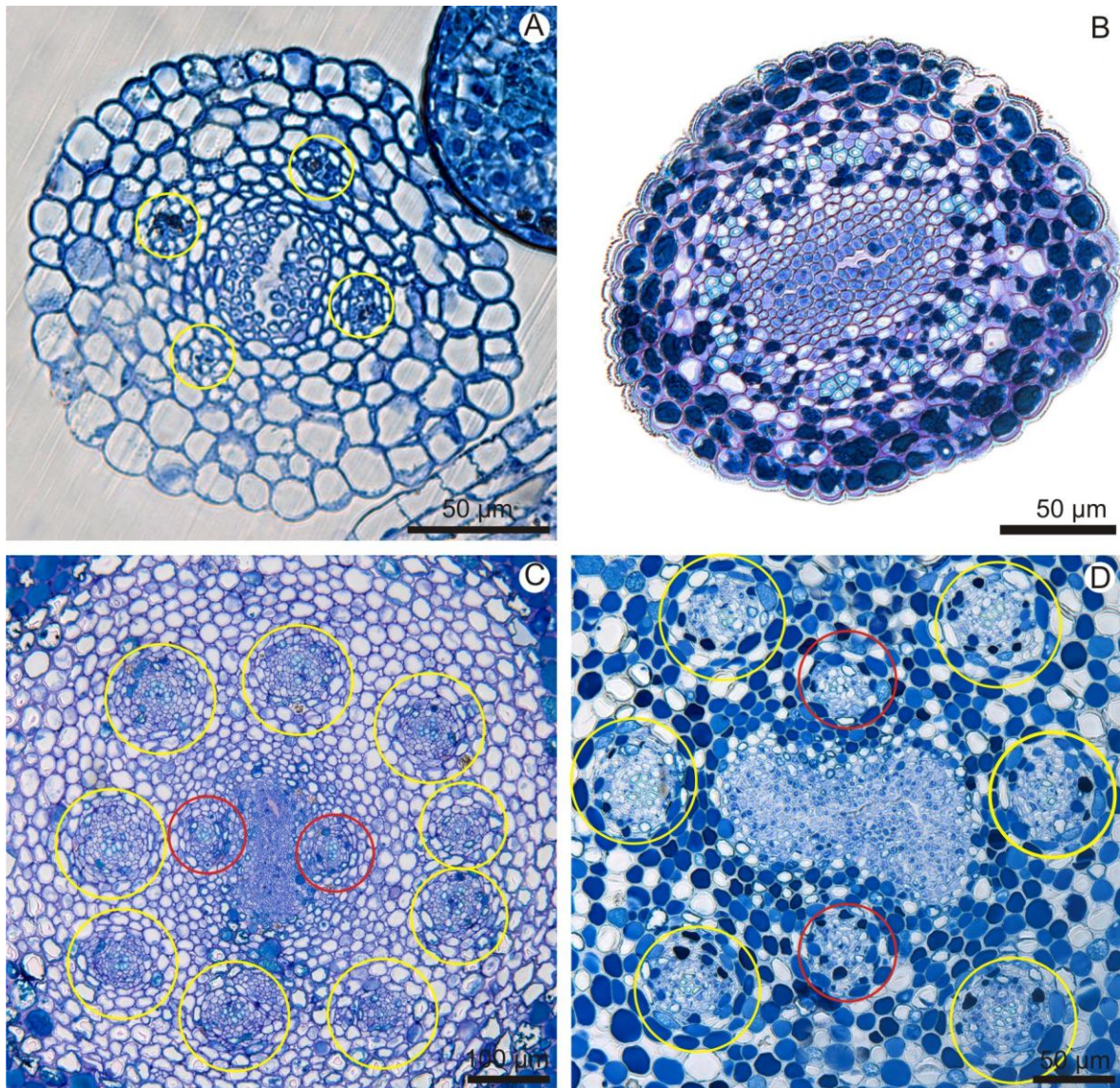


Figura 23: Vascularização do estilete. A a D- secções transversais do estilete observadas em microscopia de luz. A- *Myrcia racemosa*; B- *Eugenia punicifolia*; C- *Syzygium jambos*; D- *S. malaccense*. Os círculos destacam os feixes vasculares. Círculos vermelhos destacam os feixes mais internos.

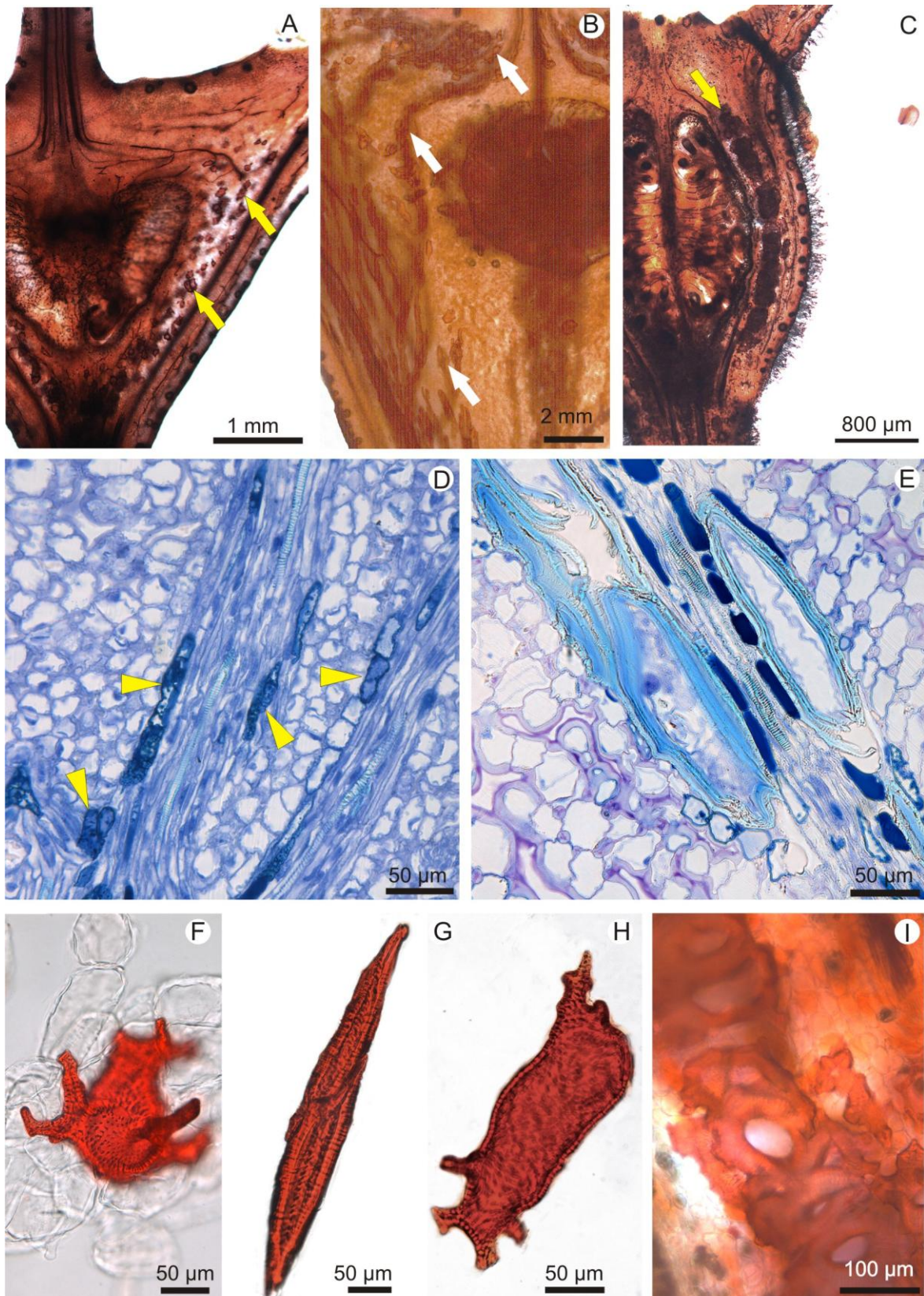


Figura 24: Esclereídes. A a E e I secções longitudinais do ovário; A a C e I- obtidas a mão livre e coradas com safranina; A- *Psidium cattleianum*; B- *Syzygium jambos*; C- *Psidium guineense*; D- esclereídes jovens (cabeça de seta) em *S. jambos*; E- Esclereíde de *S. jambos* ainda com citoplasma; F a I- diferentes formatos de esclereídes; F e H- *P. cattleianum*; G- *S. jambos*; I- *P. guineense*. As setas indicam a localização dos esclereídes.

2.4 Discussão

O desenvolvimento floral em Myrteae revelou semelhanças entre as espécies e uma grande diversidade estrutural do gineceu.

A sequência padrão de desenvolvimento dos verticilos em todas as espécies analisadas de Myrteae: sépalas→ pétalas→ gineceu→ androceu, é semelhante ao encontrado em espécies de *Agonis*, *Leptospermum*, *Kunzea* e outras seis espécies do sub-grupo informal “Baeckea” (Carrucan & Drinnan, 2000; Drinnan & Carrucan, 2005), todos representantes da tribo Leptospermeae, cujas relações com as tribos Myrteae, Eucalypteae e Syncarpieae não estão resolvidas (Wilson *et al.* 2005).

Nossa análise do desenvolvimento floral em Myrteae revela que o ovário ínfero forma-se pela elevação inicial dos carpelos conferindo uma conformação côncava ao meristema floral. A projeção do ovário no centro do botão floral é interpretada por Carrucan & Drinnan (2000), no sub-grupo Baeckea, como sendo uma invaginação no meristema convexo. A conformação do meristema floral e a vascularização do gineceu têm sido utilizadas para tipificar a formação do ovário ínfero em famílias como Campanulaceae, Cactaceae, Saxifragaceae, Araliaceae (Kaplan 1967; Soltis & Hufford, 2002; Costello & Motley, 2004). Nestas famílias o ovário ínfero pode ser tipificado de duas maneiras (Kaplan, 1967), segundo sua formação: a) apendicular - o desenvolvimento do receptáculo se dá antes da organogênese do perianto, que se dá pelo crescimento da periferia do meristema apical convexo conferindo-lhe um contorno côncavo. Os feixes vasculares são sempre ascendentes. Ocorre na maioria das famílias com ovário ínfero, b) receptacular, o desenvolvimento do receptáculo se dá após a organogênese do perianto e o meristema apical permanece convexo. Este tipo é caracterizado pela presença de feixes condutores que sobem através do hipanto até os verticilos florais e, a partir daí, descem invertidos até os óvulos. No entanto nossos resultados demonstram que tanto nas espécies que apresentam vascularização sempre ascendente, como nas que apresentam feixes transeptais, o meristema floral apresenta durante o desenvolvimento do perianto uma conformação côncava. Dessa forma, sugerimos que um dos caracteres (vascularização da

placenta e conformação do meristema floral), não é um bom parâmetro para inferências sobre a natureza do ovário ínfero em Myrtaceae.

A caracterização das flores das espécies amostradas como inferovariadas, exceção feita a *Myrciaria floribunda* com ovário semi-ínfero, remete aos conceitos de ovário ínfero e de hipanto, nem sempre claros na literatura. Segundo Soltis & Hufford (2002), em um ovário ínfero os apêndices florais são inseridos no ovário. Simpson (2010) é mais específico ao definir que o perianto, o androceu e/ou o hipanto estão inseridos no ápice do ovário. Quer (2001) conceitua o ovário ínfero como concrecido ao receptáculo e o hipanto como a fusão da parede do ovário com o receptáculo, podendo ser um receptáculo simplesmente afundado onde não há fusão com o gineceu. Endress & Doyle (2009) tratam o hipanto como proveniente da fusão congênita de todas as partes florais externas.

Nos estudos em Myrtaceae, a definição de hipanto envolve conceitos contraditórios que definem hipanto como sendo uma extensão do receptáculo formada pela fusão de pétalas, sépalas e estames (Soltis & Hufford, 2002). Enquanto a maioria dos trabalhos sobre a família refere-se ao hipanto como sendo o receptáculo fusionado aos carpelos e, usualmente, a fusão da base das sépalas é considerada um prolongamento do hipanto (Landum, 1986; Landrum & Kawasaki, 1997; Carrucan & Drinnan, 2000; Belsham & Orlovich, 2003; Proença *et al.*, 2006, Craven e Biffin 2010). Dahlgren & Thorne (1984) definem o hipanto “verdadeiro” em Myrtales como uma extensão em forma de “taça” com origem no tubo floral ou no receptáculo independentemente da posição do ovário. Este conceito é inferido no trabalho de Lucas *et al.* (2011) e está bem detalhado em Simpson (2010) (Anexo B). Nesta interpretação hipanto e ovário ínfero são estruturas independentes, podendo ocorrer ovário ínfero sem a presença do hipanto e o hipanto pode estar presente em flores com ovário súpero. Esta abordagem permite mais clareza nas definições, melhora as descrições, e parece refletir com mais fidelidade o que ocorre na natureza, quando se trata de variabilidade.

O ovário ínfero, predominante nas espécies estudadas, surgiu em diferentes momentos durante a evolução das angiospermas, desde as Nymphaeales até as Asterides (Endress 2011) estando presente em pelo menos 82 famílias de angiospermas (Grant 1950). Em um mesmo gênero o ovário pode

possuir um gradiente de posicionamento que vai de súpero a totalmente ínfero apresentando ainda estágios intermediários como $\frac{1}{4}$ e $\frac{1}{2}$ ínfero (Mort & Soltis, 1999).

O significado evolutivo do ovário ínfero tem sido atribuído à três fatores: a) maior proteção aos óvulos das flores polinizadas por animais com aparelho bucal potencialmente destrutivo (besouros, pássaros), b) arquitetura mais econômica, pois duas estruturas envolvidas com a proteção (parede do ovário e do tubo floral) são combinadas em uma única e c) maior aporte de energia e sua distribuição para os óvulos devido a menor distância percorrida pelos feixes vasculares até atingir os óvulos (Grant 1950; Stebbins 1974).

O ovário semi-ínfero observado em *Myrciaria floribunda* é uma característica relativamente recente associada aos membros da família. Embora tradicionalmente Myrtaceae apresente flores com ovário ínfero (Candolle, 1828; Schmid, 1972a), na classificação mais atual (Wilson *et al.* 2005), além do ovário ínfero a família possui representantes com ovário semi-ínfero e súpero (Belsham & Orlovich, 2002; Wilson, 2011). Representantes superovariados estão restritos à subfamília Psiloxylloideae (Wilson *et al.*, 2005; Wilson, 2011) e à tribo Xanthostemoneae pertencente a subfamília Myrtoideae (Wilson *et al.*, 2005). Ovário semi-ínfero ocorre nas tribos Lophostemoneae, Kanieae, Metrosidereae, Tristanieae, Eucalypteae, Leptospermeae (Wilson *et al.* 2005). Na tribo Myrteae o ovário semi-ínfero estava restrito à *Luma apiculata* e *Myrcia rosangelae* (Belsham & Orlovich, 2003, Lughadha *et al.*, 2012). Em relação ao número de carpelos, Lopes (2008) estabeleceu o gineceu de *E. uniflora* como sendo formado por dois carpelos nos quais os bordos fusionados se dilatam no sentido distal originando o estilete e no sentido proximal dando origem às regiões apical e mediana do septo ovariano onde uma fenda seria formada pela ausência de fusão nesta porção. Número de carpelos igual e estrutura semelhante foram encontrados na maioria das espécies, diferindo apenas em *Myrceugenia myrcioides* e nas espécies de *Psidium*, que apresentam mais de dois carpelos e não possuem septo apical.

Este dado está de acordo com a literatura uma vez que, o septo apical ocorre ocasionalmente em gineceus sincárpicos e bicarpelares (Jäger-Zürn, 2011) e está associado ao abaulamento da região superior do lóculo mas não da parede externa do ovário e parece ser uma continuação do canal estilar, que em casos

extremos pode tocar a base do ovário (Endress, 2011a). Desse modo seu desenvolvimento está estruturalmente conectado à anacrostilia (basistilia) causada pelo inchaço da porção apical da face dorsal do carpelo. Isso faz com que o ponto de inserção do estilete seja deslocado para baixo (Jäger-Zürn, 2011). O septo apical, juntamente com o alongamento dos tegumentos ou do nucelo, é interpretado como formas de aproximação do canal estilar com o óvulo (Endress, 2011b).

Segundo Jäger-Zürn (2011), em ovários com septo apical, a distensão da face dorsal do carpelo faz com que o feixe dorsal faça uma curva para baixo e penetre o septo apical e, então, dobre para cima, penetrando estilete e estigma. Nas flores estudadas foi observado gineceu bicarpelar com septo apical sem os feixes que descem invertidos em espécies de *Syzygium*, *Myrcia*, *Neomitanthes* e em *Myrciaria floribunda*. Desta forma as variações observadas na vascularização das espécies de Myrteae podem estar associadas tanto à formação do septo apical quanto à origem do ovário ínfero. No capítulo três as inferências sobre a origem do ovário e vascularização do gineceu são discutidas levando-se em conta as relações filogenéticas na tribo, o que pode auxiliar no estabelecimento de qual dos caracteres (vascularização ou conformação do meristema apical) se mostra mais consistente para o estabelecimento da origem do ovário ínfero em Myrtaceae.

Uma exceção à estrutura estabelecida até o momento para as espécies bicarpelares foi observada por Barreira (2013) que descreve *Myrrhinium atropurpureum* como bicarpelar sem a presença de septo apical ou fenda no septo ovariano.

Segundo Carr e Carr (1961), o gineceu sincárpico possui um espaço interno paracárpico, que interliga seus carpelos. Endress (1982, 2011a) amplia este conceito e denomina “*compitum*” toda região comum aos carpelos mesmo que topologicamente esta região seja externa à estes. Esta comunicação pode ser feita através de secreção externa, estigmas contíguos, tecidos fusionados ou coniventes e por espaços interloculares. Ao “*compitum*” é atribuída a função de região de emergência dos tubos polínicos e seu direcionamento para quaisquer lóculos do ovário (Carr & Carr, 1961; Williams *et al.*, 1993) favorecendo a competição entre os tubos polínicos germinados em carpelos diferentes (Endress

1982, 2006, 2011a). Nas espécies estudadas, o “*compitum*” ocorre desde o estigma até a fenda existente no septo, logo acima da região de inserção da placenta nas espécies com dois carpelos e até a região superior do ovário, onde o tecido transmissor se extingue, nas espécies que não apresentam septo apical.

Há uma grande variação na classificação morfológica da placentação nas espécies estudadas. A placenta tem sido tipificada na família em geral como axial, e em alguns casos como parietal (Bentham, 1869; Landrum, 1988 e Lucas *et al.*, 2007). Lucas *et al.* (2007) relatam que em táxons com placentação axial, como *Psidium* L., há por vezes dificuldade de definição dos estados deste caráter, por haver uma variação gradual da placentação não peltada para a peltada. Estes autores interpretam a placentação axial como não significativamente diferente da parietal em Myrteae, o que leva ao pressuposto de uma origem carpelar marginal da mesma. Estes dois tipos de placentação estariam associados à variações no grau de desenvolvimento do septo e à condição unilocular observada nos gêneros *Rhodamnia* Jack e *Neomyrtus* Burret seria produto do desenvolvimento septal incipiente (Bentham, 1869). Nas espécies de *Psidium* de nosso estudo, assim como *Myrceugenia myrcioides* a placenta peltada mostrou-se tratar, anatomicamente, dos bordos carpelares. Ao mesmo tempo, não foi observado nestas espécies o desenvolvimento de um eixo com origem caulinar independente dos carpelos, como nas demais espécies, desta forma o eixo onde os óvulos estariam inseridos, segundo os autores acima citados, é originado da fusão entre o dorso dos carpelos, com os óvulos surgindo dos bordos carpelares que penetram os lóculos ovarianos. Este tipo de placentação é considerado como parietal por Puri (1952). Placentação semelhante foi observada em *Myrrhinium atropurpureum* por Barreira (2013).

Lopes (2008) fornece uma origem diferente da placenta em *Eugenia uniflora*, também evidenciada nas espécies bicarpelares aqui estudadas. A origem da placenta independente dos carpelos, a partir de um meristema central residual interno ao verticilo carpelar aponta para sua natureza caulinar, constituindo uma interpretação mais acurada da categoria axial empregada de forma geral na literatura da família. Estes resultados divergem da pressuposta natureza carpelar, implícita no trabalho de Lucas e colaboradores (2007) e evidenciam que a placentação axial (*sensu* Lucas) em Myrteae tem origens distintas.

Como resultado das análises acima, o septo das espécies bicarpelares apresenta três regiões distintas do ponto de vista anatômico e funcional. O eixo onde se localiza a placenta, juntamente com os bordos carpelares aos quais se funde, corresponde à base do septo ovariano. O septo apical, corresponde à intrusão da face ventral do ápice carpelar, enquanto a região mediana é caracterizada pela fenda que interliga os lóculos ovarianos. Esta estrutura é semelhante àquela descrita por Lopes (2008) para *Eugenia uniflora*.

Com base na literatura, Lucas *et al.* (2007) estabeleceram como estados do caráter número de óvulos por ovário, em uma abordagem evolutiva, < 70 e >120. No entanto, as observações mostraram que dois grandes grupos se destacam ao se considerar os estados “dois óvulos por lóculo” e “pluriovulados”. Esta observação será analisada com um enfoque evolutivo no capítulo três.

Foram observados dois tegumentos nos óvulos de todas as Myrteae sul-americanas e apenas um tegumento em *Syzygium*, o que está de acordo com o apontado pela literatura (Schmid, 1980; Biffin *et al.*, 2006). Embora Biffin *et al.* (2006) afirmem que óvulos unitegmentados em Myrtaceae estejam restritos ao gênero *Syzygium*, Lopes (2008) descreve os óvulos de *Eugenia uniflora* como possuindo apenas um tegumento. Os dados aqui obtidos, somados àqueles encontrados na literatura, indicam que a unitegmia em Myrteae parece estar restrita à *Eugenia uniflora* ou, ao menos, tende a estar presente em poucas espécies.

O estudo revelou a presença de células ricas em compostos fenólicos e cristais de oxalato de cálcio envolvendo o ovário e nas camadas mais externas do hipanto. A presença de compostos fenólicos e cristais de oxalato de cálcio é comumente associada à proteção contra herbívoros (Swain, 1979; Franceschi e Horner, 1980; Carmello *et al.* 1995; Coté, 2009; Pimentel *et al.*, 2011, Rocha *et al.*, 2011). Os compostos fenólicos são um grupo de substâncias de grande importância antimicrobiana e servem como barreira de proteção química (Swain, 1979; Carmello *et al.* 1995; Rocha *et al.*, 2011). A função dos cristais de oxalato ainda não é totalmente conhecida, mas estudos indicam que eles podem estar envolvidos com o balanço mineral e o sequestro de resíduos de cálcio oriundo da degradação da parede celular (Kausch and Horner, 1981), com a sustentação mecânica e proteção contra herbivoria (Coté, 2009). Os cristais do tipo drusa

exercem sua função de proteção através da abrasão, fornecendo uma barreira mecânica contra a herbivoria (Coté, 2009). A localização das camadas celulares contendo substâncias fenólicas e drusas, evidencia que tais substâncias, nas flores de Myrtaceae, estão envolvidas com a proteção dos óvulos, contra herbívoros e patógenos.

O tecido composto por células lobadas que deixam entre si espaços do tipo lacuna, encontrado no hipanto das duas espécies de *Syzygium*, fornece ao ovário/fruto destas espécies um aspecto descrito, na literatura, como esponjoso ou aerenquimatoso (Schmid, 1972b; Wilson, 2011). Esta característica confere à seus frutos o potencial para serem dispersados por água (Wilson, 2011), o que permite descrever tal tecido como aerênquima.

A presença de esclereídes nas terminações dos feixes vasculares da folha é uma característica da ordem Myrtales Juss. ex Bercht. & J. Presl (Cardoso *et al.*, 2009). Nas flores de Myrtaceae a ocorrência de células esclerificadas está restrita a *Syzygium* e *Eucalyptus* (Malaviya, 1967; Schmid, 1972b; Burrows 2000). A esclerificação gradual das flores de Myrtaceae tem sido interpretada como uma adaptação à polinização por pássaros, por aumentar a resistência das estruturas que servem como plataforma de pouso (Schmid, 1972b). Alvin (1987) registra que os esclereídes presentes nas folhas de *Androstachys johnsonii* Prain (Euphorbiaceae) estão ligados ao transporte de água. O mesmo foi inferido por Louro *et al.* (2003) para *Croton compressus* Lam (Euphorbiaceae), segundo este autor esta seria uma estratégia que aumentaria a resistência da planta ao ambiente seco. Relacionando a disposição das esclereídes nas espécies estudadas com as funções propostas pela literatura pode-se inferir que em *Psidium cattleianum* e *Syzygiu malaccense* estas células podem estar envolvidas com a adaptação à polinização por pássaros, no entanto as espécies de *Psidium* são reconhecidamente polinizadas por insetos (Proença e Gibbs, 1994). A disposição das esclereídes ao londo dos feixes condutores em *S. jambos* pode indicar que nesta espécie tais células estejam, ainda que como função secundária, auxiliando o transporte de água. Ainda nesta espécie, a função de sustentação pode ser inferida devido à característica laxa do tecido do hipanto. Em *Psidium guineense* a forma anelar e a disposição das esclereídes envolvendo o ovário como uma bainha, evidencia a função de proteção dos óvulos.

2.5 Conclusões

Em contraposição à semelhança existente entre os caracteres morfológicos de Myrtaceae (McVaugh, 1963; Benth, 1869; Kawasaki, 1989; Proença, 1990; Barroso & Peixoto, 1995), foi encontrada uma grande variação anatômica no gineceu das espécies de Myrteae sulamericanas. Destacadamente o processo de formação do ovário ínfero, a vascularização do receptáculo, a origem e a vascularização da placenta são indícios de quão diferentes podem ter sido os caminhos evolutivos percorridos até se chegar aos representantes atuais da tribo.

As variações no processo de formação do ovário ínfero e na origem da placenta são apresentadas pela primeira vez para a família.

A vascularização da placenta é incongruente tanto com a conformação do meristema floral, para inferir a origem do ovário ínfero, quanto com a presença do septo apical, para explicar sua variação.

Estudos anatômicos que ampliem o número de espécies são necessários a fim de mapear a abrangência das variações estruturais encontradas, investigar a ocorrência da unitegmia em outras espécies de Myrteae além da encontrada por Lopes (2008) assim como tentar estabelecer a origem do ovário ínfero e do hipanto em Myrteae.

2.6 Referências

- Alvin KL. 1987.** Leaf Anatomy of *Androstachys johnsonii* Prain and its Functional Significance. *Annals of Botany*. **59 (5)**: 579-591.
- Barreira NP. 2013.** Estrutura floral, desenvolvimento e aspectos da Biologia Reprodutiva de *Myrrhinium atropurpureum* Schott (Myrtaceae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Barroso GM, Peixoto AL. 1995.** Myrtaceae da Reserva Florestal de Linhares, ES, Brasil – gêneros *Calyptrothos* e *Marlierea*. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão* **3**: 3-38.
- Belsham SR, Orlovich DA. 2002.** Development of the hypanthium and androecium in New Zealand Myrtoideae (Myrtaceae). *New Zealand Journal of Botany*. **40**: 687-695.
- Belsham SR, Orlovich DA. 2003.** Development of the hypanthium and androecium in South American Myrtoideae (Myrtaceae). *New Zealand Journal of Botany* 2003. **41**: 161-169.
- Bentham G. 1869.** Notes on Myrtaceae. *Botanical Journal of Linnean Society of Botany*. **10**: 101–166.
- Biffin E, Craven LA, Crisp MD, Gadek PA. 2006.** Molecular systematics of *Syzygium* and allied genera (Myrtaceae): Evidence from the chloroplast genome. *Taxon* **55**: 79-94.
- Biffin E, Lucas EJ, Craven LA, Costa IR, HarringtonMG, CrispMD. 2010.** Evolution of exceptional species richness among lineages of fleshy-fruited Myrtaceae. *Annals of Botany* **106**: 79–93.
- Bohte A, Drinnan, A. 2005.** Ontogeny, anatomy and systematic significance of ovular structures in the ‘eucalypt group’ (*Eucalypteae*, Myrtaceae). *Plant Systematic and Evolution*. **255**: 17–39.
- Briggs BG, Johnson LAS. 1979.** Evolution in the Myrtaceae-evidence from inflorescence structure. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* **102 (4)**: 157-256.
- Burrows GE. 2000.** An anatomical study of epicormic bud strand structure in *Eucalyptus cladocalyx* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany*. **48**: 233–245.
- Candolle, AP. De. 1828.** *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis* **3**: 207-296.

- Carmello SM, Machado SR, Gregório EA. 1995.** Ultrastructural aspects of the secretory duct development in *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **18**:95-103.
- Carr SGM, Carr DJ. 1961.** The functional significance of syncarpy. *Phytomorphology*, Jodhpur, **11**: 249-256.
- Carrucan AE, Drinnan AN. 2000.** The ontogenetic basis for floral diversity in the *Baeckea* sub-group (Myrtaceae). *Kew Bulletin* **55**: 593 – 613.
- Craven LA, Biffin E. 2010.** An infrageneric classification of *Syzygium* (Myrtaceae). *Blumea* **55**: 94–99.
- Cardoso CMV, Proença SL, Sajo MG. 2009.** Foliar anatomy of the subfamily Myrtoideae (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany*. **57**: 148 – 161.
- Coté GG. 2009.** Diversity and distribution of idioblasts producing calcium oxalate crystals in *Dieffenbachia seguine* (Araceae). *American Journal of Botany* **96(7)**: 1245–1254.
- Costello A, Motley TJ. 2004.** The development of the superior ovary in *Tetraplasandra* (Araliaceae). *American Journal of Botany* **91**: 644-655.
- Dahlgren R, Thorne RF. 1984.** The Order Myrtales: Circumscription, Variation, and Relationships. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **71 (3)**: 633-699.
- Drinnan AN, Carrucan AE. 2005.** The ontogenetic basis for floral diversity in *Agonis*, *Leptospermum* and *Kunzea* (Myrtaceae). *Plant Systematic and Evolution* **251**: 71–88.
- Endress PK. 1982.** Syncarpy and alternative modes of escaping disadvantages of apocarpy in primitive angiosperms. *Taxon* **31(1)**: 48-52.
- _____. **2006.** Angiosperm floral evolution: morphological developmental framework. *Advances in Botanical Research*. **44**: 1–61.
- _____. **2011a.** Evolutionary diversification of the flowers in angiosperms. *American Journal of Botany* **98(3)**:1-27.
- _____. **2011b.** Angiosperm ovules: diversity, development, evolution. *Annals of Botany*. Invited review: part of a special issue on evolution and development. 1-25.
- Endress PK, Doyle JA. 2009.** Reconstructing the ancestral angiosperm Flower and ITS Initial specializations. *American Journal of Botany*. **96 (1)**: 22–66.

- Feder N, O'Brien TP. 1968.** Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* **55(1)**: 123–143.
- Franceschi VR, Horner JR HT. 1980.** Calcium oxalate crystals in plants. *Botanical Review* **46**: 361- 427.
- Quer PF. 2001.** Diccionariod de Botánica.2ª. Ed. Peninsula. Barcelona.
- Gabe M. 1968.** Techniques Histologiques. Paris: Masson & Cie.
- Gahan PB. 1984.** Plant Histochemistry and Cytochemistry – an introduction. London: Academic Press.
- Grant V. 1950.** The protection of the ovules in flowering plants. *Evolution* **4**: 179-201.
- Howart WO, Horner LGG. 1959.** Practical Botany for the Tropics. London: University London Press.
- Jäger-Zürn I. 2011.** Neglected features of probable taxonomic value in Podostemaceae: The case of *Polypleurum*. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 206 (1): 38–46.
- Johansen DA. 1940.** Plant microtechnique. New York: MacGraw-Hill Company Book.
- Johnson LAS, Briggs BG. 1984.** Myrtales and Myrtaceae – a phylogenetic analysis. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **71** (3): 700–756.
- Kaplan DR. 1967.** Floral Morphology, Organogenesis and Interpretation of the Inferior Ovary in *Dawningia Bacigalupii*. *American Journal of Botany* **54** (10): 1274-1290.
- Kawasaki ML. 1989.** Flora da Serra do Cipó, MG, Brasil: Myrtaceae. *Boletim de Botânica da Univercidade de São Paulo* **11**: 121-170.
- Kausch AP, Horner JRHT. 1981.** The relationship of air space formation and calcium oxalate crystal development in young leaves of *Typha angustifolia* L. (Typhaceae). *Scanning Electron Microscopy* **3**: 263 – 272.
- Ladd PG, Parnell JAN, Thomson G. 1999.** Anther diversity and function in *Verticordia* DC. (Myrtaceae). *Plant systematic and evolution* **219**:79-97.
- Landrum LR. 1986.** Campomanesia, Pimenta, Blepharocalyx, Legrandia, Acca, Myrrhinium, and Luma (Myrtaceae). *Flora Neotropica*. The New York Botanical Garden. Bronx, New York [Flora Neotropica Monographs 45].
- _____. **1988.** Systematics of *Myrteola* (Myrtaceae). *Systematic Botany*. **13**: 120–132.

- Landrum LR, Kawasaki ML. 1997.** The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. *Brittonia* **49** (4): 508-536.
- Lopes BC. 2008.** Desenvolvimento floral e estudo palinológico de *Eugenia uniflora* L. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Louro RP, Ortiz B, Santiago LJM. 2003.** Leaf ultrastructure of *Croton compressus* Lam (Euphorbiaceae). *Acta Microscopica* **12**(B):61-62.
- Lucas EJ, Harris SA, Mazine FF, Belsham SR, Nic Lughadha EM, Telford A, Gasson PE, 2007.** Chase MW. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). *Taxon* **56** (4):1105-1128.
- Lucas EL, Matsumotok, Harris SA, Nic Lughadha EM, Benardini B, Chasey MW. 2011.** Phylogenetics, Morphology, and evolution of the large genus *Myrcia* S.L. (Myrtaceae). *International Journal of Plant Science*. **172**(7):915–934.
- Lughadha EN, Proença C. 1996.** survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* **83**:480-503.
- Lughadha EN, Lucas EJ, Sobral M, Woodgyer EM. 2012.** A new species and a replacement name in *Myrcia* (Gomidesia; Myrtaceae) from north-eastern Brazil. *Kew Bulletin* **67**: 19 - 24
- Malaviya, M. 1967.** On the occurrence of sclereids in two genera of myrtaceae. *Plant Sciences*. **66** (2): 45-52.
- Mcvaugh R. 1963.** Tropical American Myrtaceae II. *Fieldiana, Botany* **29** (8): 393-532.
- Mort ME, Soltis DE. 1999.** Phylogenetic Relationships and the Evolution of Ovary Position in *Saxifraga* section *Micranthe*. *Systematic Botany*. **24**(2): 139-147.
- O’leary N, Calviño Ci, Martínez S, Lu-Irving P, Olmstead Rg, Múlgura Me. 2012.** Evolution of morphological traits In *Verbenaceae*. *American Journal Of Botany* **99**(11): 1–15.
- Pimentel RR. 2010.** Anatomia e desenvolvimento da Flor de *Eugenia neonitida* Sobral (MYRTACEAE). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Pimentel RR, Machado SR, Rocha JF. 2011.** Estruturas secretoras de *Pavonia alnifolia* (Malvaceae), uma espécie ameaçada de extinção. *Rodriguésia*. **62**(2): 253-262.

- Proença CB. 1990.** Revision of *Siphoneugena* Berg. *Edinburgh Journal of Botany* **47** (3): 239-271.
- Proença CEB, Gibbs PE. 1994.** Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. *New Phytologist* **126**: 343-354.
- Proença CB, Lughadha EMN, Lucas EJ, Woodgyerem. 2006.** *Algrizea* (Myrteae, Myrtaceae): A New Genus from the Highlands of Brazil. *Systematic Botany*. **31(2)**: 320–326.
- Puri V. 1952.** Placentation in angiosperms. *The Botanical Review*. **18 (9)**: 603-651.
- Robards, A. W. 1978.** An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In J. L. Hall, (ed.). *Electron Microscopy and citochemistry of plant cells*. 343-344. Elsevier, New York.
- Rocha JF, Pimentel RR, Machado SR. 2011.** Estruturas secretoras de mucilagem em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): distribuição, caracterização morfoanatômica e histoquímica. *Acta Botanica Brasilica* **25(4)**: 751-763.
- Sass JE. 1951.** Botanical microtechnique. The Iowa State College Press, Iowa
- Schmidt R. 1972 a.** A resolution of the *Eugenia-Syzygium* controversy (Myrtaceae). *American Journal of Botany*. **59**: 423–436.
- _____ **1972 b.** Floral anatomy of Myrtaceae. I. *Syzygium*. *Bot. Jahrb. Syst.* **92**: 433-489.
- _____ **1972 c.** Floral anatomy of Myrtaceae, II. *Eugenia*. *The Journal of the Arnold Arboretum* **53**: 336-363.
- Schmid R. 1980.** Comparative anatomy and morphology of *Psiloxylon* and *Heteropyxis*, and the subfamilial and tribal classification of Myrtaceae. *Taxon* **29**: 559–595.
- 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*. 33-34. Rio de Janeiro, Sociedade brasileira de Microscopia.
- Simpson MG. 2010.** *Plant Systematics*. Second edition. Elsevier Academy Press. Amsterdam.
- Soltis DE, Hufford L. 2002.** Ovary position diversity in saxifragaceae: clarifying the homology of epigyny. *International Journal of Plant Sciences* **163** (2):277-293.

- Souza MC, Morim MP, Conde MMS, Menezes LFT. 2007.** Subtribo Myrciinae O. Berg (Myrtaceae) na Restinga da Marambaia, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*. **21**(1): 49-63.
- Stebbins GL. 1974.** Flowering Plants: Evolution above the species level. Belknap Press of Harvard Univ., Cambridge.
- Swain T. 1979.** Tannins and lignins. *In* Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites (G.A. Rosenthal & D.H. Jansen, eds.). Academic Press, New York, p.657-682.
- Williams EG, Sage TL, Thien LB. 1993.** Functional Syncarpy by Intercarpellary Growth of Pollen Tubes in a Primitive Apocarpous Angiosperm, *Illicium floridanum* (Illiciaceae). *American Journal of Botany* **80** (2): 137-142.
- Wilson PG, O'Brien MM, Gadek PA, Quinn CJ. 2001.** Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany* **88**: 2013–2025.
- Wilson PG, O'Brien MM, Helsewood MM, Quinn CJ. 2005.** Relationships within Myrtaceae *sensu lato* based on a *matK* phylogeny. *Plant Systematics and Evolution* **251**:3-19.
- Wilson PG. 2011.** Myrtaceae *in*: Kubitzki K. The Families and Genera of Vascular Plants, Vol. 10 Flowering Plants Eudicots, 212-271.
- Xi Z, Ruhfel BR, Schaefer H, Amorim AM, Sugumaran M, Wurdack KJ, Endress PK, Matthews ML, Stevens PF, Mathews S, Davis CC. 2012.** Phylogenomics and a posteriori data partitioning resolve the Cretaceous angiosperm radiation Malpighiales. *PNAS*. **109** (43): 17519–17524

CAPÍTULO II

3. Estruturas secretoras do eixo reprodutivo da tribo Myrteae DC. (Myrtaceae).

3.1 Introdução

Uma importante fonte de dados que vem sendo utilizada para auxiliar na compreensão da evolução e no estabelecimento de relações entre as espermatófitas é a organização anatômica das estruturas secretoras (Judd *et al.*, 2009), associada ao estudo da composição química da secreção e aos aspectos do desenvolvimento e da ultraestrutura das suas células (Fahn, 1979, 1988; Thomas, 1991; Machado, 2000; Judd *et al.*, 2009).

A literatura especulativa (Fahn e Shimony, 1977; Fahn, 1979, 1988) diz que as estruturas secretoras exógenas foram as primeiras a surgir e que seu desenvolvimento se deu a partir de tricomas tectores. Thomas (1991) sugere que a evolução de estruturas secretoras multicelulares teria se dado a partir de estruturas não glandulares originando dois grupos: a) coléteres e estruturas secretoras de mucilagem, resina ou óleo e b) glândulas secretoras de néctar. Denissova (1975) especula que a origem das estruturas secretoras foi a partir de células parenquimáticas originando três grupos: a) laticíferos, através da evolução de idioblastos, b) estruturas secretoras epidérmicas, a partir de grupos de idioblastos subepidérmicos e c) canais e cavidades, com origem em células não especializadas, que eliminam de substâncias em espaço intercelular.

Dentre as eudicotiledôneas core, ordens mais proximamente relacionadas a Myrtales como Malvales (“clado malvid”) ou distantes como Asterales (“clado campanulids”) (APG III, 2009) fornecem exemplos nos quais a presença, a diversidade dos tipos de estruturas secretoras, a localização em que ocorrem ou a natureza da secreção constituem sinapomorfias em nível familiar e genérico (Lersten & Curtis, 1985; Castro *et al.*, 1997; Judd *et al.*, 2009). Em Malvaceae por exemplo, os nectários florais, as cavidades e os canais secretores de mucilagem, são utilizados como caracteres que corroboram o estabelecimento da família como um grupo monofilético (Judd *et al.*, 2009).

Em Myrtaceae, uma sinapomorfia marcante é a presença de glândulas translúcidas (APG III, 2009; Stevens, 2001 em diante). Tais glândulas são

descritas como cavidades secretoras de óleos e sua estrutura tem valor taxonômico na família. A presença ou ausência de cavidades secretoras de óleo em diferentes órgãos de espécies do gênero *Eucalyptus* (tribo *Eucalyptae*) tem sido utilizada como um caráter útil na identificação destas, inclusive em material herborizado (Carr & Carr, 1969).

O estudo da natureza química da secreção produzida nas cavidades em Myrtaceae desperta maior interesse no contexto da divisão atual da família. A tribo *Psiloxyleae* apresenta cavidades que não secretam óleo, divergindo do restante da família, o que evidencia uma possível apomorfia desta tribo (Wilson *et al.*, 2005).

Estudos anatômicos e ontogenéticos das cavidades secretoras de Myrtaceae foram realizados por diversos autores. Processo de formação esquizolisígeno foi relatado para as cavidades secretoras presentes nas folhas, caules e flores de *Myrtus communis* (Cicarelli *et al.*, 2003, 2008). Formação esquizógena foi descrita em diversas espécies de *Eucalyptus* (Carr & Carr, 1970) e em *Myrtus communis* (Kalachanis & Psaras, 2005). Os processos esquizógeno e esquizolisígeno não são bem estabelecidos na formação das cavidades das folhas de *Malaleuca alternifolia* (List *et al.*, 1995).

As cavidades presentes no eixo reprodutivo de *Eugenia uniflora* (Lopes, 2008) e *Eugenia neonitida* (Pimentel, 2010) apresentam processos diferentes de formação do lume. Em *E. neonitida* a formação do lume se dá por afastamento das células epiteliais, o que caracteriza o processo esquizógeno, enquanto em *E. uniflora* esse processo é esquizolisígeno. Uma análise mais detalhada da ontogênese e desenvolvimento bem como da estrutura e ultra-estrutura das cavidades e da natureza e processos de secreção em Myrteae podem apontar caracteres e seus estados que auxiliem na interpretação das relações filogenéticas na tribo.

Outra característica comum aos representantes de Myrtales é a presença de coléteres e estípulas rudimentares que podem ter se derivado a partir destes (Weberling, 2000; Stevens, 2001 em diante, APG III, 2009). Coléteres são estruturas secretoras multicelulares especializadas na secreção de uma substância viscosa constituída por uma mistura de mucilagem, substâncias

lipofílicas e/ou proteínas (Kronestedt-Robards & Robards, 1991). As mucilagens podem desempenhar diferentes funções nas plantas (Fahn, 1979; Gregory & Baas, 1989; Roshchina & Roshchina, 1993; Clifford *et al.*, 2002, Martini *et al.*, 2003). Estruturalmente os coléteres podem se apresentar como escamas, tricomas secretores, emergências ou glândulas encontradas em estípulas, pecíolos, lâmina foliar, brácteas, bractéolas, cálice e corola; tendo como provável função proteger o desenvolvimento meristemático, caulinar e floral. (Thomas, 1991).

Vários trabalhos (Thomas, 1991; Endress & Bruyns, 2000; Renobales *et al.*, 2001; Schwarz & Furlan, 2002; Klein *et al.*, 2004; De-Paula & Oliveira, 2007) revelam a importância taxonômica da presença, localização, morfologia, ultra-estrutura e composição da secreção dos coléteres. Uma extensa revisão sobre aspectos estruturais, funcionais e filogenéticos de coléteres foi apresentada por Thomas (1991) em sessenta famílias de Eudicotiledôneas sem, no entanto, referência para a família Myrtaceae. Os dados de Lopes (2008) e Pimentel (2010) constituem os primeiros registros da ocorrência de coléteres em Myrteae e as primeiras descrições anatômicas e análises histoquímicas de tais estruturas para a família. Estes dados revelaram a presença de coléteres do tipo filiforme protegendo os meristemas vegetativos e florais de *Eugenia neonitida* e *E. uniflora*. Entretanto, resultados preliminares da anatomia floral de Myrteae apontavam para a inexistência de coléteres em algumas espécies como *Myrcia racemosa* e *Myrciaria floribunda*.

Este capítulo objetiva fornecer dados relativos à presença, estrutura e mecanismos de secreção dos coléteres e cavidades presentes nas flores de espécies de Myrteae. Através da análise ultra-estrutural das células secretoras busca-se correlacionar estas informações com as diferentes classes de substâncias químicas produzidas, com os mecanismos celulares de secreção e com o processo de formação do lume das cavidades. O conhecimento relativo às estruturas secretoras de representantes sul-americanos de Myrteae pode subsidiar estudos com abordagens ecológicas e evolutivas para a tribo.

3.2 Material e métodos

O material botânico e as técnicas para as análises anatômicas e morfológicas foram as mesmas do capítulo 1 (Fig. 1 e 2).

Para identificar as diferentes classes de compostos químicos presentes nos diferentes tipos morfológicos de estruturas secretoras e a natureza das paredes celulares, foram utilizadas secções de material recém coletado, não fixado e/ou estocados em álcool 70%, as quais foram tratadas com Sudan IV (Johansen 1940) e Sudan Black B (Pearse 1980) para lipídeos em geral; Cloreto férrico a 10% (Johansen 1940) e dicromato de potássio 10% (Gabe 1968) para detectar compostos fenólicos; Vermelho de Rutênio a 0,02% para substâncias pécticas (Jensen 1962); Reagente de Fehling para açúcares redutores (Purvis *et al.* 1964); Aniline blue black (Fisher 1968), Solução de azul mercúrio de bromofenol (Mazia *et al.* 1953) e Xylidine Ponceau (Cortelazzo & Vidal 1991, Amaral *et al.* 2001) para detecção de proteínas; Lugol para amido (Johansen 1940); Ácido periódico/Reagente de Schiff (PAS) para polissacarídeos neutros (Cortelazzo 1992, Taboga & Vilamaior 2001, Amaral *et al.* 2001); ácido acético e ácido clorídrico para identificação de cristais de oxalato de cálcio (Howart & Horner 1959); floroglucinol em ácido clorídrico (Sass 1951) para lignina. Foram aplicados tratamentos controle para os testes histoquímicos de acordo com a indicação dos respectivos autores acima citados.

Para análises em microscopia eletrônica de transmissão, as amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,3, pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1%, desidratadas em série crescente de soluções de acetona e emblocadas em resina Araldite. As secções ultra-finas foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo e examinadas em microscópio TECNAL.

3.3 Resultados

Cavidades Secretoras

As cavidades secretoras estão presentes nos ferófilos, nos prófilos, nas sépalas, nas pétalas, nos estames e no hipanto de todas as espécies (Fig. 3A a F), variando quanto à densidade e ao tamanho. Em espécies como *Plinia grandifolia*, *P. edulis* e *Eugenia punicifolia*, as cavidades ocorrem de forma mais esparsa e apresentam dimensões reduzidas relativamente ao tamanho do órgão (Fig. 3 C, D F), quando comparadas a outras espécies (Fig. 3A, B, E).

Foram observadas três origens distintas para as cavidades. I- Em todas as espécies, uma célula protodérmica se diferencia das demais por apresentar o citoplasma denso e núcleo conspícuo (Fig. 4A). Esta célula sofre uma primeira divisão no sentido periclinal e, através de sucessivas divisões mitóticas, são formados grupos de células com as mesmas características da célula original (Fig. 4B). II- Em *Myrciaria floribunda* as cavidades do hipanto tem origem a partir do meristema fundamental nas camadas subepidérmicas onde o tecido parenquimático é rico em substâncias fenólicas. Estas células exibem citoplasma denso, núcleo volumoso, vacuola reduzido e quando comparadas às células adjacentes, ricas em compostos fenólicos, coram-se menos intensamente com o azul de toluidina (Fig. 4 C e D). III- Em *Myrceugenia myrcioides*, com o desenvolvimento do botão floral, são observadas formações de novas cavidades a partir de divisões de células parenquimáticas ao lado de cavidades totalmente diferenciadas (Fig. 4E e F).

O desenvolvimento das cavidades segue com o aumento do volume do grupo de células precursoras das cavidades (Fig. 5 A e B), a polarização da células com o vacúolo voltado para o interior da cavidade (Fig. 5C) e o afastamento destas da região central (Fig. 5 D e E), dando origem ao lume (Fig. 5F). Em torno das células centrais, que darão origem ao epitélio secretor, é observada uma bainha de células alongadas no sentido tangencial (Fig. 5B a F). Estas comprimem as células parenquimáticas adjacentes, formando uma segunda bainha mais externa de células alongadas tangencialmente ao redor das cavidades (Fig. 5C a F).

Na maturidade, as cavidades são formadas pelo lume de origem esquizógena, pelo epitélio secretor, por uma bainha formada pelas células adjacentes ao epitélio e um a dois estratos de células parenquimáticas comprimidas que envolvem as cavidades (Fig. 6A a C e 7A). Pode haver a internalização da cavidade no tecido parenquimático, através da multiplicação das células parenquimáticas situadas entre a epiderme e a cavidade. Nas pétalas e sépalas, as cavidades chegam a ocupar a totalidade do mesofilo (Fig. 6D). Em *Myrciaria floribunda*, o aumento do volume das cavidades comprime os estratos mais externos formando elevações na epiderme (Fig. 6E). Nas espécies de *Syzygium* ocorre uma grande concentração de cavidades secretoras na parte apical do hipanto (abaixo do nectário) chegando a haver fusão de duas ou mais cavidades (Fig. 6 F).

O epitélio secretor é composto por até três estratos de células que se caracterizam por apresentarem forma tabular, paredes delgadas, vacúolos reduzidos, citoplasma fortemente elétron-denso (Fig. 7A e B) onde são observados plastídeos polimórficos (Fig. 7C). Em estádios iniciais essa densidade torna difícil a distinção das organelas citoplasmáticas (Fig. 7B e C). Com o desenvolvimento da cavidade são observadas grandes quantidades de vesículas junto à parede celular adjacente ao lume (Fig. 7D) e a liberação de material fibrilar da parede para o lume (Fig. 7D a F), podem ser observadas mitocôndrias, plastídeos de formas regulares (Fig. 7F) e vacúolos com restos de membranas (Fig. 7D e F).

A bainha é formada por um ou dois estratos de células tangencialmente alongadas (Fig 8A) que, se comparadas as células epiteliais, apresentam paredes mais espessas (Fig. 8B e C), citoplasma menos elétron-denso (Fig7B e 8A) e vacúolos maiores (Fig. 8 B e C). No estágio pós-secretor as células do epitélio apresentam-se colapsadas, podendo haver lise das mesmas (Fig. 8C e D). Nesta fase as células da bainha estão menos densas e exibem plastídeos com grãos de amido (Fig. 8C).

Os testes histoquímicos (Tab. 1) revelaram a presença principalmente de lipídeos e de polissacarídeos ácidos e neutros nas células epiteliais e no lume das cavidades (Fig. 9A a F). Proteínas foram identificadas apenas nas células epiteliais.

Coléteres

Foram observados coléteres nas bases dos prófilos de *Plinia grandifolia*, *P. edulis*, *Myrceugenia myrcioides*, *Psidium cattleianum*, *P. guineense*, *Eugenia puniceifolia*, *E. sulcata* e *E. selloi* (Fig. 10A a E). Em *Myrceugenia myrcioides* eles ocorrem também na base das sépalas.

Os coléteres têm origem protodérmica a partir de divisões periclinais seguidas de sucessivas divisões anticlinais e oblíquas (Fig. 11A a C). Na maturidade os coléteres são formados por séries de células alongadas de aspecto semelhante que diminuem em número em direção ao ápice (Fig. 11D e F). Nota-se que algumas células sofrem afastamento, deixando entre si grandes espaços intercelulares preenchidos por secreção mucilaginosa (Fig. 11D e E).

Ultra-estruturalmente, as células dos coléteres são caracterizadas por possuírem paredes delgadas, membrana plasmática sinuosa e grandes espaços periplasmáticos com acúmulo de secreção osmiofílica e corpos periplasmáticos (Fig. 12A a D). Junto à membrana plasmática nota-se grande quantidade de vesículas (Fig. 12D e E). São observados plasmodesmos entre células adjacentes (Fig. 12D a F). Os núcleos são bem desenvolvidos com localização central e nucléolos evidentes (Fig. 12A, B, E, F), citoplasma denso com numerosas mitocôndrias que apresentam cristas conspícuas (Fig. 13A e B), retículo endoplasmático muito desenvolvido (Fig. 13C), dictiossomos com vesículas adjacentes (Fig. 13D e E), gotas lipídicas (Fig. 13A, B, E, F), e plastídeos contendo amido (Fig. 13C a E). Algumas imagens sugerem a divisão de plastídeos (Fig. 13 F). O vacuoma é pouco desenvolvido (Fig. 13E), podendo haver, durante o desenvolvimento, a coalescência de vários pequenos vacúolos para formar um maior (Fig. 13F). É comum a ocorrência de material floculado no interior dos vacúolos (Fig. 13A a C).

Os testes histoquímicos revelaram a presença de substâncias fenólicas, lipídeos e de polissacarídeos neutros (Fig. 14A) e ácidos (Fig. 14B) nas células dos coléteres (Tab. 2). Durante o processo de senescência há um acúmulo gradual de substâncias fenólicas nas células dos coléteres.

Idioblastos

Foram observados Idioblastos contendo polissacarídeos neutros (Fig. 14C) na maioria das espécies. A presença de polissacarídeos ácidos (Fig. 14D) só foi evidenciada em *Myrcia selloi*, *Plinia edulis*, *Psidium cattleianum* e *Syzygium malaccense*. Embora as substâncias fenólicas estejam presentes indiscriminadamente em quase todos os tecidos das espécies estudadas, no hipanto de *Neomitranthes obscura* e *Psidium cattleianum* (Fig. 14E e F) e *P. guineense* (Tab. 3), as substâncias fenólicas se destacam em idioblastos.

Nectários

Os nectários estão presentes no ápice do ovário de *Syzygium malaccense* e *S. jambos* (Fig. 15A a F). Essa região corresponde à depressão do hipanto (Fig. 15A a C). O parênquima nectarífero é caracterizado por células de tamanho reduzido, paredes delgadas e citoplasma denso (Fig. 15D a F). O nectário é desprovido de vascularização. Entre as células do parênquima nectarífero ocorrem cavidades secretoras circundadas por células ricas em substâncias fenólicas que se estendem até a epiderme (Fig. 15D a F). As células do parênquima nectarífero de ambas as espécies apresentam açúcares redutores, polissacarídeos ácidos, neutros e substâncias fenólicas (Tab. 4).

Osmóforos

Os testes com o reagente vermelho neutro indicam a presença de osmóforos nas pétalas de *Myrcia selloi*, *Psidium cattleianum* e *P. guineense*, *Eugenia puniceifolia*, *E. selloi* e *Syzygium malaccense*. O teste histoquímico com sudan IV realizado em *S. malaccense* identificou a presença de lipídeos nas células que constituem o osmóforo. Durante as coletas foi observado odor adocicado nas flores de *Psidium cattleianum* e *P. guineense*.

Tabela 1: Resultado dos testes histoquímicos nas cavidades secretoras

Espécies	Epitélio						Lume					
	Amido	Proteínas	Subs. fenólica	Polis. ácidos	Polis. neutros	Lipídios	Amido	Proteínas	Subs. fenólica	Polis. ácidos	Polis. neutros	Lipídios
<i>Eugenia punicifolia</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
<i>Eugenia sulcata</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>Eugenia selloi</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>Myrceugenia myrcioides</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
<i>Myrcia racemosa</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>Myrcia selloi</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>Myrciaria floribunda</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
<i>Neomitranthes obscura</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>Plinia grandifolia</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>Plinia edulis</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
<i>Psidium cattleianum</i>	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>Psidium guineense</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
<i>Syzygium jambos</i>	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>Syzygium malaccense</i>	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+

+: presença, -: ausência

Tabela 2: Resultado dos testes histoquímicos nos coléteres.

Espécies	Amido	Subs. fenólica	Polis. ácidos	Polissacarídeos neutros	Lipídios
<i>Eugenia puniceifolia</i>	-	+	+	+	+
<i>Eugenia sulcata</i>	-	+	+	+	+
<i>Eugenia selloi</i>	-	+	+	+	+
<i>Myrceugenia myrcioides</i>	-	+	+	+	+
<i>Plinia grandifolia</i>	-	+	+	+	+
<i>Plinia edulis</i>	-	+	+	+	+
<i>Psidium cattleianum</i>	-	+	+	+	+
<i>Psidium guineense</i>	-	+	+	+	+

+: presença, -: ausência

Tabela 3: Resultado dos testes histoquímicos nos idioblastos

Espécies	Amido	Proteínas	Subs. fenólica	Polis. ácidos	Polissacarídeos neutros	Lipídios
<i>Eugenia punicifolia</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Eugenia sulcata</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Eugenia selloi</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Myrceugenia myrcioides</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Myrcia racemosa</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Myrcia selloi</i>	-	-	-	+	+	-
<i>Myrciaria floribunda</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Neomitranthes obscura</i>	-	-	+	-	+	-
<i>Plinia grandifolia</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Plinia edulis</i>	-	-	-	+	+	-
<i>Psidium cattleianum</i>	-	-	+	+	+	-
<i>Psidium guineense</i>	-	-	+	-	+	-
<i>Syzygium jambos</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Syzygium malaccense</i>	-	-	-	+	+	-

+: presença, -: ausência

Tabela 4: Resultado dos testes histoquímicos nos nectários

Espécies	Açúcares redutores	Amido	Proteínas	Subs. fenólica	Polis. ácidos	Polis. neutros	Lipídios
<i>Syzygium jambos</i>	+	-	+	+	+	+	-
<i>Syzygium malaccense</i>	+	-	+	+	+	+	-

+:presença, -: ausência

Tabela 5: Estruturas secretoras ocorrentes no eixo reprodutivo.

Espécies	Cavidades	Coléteres	Idioblastos			Nectários	Osmóforos
			Substâncias fenólica	Polissacarídeos ácidos	Polissacarídeos neutros		
<i>Eugenia puniceifolia</i>	+	+	-	-	+	-	+
<i>Eugenia sulcata</i>	+	+	-	-	+	-	-
<i>Eugenia selloi</i>	+	+	-	-	+	-	+
<i>Myrceugenia myrcioides</i>	+	+	-	-	+	-	-
<i>Myrcia racemosa</i>	+	-	-	-	+	-	-
<i>Myrcia selloi</i>	+	-	-	+	+	-	+
<i>Myrciaria floribunda</i>	+	-	-	-	+	-	-
<i>Neomitranthes obscura</i>	+	-	+	-	+	-	-
<i>Plinia grandifolia</i>	+	+	-	-	+	-	-
<i>Plinia edulis</i>	+	+	-	+	+	-	-
<i>Psidium cattleianum</i>	+	+	+	+	+	-	+
<i>Psidium guineense</i>	+	+	+	-	+	-	+
<i>Syzygium jambos</i>	+	-	-	-	+	+	-
<i>Syzygium malaccense</i>	+	-	-	+	+	+	+

+: presença, -: ausência



Figura 1: Hábito das espécies estudadas I. A- *Eugenia puniceifolia*; B- *E. sulcata*; C- *E. selloi*; D- *Myrceugenia myrcioides*; E- *Myrcia racemosa*; F- *M. selloi*.



Figura 2: Hábito das espécies estudadas II. A- *Myrciaria floribunda*; B- *Neomitranthes obscura*; C- *Psidium cattleianum*; D- *P. guineense*; E- *Syzygium jambos*; F- *S. malaccense*.

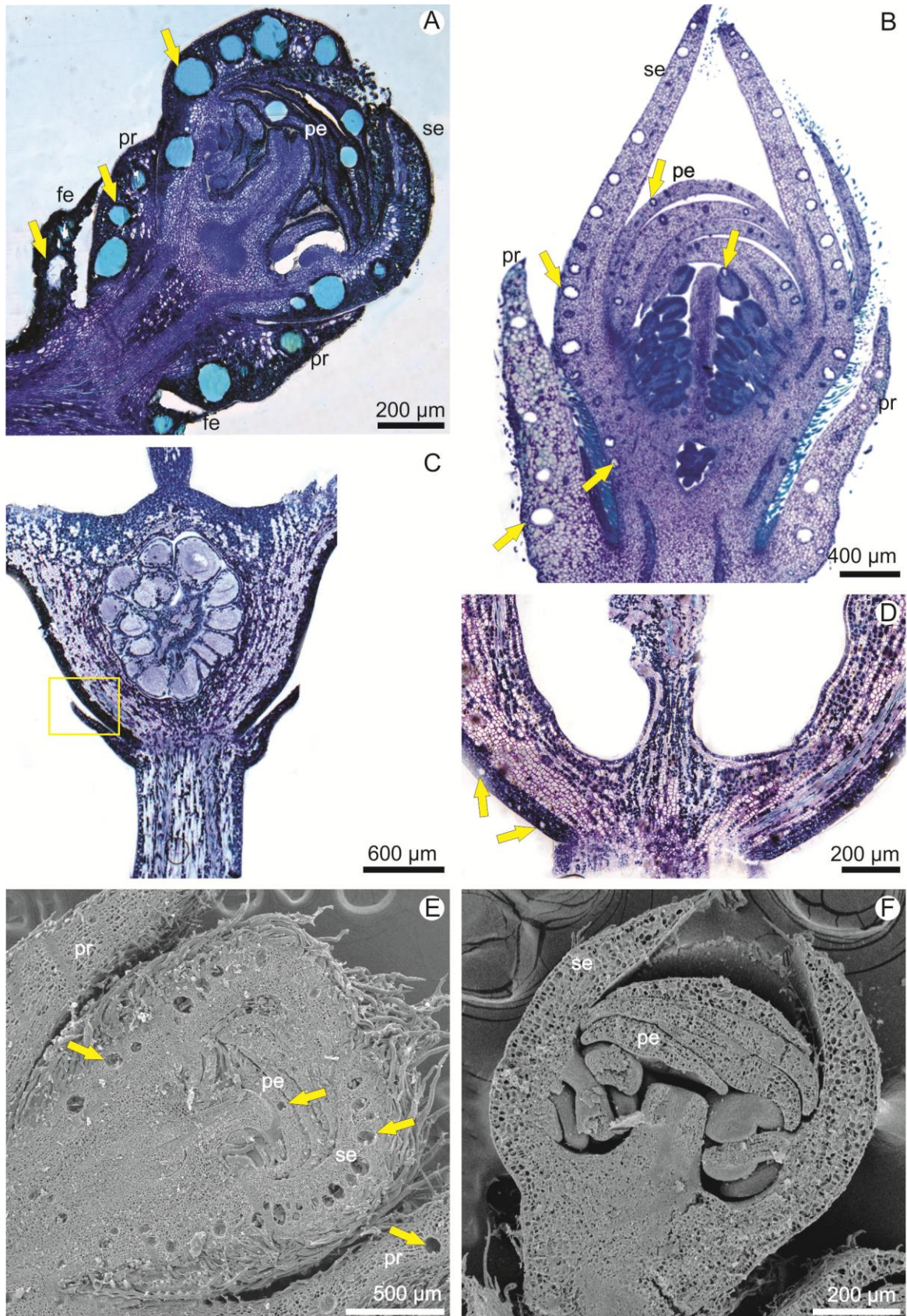


Figura 3: Distribuição das cavidades secretoras. A a F- Secções longitudinais; A a D- microscopia de luz; E e F- microscopia eletrônica de varredura (MEV); A- *Myrciaria floribunda*; B- *Eugenia selloi*; C- *E. puniceifolia*; E- detalhe do hipanto; F- *Myrceugenia myrcioides*; E- *Plinia grandifolia*. As setas indicam as cavidades secretoras; fe ferófilo, pr- prófilo; se- sépala; pe- pétala.

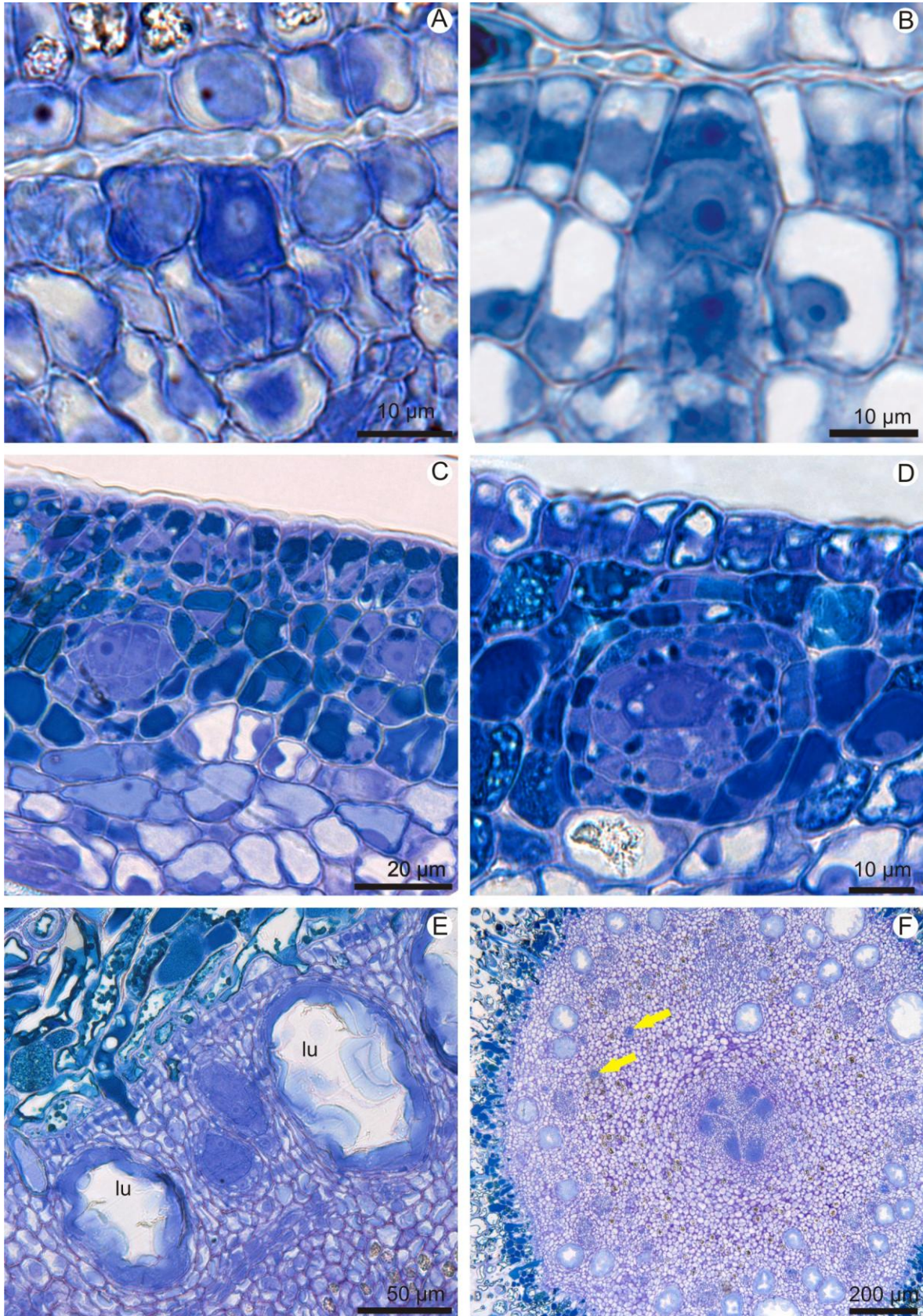


Figura 4: Origem das cavidades. A a E- secções longitudinais observadas em microscopia de luz; A- célula protodérmica inicial das cavidades em *Myrceugenis myrcioides*; B- primeiras divisões originarão as cavidades em *Eugenia selloi*; C e D- origem subepidérmica das cavidades em *Myrciaria floribunda*; E e F - *Myrceugenia myrcioides*; F- secção transversal do hipanto mostrando cavidades originadas mais internamente no parênquima (setas), lu-lume da cavidade.

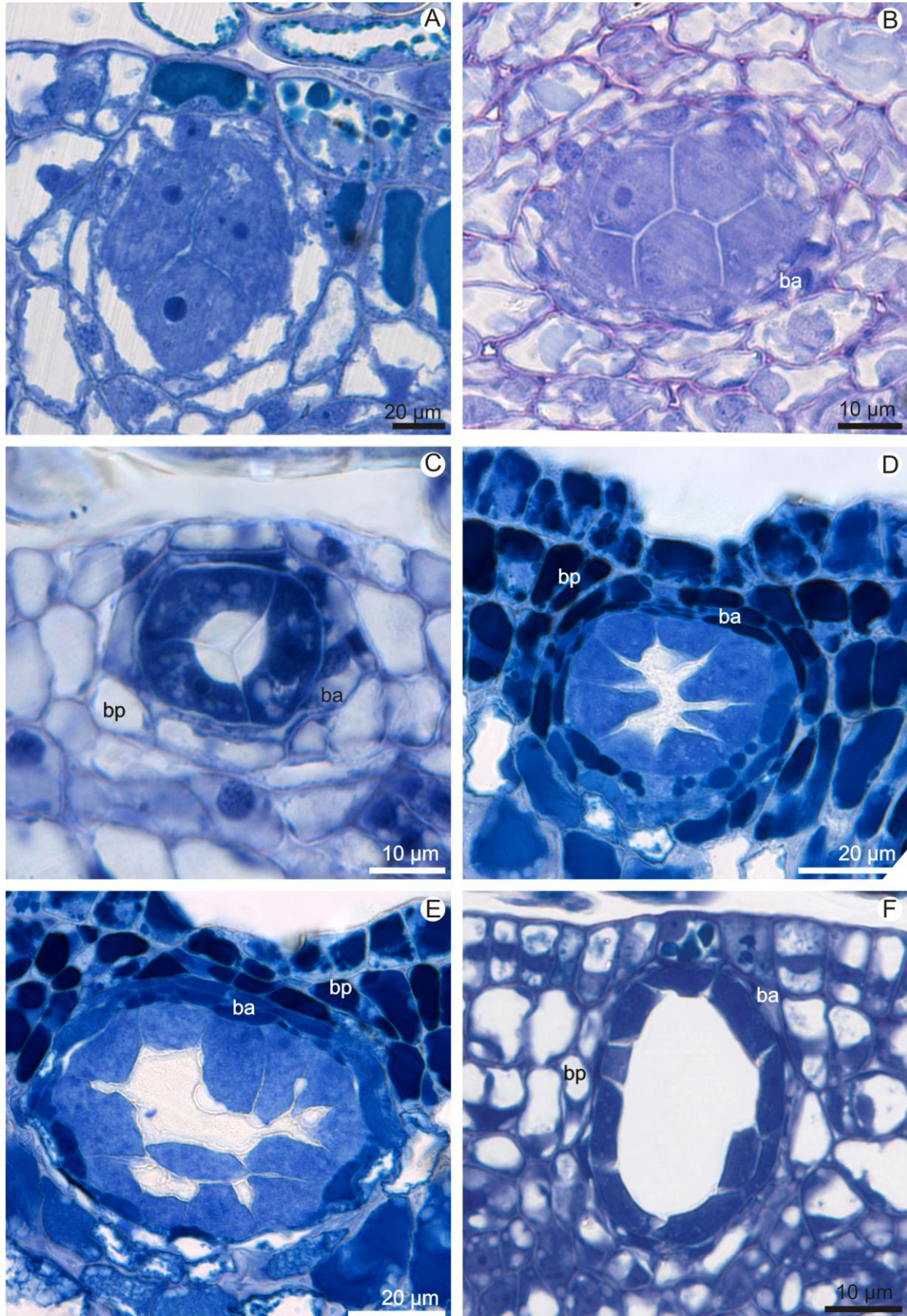


Figura 5: Desenvolvimento das cavidades. A a F- seções longitudinais observadas em microscopia de luz; A- *Psidium cattleianum*; B- *Myrceugenia myrcioides*; C- *Myrcia racemosa*; D e E- *Syzygium jambos*; F- *Eugenia selloi*. ba- bainha; bp- bainha parenquimática

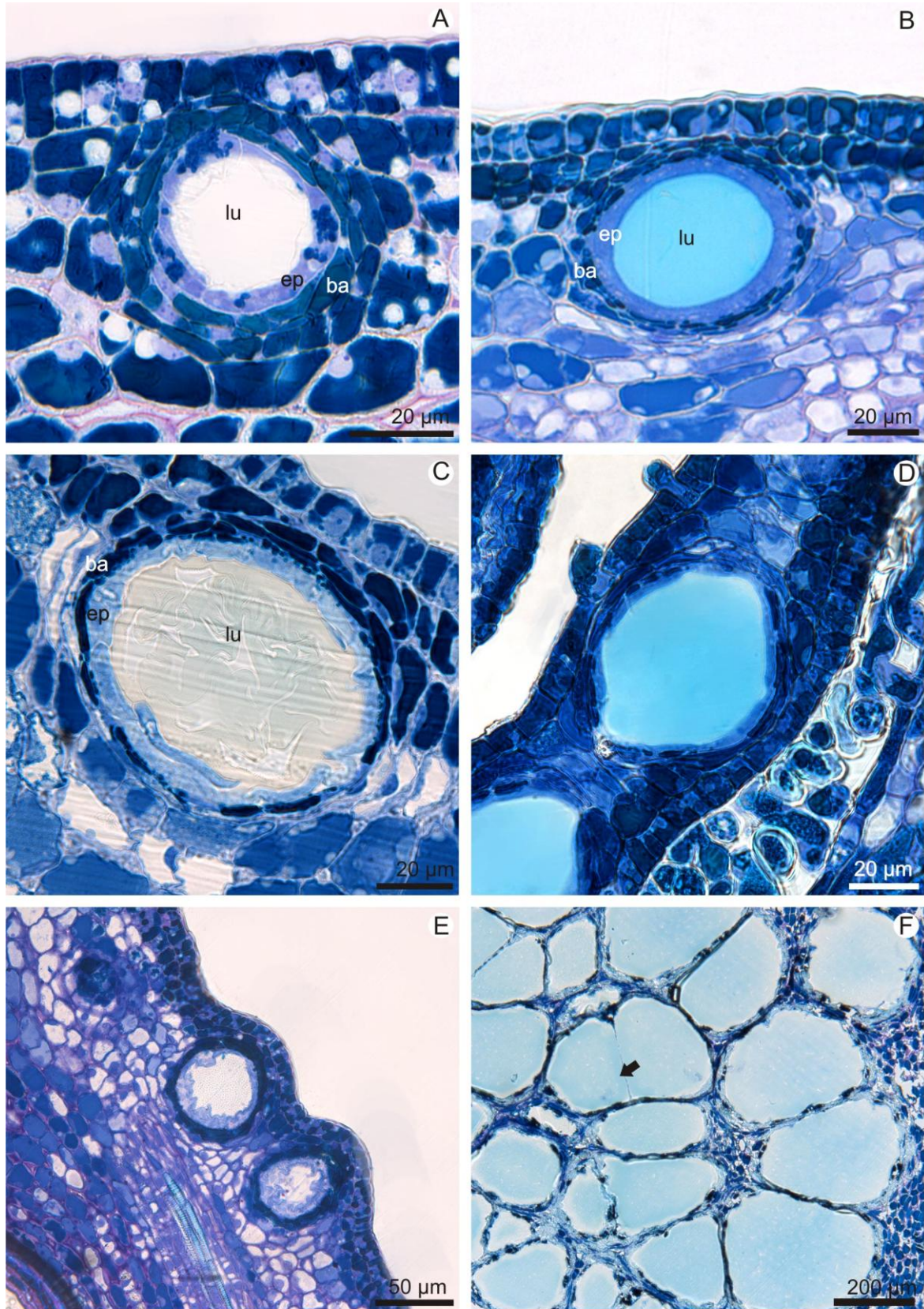


Figura 6: Cavidades maduras. A a E- seções longitudinais observadas em microscopia de luz; A- hipanto de *Eugenia puniceifolia*; B- hipanto de *Myrcia selloi*; C- perfis de *Myrceugenia myrcioides*; D- sépala de *Myrciaria floribunda*; E- hipanto de *Myrciaria floribunda*; F- seção transversal do ápice do hipanto de *Syzygium malaccense* indicando a fusão de duas cavidades (seta). lu-lume; ep- epitélio secretor; ba- bainha.

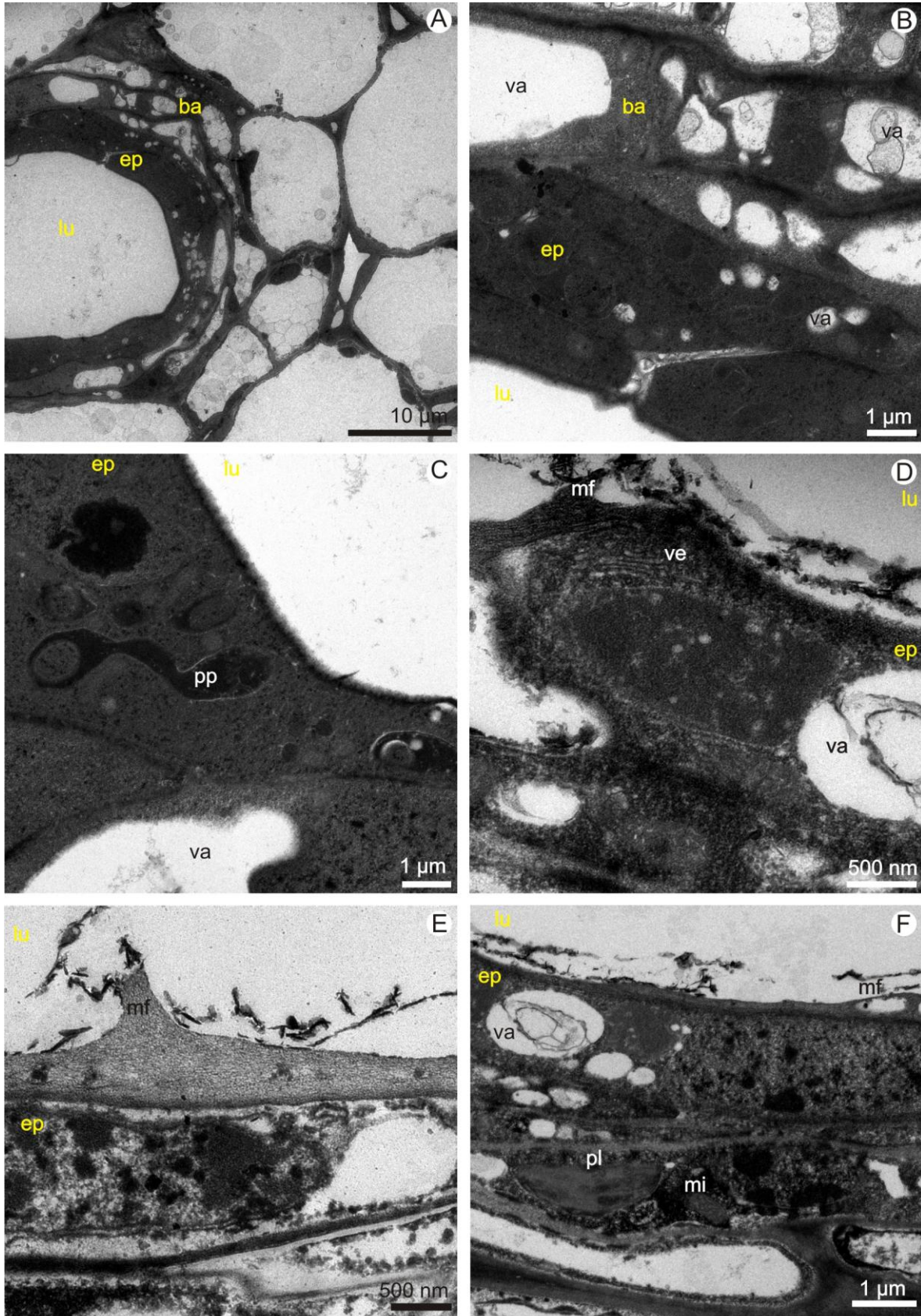


Figura 7: Ultraestrutura do epitélio secretor. A a F- cavidades secretoras observadas em microscopia eletrônica de transmissão; A a C- *Myrceugenia myrcioides*; D a F- células do epitélio secretor de *Eugenia selloi*. lu- lume; ep- epitélio secretor; ba- bainha; va- vacúolo; pp- plastídeo polimórfico; mf- material fibrilar; ve- vesículas; mi- mitocôndia; pl- plastídeo.

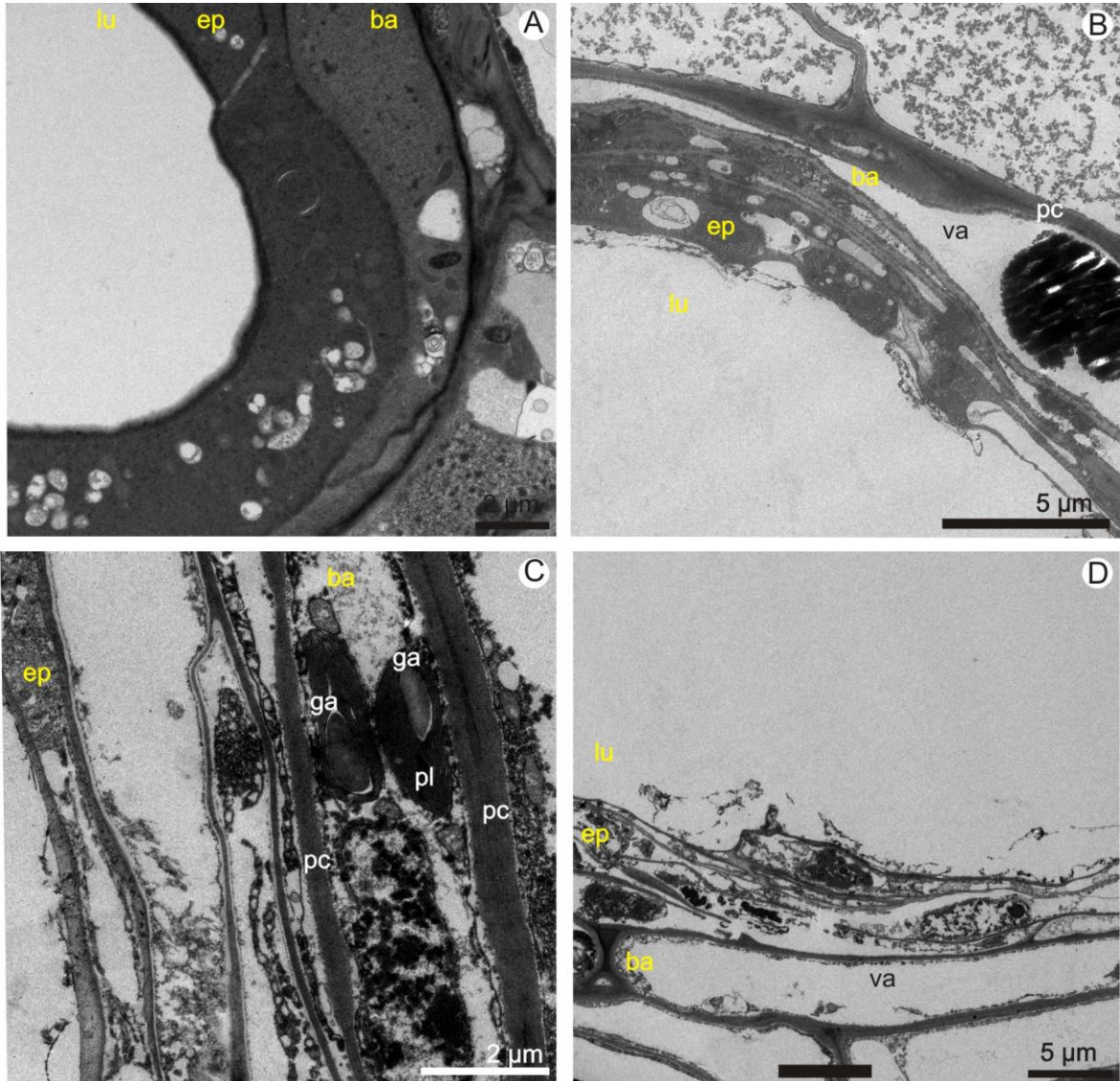


Figura 8: Ultraestrutura da bainha. A a D- cavidades secretoras observadas em microscopia eletrônica de transmissão; A - *Myrceugenia myrcioides*; B a D- *Eugenia selloi*. lu- lume; ep- epitélio secretor; ba- bainha; va- vacúolo; pl- plastídeo; ga- grão de amido; pc- parede celular.

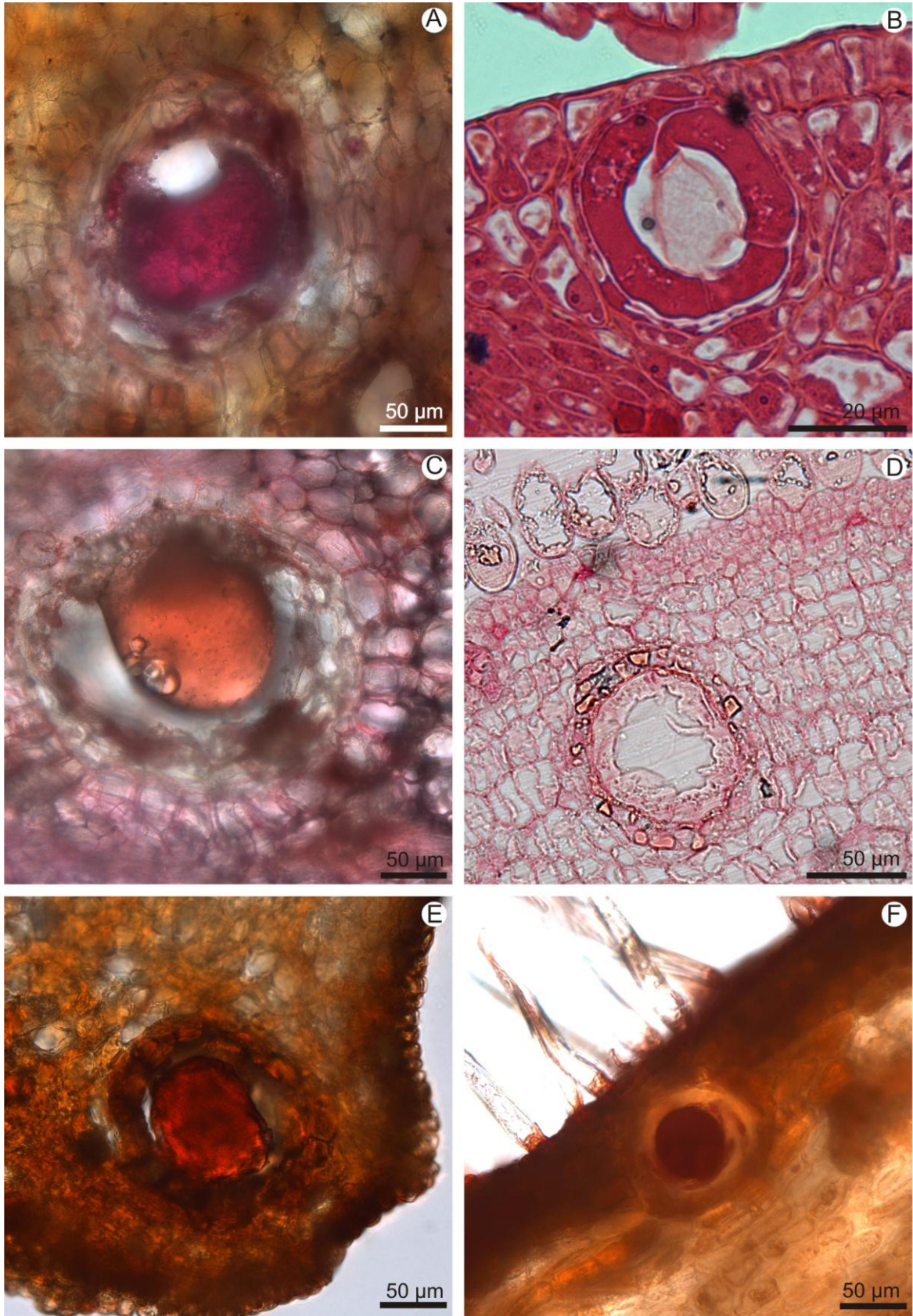


Figura 9: Testes histoquímicos nas cavidades. A, C, E, F- secções obtidas a mão livre; B e D- secções obtidas de material embocado em historresina. A e B- reagente PAS; A- *Syzygium malaccense*; B- *Myrcia selloi*; C e D- reagente vermelho de rutênio; C- *S. malaccense*; D- *Psidium guineense*; E e F reagente Sudan IV; E- *Neomitranthes obscura*; F- *P. guineense*.

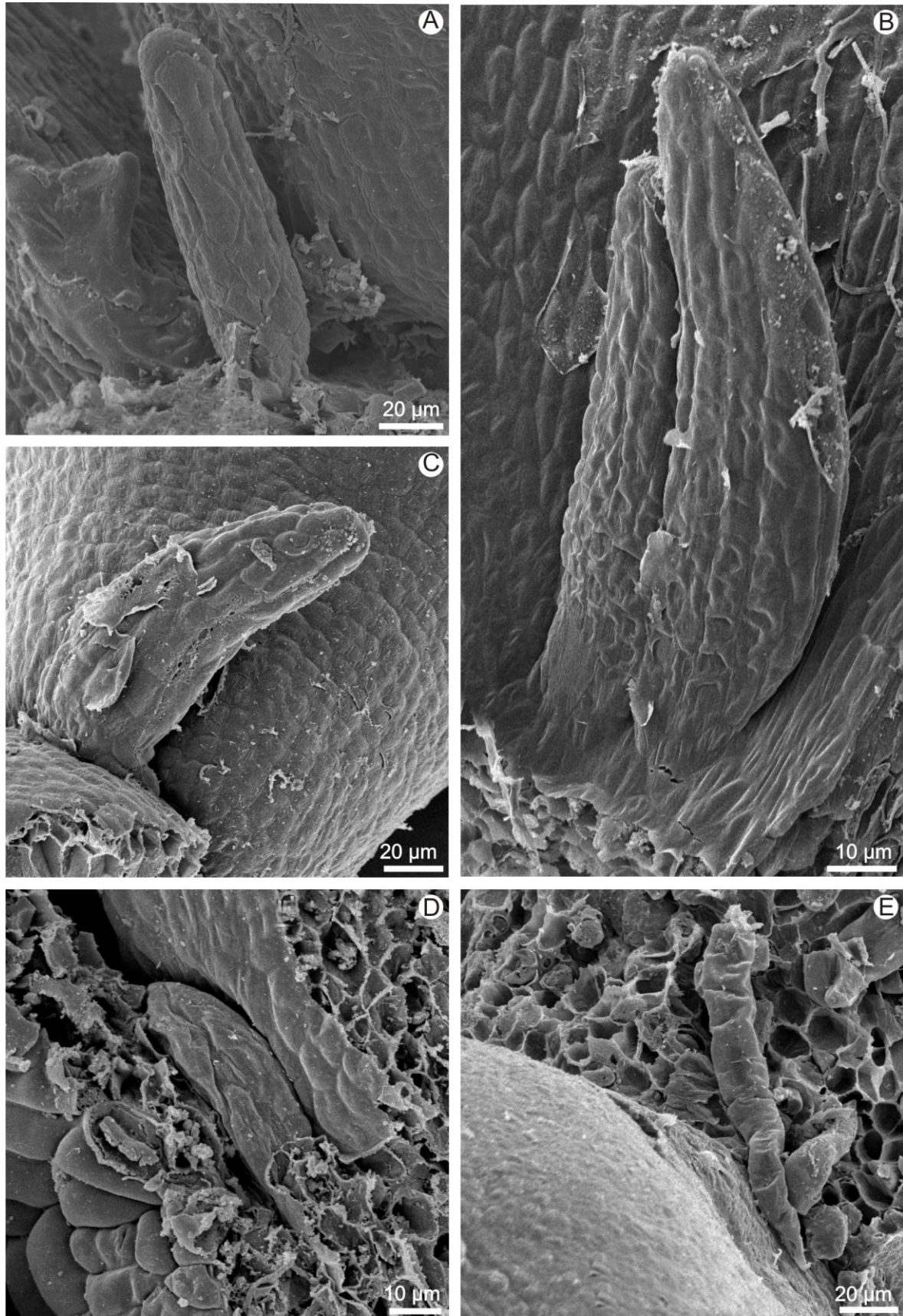


Figura 10: Coléteres. A a E- coléteres observados em microscopia eletrônica de varredura (MEV); A- *Psidium cattleianum*; B- *P. guineense* C e D- *Plinia grandifolia*; E- coleter senescente em *Eugenia punicifolia*.

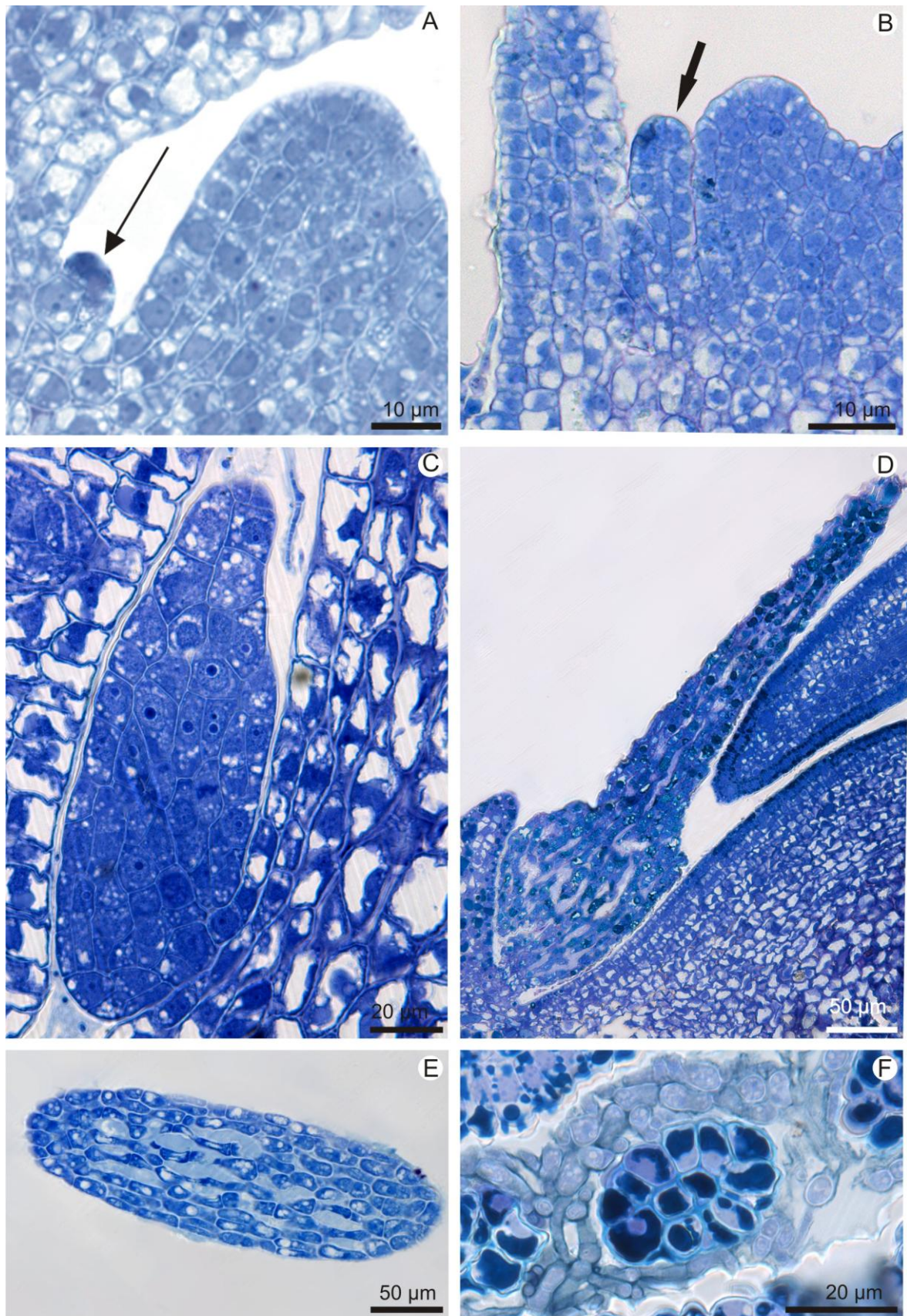


Figura 11: Anatomia e desenvolvimento dos coléteres. A a E- secções longitudinais observadas em microscopia de luz; A, B e E- *Eugenia selloi*; C- *Psidium cattleianum*; D- *E. sulcata*; F- secção transversal do ápice de um coléter de *E. puniceifolia*.

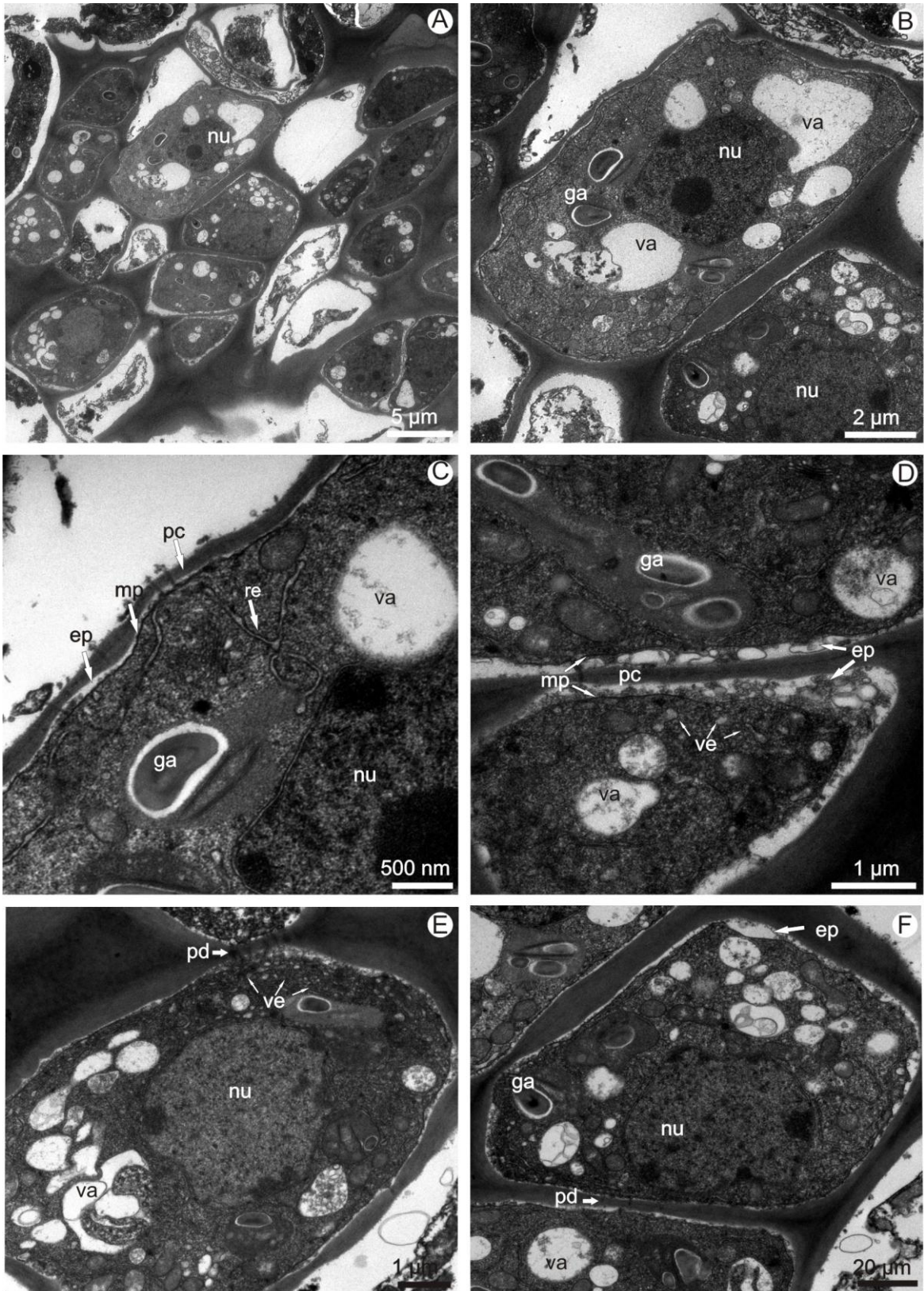


Figura 12: Ultraestrutura dos coléteres I. A a F- coléteres de *Eugenia selloi* observados em microscopia eletrônica de transmissão (MET); A- vista geral do tecido; B- vista geral da célula; C- detalhe da membrana plasmática; D- detalhe do espaço periplasmático; E e F- comunicação entre células adjacentes. nu- núcleo; mp- membrana plasmática; pc- parede celular; va- vacúolo; ep- espaço periplasmático; ga- grão de amido; ve- vesículas; pd- plasmodesmos; re- retículo endoplasmático.

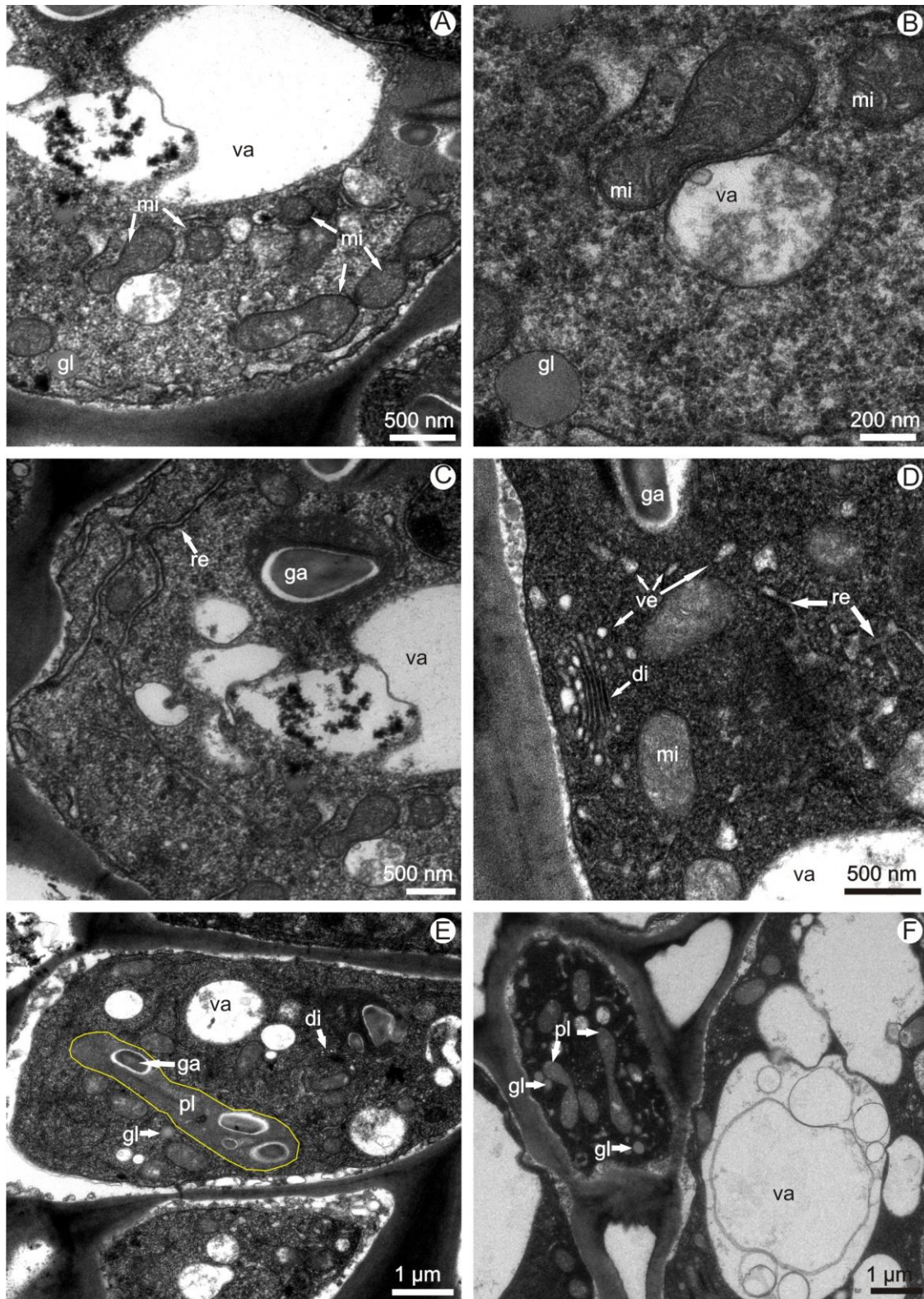


Figura 13: Ultraestrutura dos coléteres II. A a F- coléteres de *Eugenia selloi* observados em microscopia eletrônica de transmissão (MET); A- detalhe de uma célula mostrando mitocôndrias e gota lipídica; B- detalhe; C- detalhe do retículo endoplasmático; D- detalhe de um dictiossomo em associação com vesículas e retículo endoplasmático; E- destaque de um plastídio polimórfico; F- divisão plastidial e coalescência de vacúolos. va- vacúolo; ga- grão de amido; mi- mitocôndria; di- dictiossomos; ve- vesículas; re- retículo endoplasmático; gl- gota lipídica; pl- plastídeo.

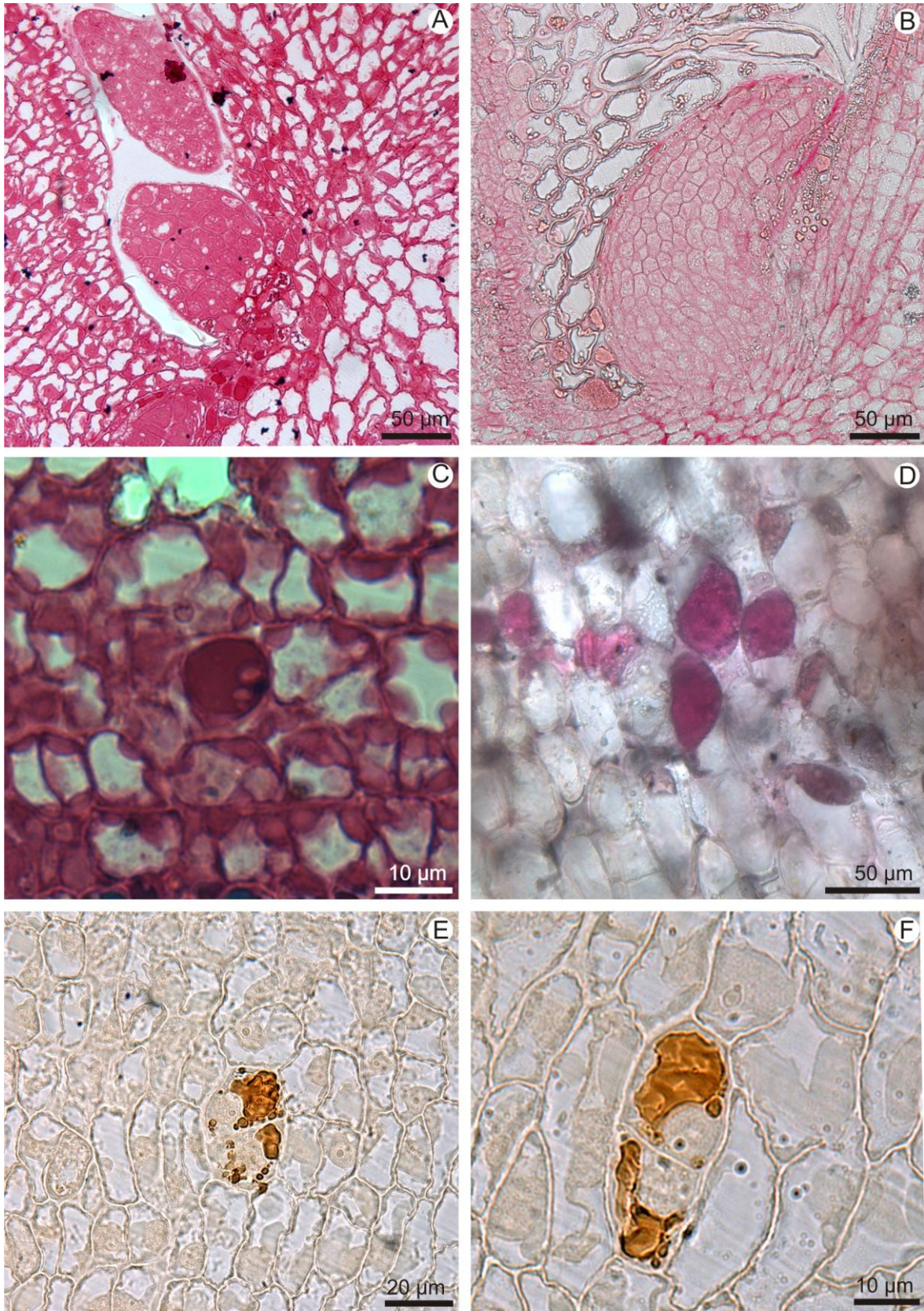


Figura 14: Histoquímica dos coléteres e idioblastos. A a C e E a F- testes em material emblocado em historresina; A- coleter de *Psidium cattleianum* com reagente PAS; B- coléter de *P. guineense* com reagente vermelho de rutênio; C- reagente PAS marcando idioblasto em *Eugenia sulcata*; D- secção a mão livre em material fresco de *Syzygium malacense* submerido ao reagente vermelho de rutênio; E e F- teste com reagente dicromato de potássio em *Psidium cattleianum*.

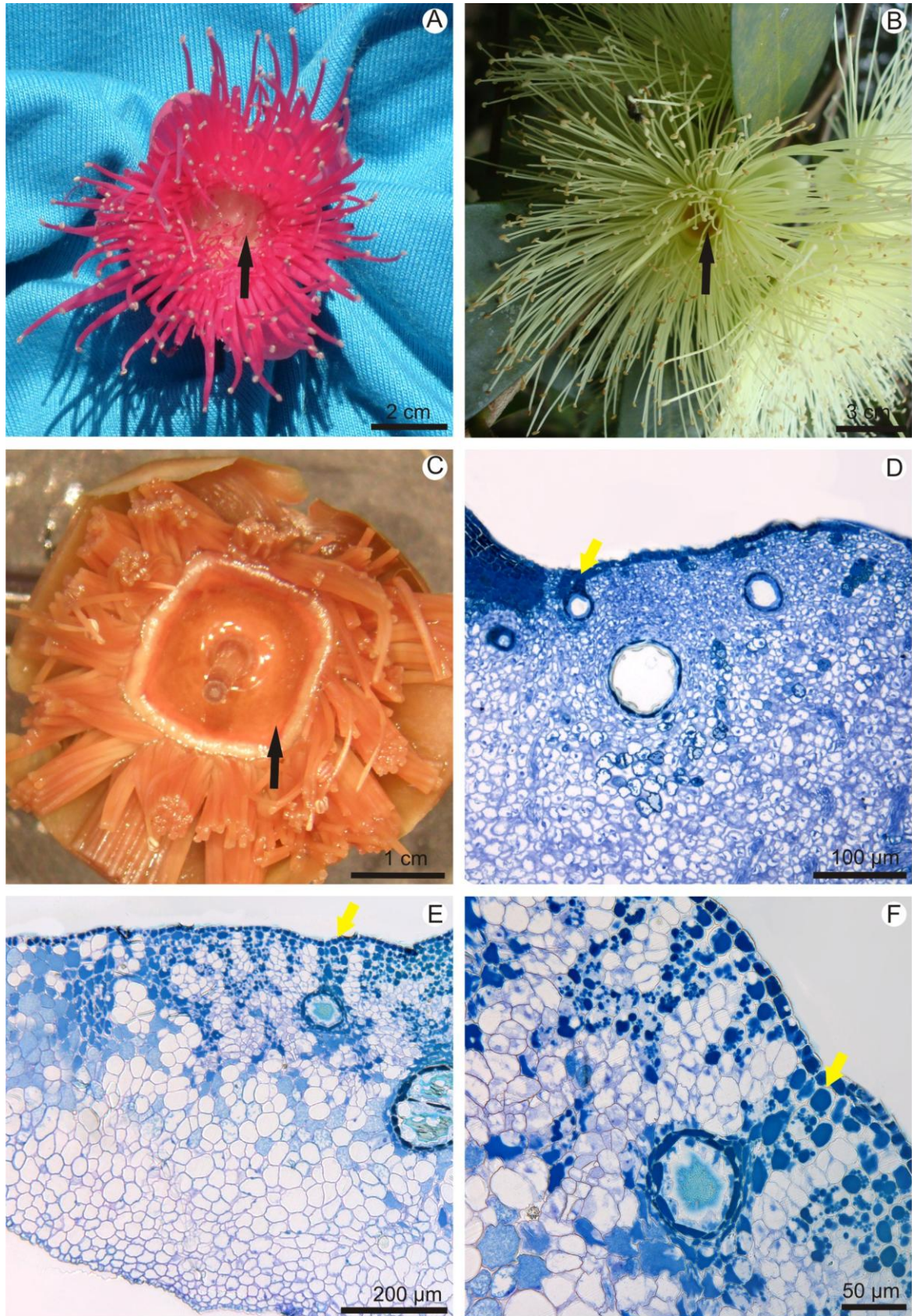


Figura 15: Nectário. A a C- flor de *Syzygium* indicando localização do nectário (seta preta); A- *S. malaccense*; B e C- *S. jambos*; D a F- secções longitudinais observadas em microscopia de luz com destaque para células com conteúdo fenólico que se estendem até a epiderme (setas amarelas); D- nectário jovem de *S. malaccense*; E- nectário de *S. jambos*; F- detalhe.

2.4 Discussão

Estudos que abordem o desenvolvimento, a estrutura e a composição química da secreção das estruturas secretoras auxiliam na compreensão do seu funcionamento, permitem inferências sobre os possíveis papéis desempenhados pela secreção no corpo vegetal (Machado, 2000), além de contribuírem para a compreensão da evolução e para o estabelecimento de relações entre as espermatófitas (Fahn, 1979, 1988; Thomas, 1991; Judd *et al.*, 2009). Neste trabalho foram observados cinco tipos de estruturas secretoras: cavidades secretoras, coléteres, idioblastos, nectários e osmóforos. Destas, apenas as cavidades secretoras e os idioblastos de polissacarídeos ocorrem em todas as espécies (Tab. 5).

Cavidades secretoras

As análises mostram que as cavidades secretoras de óleos estão distribuídas em por todo o eixo reprodutivo das espécies estudadas. As cavidades secretoras de óleo têm sido amplamente estudadas em famílias de grande representatividade como Fabaceae Lindl. Onde a ocorrência, o padrão de distribuição e a frequência das cavidades secretoras apresentam valor taxonômico (Teixeira *et al.*, 2000; Teixeira & Gabrielli, 2000, Teixeira & Rocha, 2009). Em Myrtaceae, a presença de cavidades secretoras de óleo é uma característica marcante (APG III, 2009; Stevens, 2001) e sua estrutura têm sido utilizados na análise taxonômica e evolutiva da família (Gomes *et al.*, 2009). Um exemplo é o gênero *Eucalyptus* L'Hér, onde a presença ou ausência de cavidades secretoras em diferentes órgãos de seus representantes tem sido utilizada como um caráter útil na identificação das espécies (Carr & Carr, 1969). Apesar da importância referida na literatura, poucos representantes da flora neotropical são estudados sob este aspecto, notadamente aqueles pertencentes à tribo Myrteae. A composição química da secreção produzida nas cavidades é outro fator importante na interpretação das relações infrafamiliares, uma vez que, a tribo Psiloxyleae (Croizat) A.J. Scott, Kew Bull. apresenta cavidades que não secretam óleo divergindo do restante da subfamília Psiloxylloideae e de toda Myrtoideae

(sensu Wilson *et al.* 2005). A este respeito, os dados aqui obtidos estão de acordo com os relatados para os representantes Myrtoideae.

Estudos ontogenéticos das cavidades secretoras da família Myrtaceae foram realizados por Lopes (2008), Gomes *et al.* (2009) e Pimentel (2010). Estes autores estabeleceram a origem exclusivamente protodérmica para as cavidades. Segundo estes autores, divisões periclinais originam células mais internas, as quais se dividem e se diferenciam no tecido epitelial da cavidade secretora. Processo semelhante ocorre em todas as espécies aqui estudadas. No entanto em *Myciaria floribunda* e *Myrceugenia myrcioides* ocorrem ainda cavidades que se originam, respectivamente, a partir do meristema fundamental e por desdiferenciação de células parenquimáticas. A fim de inferir o significado evolutivo e/ou ecológico destas diferentes origens, faz-se necessário uma investigação com maior número de representantes destes gêneros. Destaca-se ainda o fato de que em *Myrceugenia myrcioides* as cavidades ocorrem em camadas mais internas do receptáculo e são, comparativa e proporcionalmente, maiores e mais numerosas que nas demais espécies. Uma possível explicação para estas diferenças pode estar no fato de ser esta a única espécie amostrada ocorrente no ambiente de floresta onde a umidade favorece a ação de fungos e onde a herbivoria é mais intensa. Desta forma, as substâncias fenólicas presentes tanto no epitélio como no lume das cavidades (Tab. 1) agiria como proteção química contra estes agentes. A presença de compostos fenólicos é referida por Swain (1979) como sendo de grande importância antimicrobiana e na proteção contra herbívoros. Em todas as espécies, a formação do lume das cavidades ocorre pelo afastamento das células, caracterizando o processo esquizógeno. Processo esquizolisígeno foi relatado para as cavidades secretoras presentes nas folhas, caules e flores de *Myrtus communis* L. (Cicarelli *et al.*, 2003, 2008) e nas flores de *Eugenia uniflora* (Lopes, 2008). Formação esquizógena foi descrita em diversas espécies de *Eucalyptus* (Carr & Carr, 1970), em *Myrtus communis* (Kalachanis & Psaras, 2005) e *Eugenia neonitida* (Pimentel, 2010). Os processos esquizógeno e esquizolisígeno não são bem estabelecidos na formação das cavidades das folhas de *Melaleuca alternifolia* Cheel. (Myrtaceae) (List *et al.*, 1995). De acordo com Turner (1999), o processo de formação de cavidades que envolve lise pode referir-se a artefatos de preparação. No entanto recentemente

Paiva e Machado (2006) registraram, em um estudo anatômico e ultraestrutural, a ocorrência do processo lisígeno na formação do lume dos canais de *Hymenaea stigonocarpa*. Os autores relatam ainda, a importância de estudos ontogenéticos na determinação do processo de origem das cavidades. A bainha encontrada ao redor das células epiteliais das cavidades tem sido associada à produção de novas células epiteliais, possibilitando a renovação celular do epitélio, o alargamento do lume e a manutenção da atividade secretora (Monteiro *et al.*, 1995, 1999; Machado e Carmello-Guerreiro, 2001; Rodrigues, 2008; Pimentel, 2010).

Coléteres

A presença de coléteres é uma característica comum aos representantes de Myrtales Juss. ex Bercht. & J. Presl (APG III, 2009). No entanto a primeira menção de tais estruturas em Myrtaceae só foi feita por Carrucan & Drinnan (2000) e as primeiras descrições anatômicas e histoquímicas foram feitas por Lopes (2008) e Pimentel (2010). Esta é a primeira descrição ultraestrutural das células dos coléteres de Myrtaceae.

A importância taxonômica da presença, localização, morfologia, ultraestrutura e composição da secreção dos coléteres pode ser comprovada em trabalhos como os de Thomas (1991), Endress & Bruyns (2000), Renobales *et al.* (2001), Schwarz & Furlan (2002), Klein *et al.* (2004) e Barreiro & Machado (2007).

Fahn e Shimony (1977) e Fahn (1979, 1988) especulam que estruturas secretoras exógenas surgiram a partir de tricomas tectores sendo estas as primeiras a surgir durante a evolução do reino vegetal. Para Thomas (1991) a evolução de estruturas secretoras multicelulares teria se dado a partir de estruturas não glandulares que deram origem a coléteres e nectários.

Segundo Thomas e Dave (1990), o termo coléter foi criado em 1848 por Hanstein, para estruturas presentes nas estípulas e pecíolos das famílias Betulaceae e Cunoniaceae. O nome é derivado da palavra grega “colla” – cola se referindo às características físicas da secreção desta estrutura. A natureza lipofílica e mucilagínosa que confere a referida consistência à secreção é refletida na ultraestrutura observada no presente trabalho. Estudos relacionados com ultraestrutura das células secretoras de coléteres foram realizados mais

recentemente por Klein *et al.*(2004), Paiva e Machado (2006), Paiva (2009), Miguel *et al.* (2010).

Esta estrutura multicelular especializada na secreção mucilagens (Kronstedt-Robards & Robards, 1991) pode desempenhar diferentes funções como a retenção de água, a redução da transpiração, proteção de estruturas ou órgãos em desenvolvimento, reserva de carboidratos, proteção contra herbivoria e contra radiação, dispersando ou refletindo a luz (Fahn, 1979; Gregory & Baas, 1989; Roshchina & Roshchina, 1993; Clifford *et al.*, 2002, Martini *et al.*, 2003). Estruturalmente os coléteres podem se apresentar como escamas, tricomas secretores, emergências ou glândulas em estruturas foliáceas, onde têm como função resguardar o desenvolvimento meristemático (Thomas, 1991).

Embora uma extensa revisão sobre coléteres tenha sido apresentada por Thomas (1991) para sessenta famílias de eudicotiledôneas não houve nenhuma referência para a família Myrtaceae. A primeira menção de tais estruturas só foi feita por Carrucan & Drinnan (2000) em *Astartea heteranthera*, uma espécie pertencente ao sub-grupo “*Baeckea*” – grupo “*Chamelaucium*” - (Wilson, 2005) restrito principalmente à Austrália, com poucos representantes na Ásia e Nova Caledônia. Os dados obtidos por Lopes (2008) e Pimentel (2010) para *Eugenia uniflora* e *E. neonitida* respectivamente, ambas representantes da tribo Myrteae, constituem os primeiros registros da ocorrência de coléteres na tribo Myrteae e as primeiras descrições anatômicas e análises histoquímicas da secreção de tais estruturas para a família.

Os coléteres foram observados apenas nas espécies de *Eugenia*, *Psidium*, e em *Myrceugenia myrcioides*. Nestas espécies, a origem dos coléteres é exclusivamente protodérmica com estrutura filiforme (*sensu* Thomas, 1991) semelhante à registrada por Lopes (2008), em *E. uniflora*, e por Pimentel (2010), em *E. neonitida*. Coléteres originados exclusivamente de células portodérmicas são de ocorrência mais rara (Thomas, 1991). Coléteres deste tipo foram relatados por Rocha *et al.* (2002) e Rocha (2004) nos eixos vegetativo e reprodutivo em desenvolvimento de *Hibiscus tiliaceus* L. e *H. pernambucensis* Arruda (Malvaceae) e por Paiva e Machado (2006) nas estípulas de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae). Semelhantes à *Eugenia uniflora* e *E.*

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

Ultraestrutura

Ultraestruturalmente as células das cavidades e dos coléteres possuem características intimamente relacionadas aos resultados de histoquímica. Estas células apresentam vacúolos com restos de membranas, indicando o início da formação de figuras de mielina, plastídeos contendo grãos de amido, mitocôndrias, retículo endoplasmático muito desenvolvido, dictiossomos com grandes quantidades de vesículas junto à membrana plasmática sinuosa, a liberação de material fibrilar da parede para o lume das cavidades e material osmiofílico depositado no espaço periplasmático dos coléteres. Todo o sistema de endomembranas da célula constitui um contínuo onde a membrana nuclear, o tonoplasto, o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi e várias vesículas se interconectam (Evert, 2006). A grande quantidade de vesículas próximas à membrana plasmática indica uma intensa produção e liberação de polissacarídeos para fora do protoplasto (Rodrigues, 2008), o que pode ser comprovado pelo material fibrilar que é liberado da parede das células epiteliais para o lume das cavidades. Os trabalhos de Mollenhauer (1967), Bakker & Gerritsen (1992), Bakker & Baas (1993) e Sawidis (1991,1998) demonstram que os dictiossomos e o retículo endoplasmático (RE) são as principais organelas envolvidas na produção de mucilagem. A associação de RE com dictiossomos indica uma participação ativa do RE no transporte da secreção (Fahn 2000). A própria membrana plasmática se desenvolve através de um processo onde vesículas de transição, oriundas do retículo endoplasmático, levam material até os dictiossomos, de onde partem vesículas secretoras que farão parte da composição da membrana plasmática (Evert, 2006). Em células com intensa atividade, essa agregação de muitas vesículas faz com que a membrana plasmática assumam um contorno sinuoso como o observado no material estudado.

Um indício de que estas células realmente estão em intensa atividade é a grande quantidade de mitocôndrias (Paiva e Machado, 2006). A fusão de tais vesículas com a membrana plasmática foi observada por Carmelo *et al.*, (1995) em *Lithraea molleides* (Anacardiaceae) e Rodrigues (2008) em espécies de Fabaceae. Segundo Horner & Lersten (1968), estas vesículas que se fundem com a membrana plasmática, carregam material elétron denso que se acumula entre a membrana e a parede celular conforme observado nas células dos coléteres e posteriormente move-se através da parede e é secretado para fora da célula como observado nas células epiteliais. Dictiossomos com vesículas, retículo endoplasmático e secreção acumulada no espaço periplasmático foram características observadas em trabalhos como Rocha (2004) nos coléteres de *Hibiscus pernambusensis* (Malvaceae) e Klein *et al.* (2004) nos coléteres de *Simira* (Rubiaceae).

Os grãos de amido armazenados no interior dos plastídeos podem ser hidrolisados a fim de fornecer energia para os processos do metabolismo celular (Fahn, 1988, Monteiro *et al.*, 1999; Denardi *et al.* 2012). Desta forma, a presença de cloroplastos e grãos de amido nas células da bainha das cavidades indica seu envolvimento no fornecimento de recursos energéticos para a produção da secreção depositada pelas células epiteliais no lume das cavidades. A ocorrência de figuras de mielina nos vacúolos é comumente associada à incorporação de terpenos ao conteúdo hidrofílico do vacúolo (Raatikainen *et al.*, 1992). Tais estruturas são interpretadas por Hall *et al.* (1982) como sendo vacúolos autofágicos, comuns em células vegetais. Desta forma os restos de membranas seriam recicladas nos vacúolos (Evert, 2006).

Idioblastos secretores

Foram observados idioblastos contendo polissacarídeos neutros em todas as espécies estudadas enquanto polissacarídeos neutros e substâncias fenólicas estão restritos a poucas espécies (Tab. 3). Segundo Hegnauer (1969 *apud* Gregory e Baas 1989), em *Althaea officinalis*, a fração ácida da secreção é responsável pela reserva de água enquanto a fração neutra está relacionada à reserva de carboidratos. As substâncias fenólicas estão presentes em praticamente todos os tecidos das espécies de Myrtaceae (Schmid, 1972).

Entretanto nas espécies de *Psidium* e em *Neomitranthes obscura* foi possível observar idioblastos desta natureza devido à ocorrência não generalizada destas substâncias no receptáculo. A presença de compostos fenólicos, principalmente taninos, é referida por Swain (1979) como sendo um grupo de substâncias de grande importância antimicrobiana e ainda, na proteção contra herbívoros.

A presença de esclereides e idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio em espécies de Myrtaceae está registrada a mais de um século na literatura tradicional (Solleder, 1908; Metcalfe & Chalk, 1950) e constituem caracteres diagnósticos para espécies de grandes gêneros como *Eugenia* (Hussin *et AL.*, 1992). No entanto idioblastos secretores são ainda pouco registrados para a família. Idioblastos contendo substâncias fenólicas foram observados nas folhas de *Eucalyptus* e *Eugenia* por Malinowski (2009) e Alvarez e Silva (2012), respectivamente. Este último descreve idioblastos secretores de lipídios, embora, por vezes, os autores não distingam idioblastos de cavidades secretoras. Os testes histoquímicos revelaram que a presença de idioblastos contendo polissacarídeos ácidos pode auxiliar na segregação das espécies dentro dos gêneros *Syzygium*, *Myrcia*, *Plinia* e *Psidium* (Tab. 3), entretanto, fazem-se necessários estudos que avaliem o quanto este caráter pode ser conservativo ou apresentar plasticidade em função de influências bióticas e abióticas.

Nectários

Os nectários foram observados apenas nas espécies de *Syzygium*. O néctar é a recompensa mais comumente oferecida pelas plantas como recurso alimentar na atração dos polinizadores (Faegri & Van der Pijl 1980).

As análises anatômicas revelaram que o parênquima nectarífero apresenta células com arranjo compacto, paredes delgadas, núcleo conspícuo e citoplasma denso, características que segundo Rocha (2004) e Rocha e Machado (2009), as diferencia das células parenquimáticas adjacentes e são encontradas em nectários de diferentes taxa (Sawidis 1998; Machado 1999; Melo *et al.* 2010). De acordo com Nepi (2007), as primeiras camadas, compostas por células pequenas de paredes delgadas e citoplasma denso são denominadas de parênquima nectarífero e estão diretamente envolvidas com a produção do néctar, podendo este tecido ser vascularizado por floema, fato não observado nas espécies

estudadas. Neste caso, segundo o mesmo autor, o tecido abaixo do parênquima nectarífero, apresenta feixes vasculares e possui células maiores de citoplasma menos denso e espaços intercelulares maiores, sendo este denominado de parênquima subnectarífero. Segundo Metcalfe & Chalk (1979) os nectários florais tendem a apresentar vascularização constituída unicamente por floema havendo uma correlação positiva entre a quantidade de açúcar no néctar e a quantidade de elementos de floema presentes no nectário (Sawidis *et al.*, 1987; Frey-Wyssling, 1955), pois a seiva do floema pode atuar como fonte primária de açúcares essenciais para a composição do néctar (Jian *et al.* 1997; Machado 1999).

Os testes histoquímicos realizados nos nectários detectaram a presença de açúcares redutores, substâncias fenólicas, proteínas e polissacarídeos nas duas espécies. A constituição típica do néctar inclui a sacarose, a glicose e a frutose além de outras substâncias como aminoácidos, proteínas, mucilagens, lipídeos, alcalóides, substâncias fenólicas, terpenóides, glicosídeos, ácidos orgânicos, íons minerais, vitaminas, antibióticos e antioxidantes (Baker & Baker 1983, 1990; Roshchina & Roshchina 1993; Fahn 2000; Stefano *et al.* 2001; Nicolson & Thornburg 2007). Para Meyberg (1988) os polissacarídeos presentes nos nectários não apresentam apenas a função nutricional, mas também atua na proteção das estruturas em desenvolvimento contra a dessecação. Além disso, podem funcionar na preservação de alguns componentes da secreção exposta na superfície (Machado 1999) e na regulação da economia de água (Sawidis 1991, 1998). Os compostos fenólicos identificados nas células dos nectários das espécies estudadas podem oferecer proteção contra herbívoros, microorganismos, excesso de radiação ultravioleta e ainda, proteger o protoplasto celular mantendo sua integridade quando sujeito ao estresse hídrico (Taiz & Zeiger 2006; Paiva & Machado 2008).

Osmóforos

Foram observados osmóforos nas pétalas de *Myrcia selloi*, *Psidium cattleianum* e *P. guineense*, *Eugenia puniceifolia*, *E. selloi* e *Syzygium malaccense*.

O osmóforo é um dos mecanismos que as flores dispõem para a atração de visitantes polinizadores, o que é de fundamental importância para a polinização cruzada e manutenção da variabilidade genética entre as plantas

(Fhan, 1979; Vogel, 1990; Endress, 1994). Sua função é a atração do polinizador a longa distância (Proctor *et al.*, 1996). Gotas de óleo como as reveladas pelos testes histoquímicos, foram registradas nos osmóforos de diferentes táxons (Weryszko-Chmielewska e Sulborska, 2012). A composição das fragrâncias liberadas por estas estruturas está diretamente relacionada à espécie polinizadora (Williams e Whitten 1983). Esta composição é, na maioria das vezes, complexa sendo constituída por substâncias lipofílicas voláteis e líquidas (Poser e Mentz, 2007), sendo a maioria das substâncias voláteis constituídas por terpenos de baixo peso molecular (Castro e Machado, 2005). São identificados mais de 1700 compostos voláteis para 90 famílias de angiospermas, dos quais 556 são terpenóides (Dudavera e Pichersky, 2006).

Em Myrtaceae existem registros de osmóforos para *Myrciaria dubia* (Maués e Couturier, 2002) e *Syzygium aromaticum* (Dudavera e Pichersky, 2006). Fidalgo e Kleinert (2009) consideram como osmóforos as cavidades presente no ápice das anteras de seis espécies de Myrteae. Assumindo-se esta interpretação, que está ligada mais à função que à estrutura, todos os representantes da família possuiriam osmóforos, uma vez que tais cavidades constituem uma sinapomorfia de Myrtaceae (Stevens, 2001). Um exemplo de interpretação funcional dos osmóforos ocorre na família Orchidaceae, onde tricomas secretores de óleo são apresentados como uma das possíveis formas de osmóforos (Teixeira *et al.* 2004). Uma vez que o recurso floral oferecido pelas espécies de Myrteae é o pólen (Faegri & Pijl, 1979; Proença & Gibbs, 1994; Lughadha & Proença, 1996), é razoável atribuir às cavidades secretoras do conectivo o papel de atração de polinizadores. Embora a secreção produzida pelas cavidades das anteras possa apresentar função análoga à dos osmóforos, nas espécies *Myrcia selloi*, *Psidium cattleianum* e *P. guineense*, *Eugenia punicifolia*, *E. selloi* e *Syzygium malaccense*, foram observados osmóforos com características anatômicas, histoquímicas e topológicas típicas de tais estruturas.

2.5 Conclusões

As variações na origem das cavidades secretoras são apresentadas pela primeira vez para a família e os coléteres são apontados como caracteres que, somados aos tradicionalmente utilizados podem auxiliar na diagnose de táxons na infratribais. Esta é a primeira descrição ultraestrutural das células das cavidades secretoras e dos coléteres de Myrtaceae. A presença de idioblastos contendo polissacarídeos ácidos pode auxiliar na segregação das espécies de *Syzygium*, *Myrcia*, *Plinia* e *Psidium*. De modo mais abrangente, a localização, o funcionamento, a estrutura, a ultraestrutura e a histoquímica das estruturas secretoras estão de acordo com as funções desempenhadas por essas estruturas no corpo vegetal e nas interações deste com o ambiente. A localização, a estrutura e o funcionamento das estruturas secretoras otimizam a proteção da flor em diferentes estádios de desenvolvimento. A ultraestrutura observada nas células secretoras reflete a composição química da secreção. A presença de diferentes classes de substâncias químicas na secreção, conforme identificada nas cavidades, coléteres e idioblastos é de fundamental importância nas interações bióticas e abióticas. Terpenos e substâncias fenólicas são relatadas, dentre outras funções, como substâncias de grande importância antimicrobiana e proteção contra herbívoros. Polissacarídeos, por apresentarem propriedades hidrofílicas, estão relacionados com a manutenção do potencial hídrico. Os nectários e osmóforos estão relacionados às interações com polinizadores. Dada a ocorrência variável de coléteres e osmóforos nas espécies estudadas, tais estruturas devem ser investigadas do ponto de vista evolutivo a fim de auxiliar na compreensão das relações na tribo Myrteae.

3.6 Referências

- Alvarez AS, Silva RJ. 2012.** Anatomia foliar de espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae) oriundas da restinga de Algodão/Maiandeuá-Pará. *Revista de Botânica Florianópolis*. **41**: p.83-94.
- Amaral LIV, Pereira MF, Cortelazzo AL. 2001.** Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento de sementes de urucum (*Bixa orellana* L. – Bixaceae). *Acta Botanica Brasilica* **15**: 125-132.
- Angiosperm Phylogeny Group. 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot J Linn Soc* **161**:105–121.
- Appezettato-da-Glória B, Estelita MEM. 2000.** Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **23** (2):113-120.
- Bakker ME, Baas P. 1993.** Cell walls in oil and mucilage cells. *Acta Botanica Neerlandica* **42**:133-139.
- Bakker ME, Gerritsen AF. 1992.** The development of mucilage cells in *Hibiscus schizopetalus*. *Acta Botanica Neerlandica* **41**:31-42.
- Baker HG, Baker I. 1990.** The predictive value of nectar chemistry to the recognition of pollinator type. *Israel Journal of Botany* **39**:157-166.
- Barreiro DP, Machado SR. 2007.** Coléteres dendróides em *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum., uma espécie não-nodulada de Rubiaceae. *Revista Brasileira de Botânica* **30** (3):387-399.
- Carmelo SM, Machado SR, Gregório EA. 1995.** Ultrastructural aspects of the secretory duct development in *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **18**: 95-103.
- Carr SGM, Carr DJ. 1969.** Oil glands and ducts in *Eucalyptus* L'Herit. I. The phloem and pith. *Australian Journal of Botany* **17**: 417-513.
- Carr DJ, Carr SGM. 1970.** Oil glands and ducts in *Eucalyptus* L'Herit. II. Development and structure of oil glands in the embryo. *Australian Journal of Botany* **18**: 192-212.
- Carrucan AE, Drinnan AN. 2000.** The ontogenetic basis for floral diversity in the *Baeckea* sub-group (Myrtaceae). *Kew Bulletin* **55**: 593 – 613.
- Castro MM, Leitão-Filho HF, Monteiro WR. 1997.** Utilização de estruturas secretoras na identificação dos gêneros de Asteraceae de uma vegetação do cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*. **20**: 163-174.

- Castro MM, Machado SR. 2005.** Células e tecidos secretores *In: Appezato-da-Glória, B, Carmello-Guerreiro SM. Anatomia Vegetal. 2ª ed. Editora UFV, Viçosa.*
- Cicarelli D, Pagni AME, Andreucci AC. 2003.** Ontogeny of secretory cavities in vegetative parts of *Myrtus communis* L. (Myrtaceae): an example of schizolysigenous development. *Israel Journal of Plant Sciences* **51**: 193-198.
- Cicarelli D, Garbari FE, Pagni AM. 2008.** The flower of *Myrtus communis* (Myrtaceae): secretory structures, unicellular papillae, and their ecological role. *Flora* **203**: 85-93.
- Clifford SC, Arndt SK, Popp M, Jones HG. 2002.** Mucilages and polysaccharides in *Ziziphus* species (Rhamnaceae): localization, composition and physiological roles during drought-stress. *Journal of Experimental Botany* **53**: 131-138.
- Cortelazzo, A. L. 1992.** Detecção e quantificação do amido em cotilédones de *Canavalia ensiformis* e *C. gladiata* durante o desenvolvimento inicial da planta. *Revista Brasileira de Botânica* **15**:157-162.
- Cortellazo AL, Vidal BC. 1991.** Soybean seed proteins: detection *in situ* and mobilization during germination. *Revista Brasileira de Botânica* **14**: 27-34.
- Denardi JD, Oliveira DMT, Paiva EAS. 2012.** Glandular trichomes in *Connarus suberosus* (Connaraceae): distribution, structural organization and probable functions. *Revista de Biologia Tropical*. **60** (1): 505-513.
- De-Paula OC, Oliveira DMT. 2007.** Ocorrência de coléteres em embriões de três espécies de *Chamaecrista* Moench (Fabaceae: Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Biociências* **5 (I)**: 348-350.
- Dudavera N, Pichersky E. 2006.** Biology of floral scent. CRC press, Boca Raton. Acessado pela última vez em 04 de junho de 2013 em <http://books.google.com.br/books?hl=en&lr=&id=wd3mlhZGLAMC&oi=fnd&pg=PP1&dq=Biology+of+Floral+Scent&ots=MpDKBrXxCK&sig=Tji9Nal4MEGJOrnTz-XykFo-iHg>
- Endress PK 1994.** Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press. Cambridge
- Endress ME, Bruyns PV. 2000.** A Revised Classification of the Apocynaceae *s.l.* *The Botanical Review* **66**(1): 1-56.
- Evert RF. 2006.** Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body : their structure, function, and development. 3rd ed. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

- Faegri K, Pijl LV. 1979.** The principles of pollination ecology. Oxford: Pergamon Press.
- Fahn A. 1979.** Secretory tissues in plants. London: Academic Press.
- _____ **1988.** Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* **108**: 229-257.
- _____ **2000.** Structure and function of secretory cells. *Advances in Botanical Research* **31**:37-75.
- Fahn A, Shimony C. 1998.** Ultrastructure and secretion of the secretory cells of two species of *Fagonia* L. (Zygophyllaceae). *Annals of Botany* **81**:557-565
- _____ **1977.** Development of the glandular and non-glandular leaf hairs of *Avicennia marina* (Forsskål) Vierh. *Botanical Journal of the Linnean Society* **74**: 37-46.
- Feder N, O'Brien TP. 1968.** Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* **55(1)**: 123–143.
- Fidalgo AO, Kleinert AMP. 2009.** Reproductive biology of six Brazilian Myrtaceae: is there a syndrome associated with buzz-pollination? *New Zealand Journal of Botany* **47**: 355–365.
- Fisher DB. 1968.** Protein staining of ribbonet epon section for light microscopy. *Histochemistry* **16**: 92-96.
- Frey-Wissling A. 1955.** The phloem supply to the nectaries. *Acta Botanica Neerlandica* **4**: 358-369.
- Gabe M. 1968.** Techniques Histologiques. Paris: Masson & Cie.
- Gahan PB. 1984.** Plant Histochemistry and Cytochemistry – an introduction. London: Academic Press.
- Gomes SM, Somavilla NSDN, Gomes-Bezerra KM, Miranda SC, De-Carvalho OS, Graciano-Ribeiro D. 2009.** Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. *Acta botanica brasílica* **23(1)**: 223-238.
- Gregory M, Baas P. 1989.** A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* **38**: 125-174.
- Hall JL, Flowers TJ, Robert RM. 1982.** Plant cell structure and metabolism. 2nd ed. Longman, New York.

- Horner HTJ, Lersten NR. 1968.** Development, structure and function of secretory trichomes in *Psychotria bacteriophila* (Rubiaceae) American. Journal of Botany **55**(9): 1089-1099.
- Howart WO, Horner LGG. 1959.** Practical Botany for the Tropics. London: University London Press.
- Hussin KH, Cutler DF, Moore DM. 1992.** Leaf anatomical studies of *Eugenia* L. (Myrtaceae) species from the Malay Peninsula. Botanical Journal of the Linnean Society, **110**: 137-156.
- Jensen WA. 1962.** Botanical histochemistry: principles and practice. San Francisco: W. H. Freeman & Co.
- Jian Z, Zheng-Hai H, Müller M. 1997.** Ultrastructure of the floral nectary of *Arabidopsis thaliana* L. prepared from high pressure freezing and freeze substitution. Acta Botanica Sinica **39**:289-295.
- Johansen DA. 1940.** Plant microtechnique. New York: MacGraw-Hill Company Book.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. 2009.** Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético. 3ªed. Porto Alegre: Artmed.
- Kalachanis D, Psaras GK. 2005.** Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communis* leaves. Biologia Plantarum **49**: 105-110.
- Klein DE, Gomes VM, Silva-Neto EJ, Cunha M. 2004.** The Structure of Colleters in Several Species of *Simira* (Rubiaceae). Annals of Botany **94**: 733-740
- Kronstedt-Robards E, Robards AW. 1991.** Exocytosis in gland cells. In Hawes CR, Coleman JOD, Evans DE. (eds.). Endocytosis, exocytosis and vesicle traffic in plants. Cambridge: Cambridge University Press.
- Lersten NR, Curtis JD. 1985.** Distribution and anatomy of hidathodes in Asteraceae. Bot. Gazette **146**: 106-114.
- List S, Brown PHE, Walsh KB. 1995.** Functional anatomy of the oil glands of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). Australian Journal of Botany **43**: 629-641.
- Lopes BC. 2008.** Desenvolvimento floral e estudo palinológico de *Eugenia uniflora* L. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Lughadha EN, Proença C. 1996.** survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). Annals of the Missouri Botanical Garden **83**:480-503.

- Machado SR. 1999.** Estrutura e desenvolvimento de nectários extraflorais de *Citharexylum mirianthum* Cham. (Verbenaceae). Tese de livre docência, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- _____. **2000.** Aspectos subcelulares da secreção. In Cavalcanti TB, Walter BMT. (coords.). *Tópicos atuais em botânica*: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Sociedade Botânica do Brasil.
- Machado SR, Carmelo-Guerreiro SM. 2001.** Estrutura e desenvolvimento de canais secretores em frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Acta Botanica Brasilica* **15**: 189-195.
- Malinowski RLR, Nakashima T, Alquini Y. 2009.** Latin American Journal of Pharmacy. **28** (5): 756 – 761.
- Martini MH, Lenci CG, Tavares DQ. 2003.** Mucilage pockets in cotyledon tissue of *Theobroma speciosum*. *Acta Microscopica* **12**: 65-69.
- Maués MM, Couturier G. 2002.** Biologia floral e fenologia reprodutiva do camucamu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado Pará, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*. **25** (4): 441-448.
- Mazia D, Brewer PA, Alfert M. 1953.** The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. *Biological Bulletin*
- Meyberg M. 1988.** Cytochemistry and ultrastructure of the mucilage secreting trichomes of *Nymphoides peltata* (Menyanthaceae). *Annals of Botany* **62**: 537-547.
- Melo Y, Córdula E, Machado SR, Alves M. 2010.** Morfologia de nectários em Leguminosae *sensu lato* em áreas de caatinga no Brasil. *Acta bot. bras.* **24**(4): 1034-1045. 2010.
- Metcalf CR, Chalk L. 1950.** Anatomy of dicotyledons. v.1. Clarendon Press, Oxford.
- Metcalf CR, Chalk L. 1979.** Anatomy of the dicotyledons. v.1. 2th ed. Clarendon Press, Oxford.
- Miguel EC, Klein DE, Oliveira MA Cunha M. 2010.** Ultrastructure of secretory and senescence phase in colleters of *Bathysa gymnocarpa* and *B. stipulata* (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Botânica*. **33** (3): 425-436.
- Mollenhauer HH. 1967.** The fine structure of mucilage secreting cells of *Hibiscus esculentus* pods. *Protoplasma* **63**:353-362.

- Monteiro WR, Castro MM, Fahn A, Caldeira W. 1995.** Observations on the development of the foliar secretory cavities of *Profhyllum lanceolatum* (Asteraceae). *Nordic Journal of Botany* **15**: 69-76.
- Monteiro WR, Fahn A, Caldeira W, Castro MM. 1999.** Ultrastructural observations on the foliar secretory cavities of *Profhyllum lanceolatum* DC. (Asteraceae). *Flora* **194**: 113-126.
- Nepi M. 2007.** Nectary structure and ultrastructure. In S. W. Nicolson, M. Nepi, & E. Pacini (eds.). *Nectaries and nectar*. Springer. Netherlands.
- Nicolson SW, Thornburg RW. 2007.** Nectar Chemistry. In S. W. Nicolson, M. Nepi & E. Pacini (eds.). *Nectaries and nectar*. Springer. Netherlands.
- Paiva EAS. 2009.** Occurrence, structure and functional aspects of the colleters of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Comptes Rendus Biologies* **332**: 1078–1084.
- Paiva EAS, Machado SR. 2006.** Ontogenesis, structure and ultrastructure of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae-Caesalpinioideae) colleters. *Revista de Biología Tropical* **54**: 943-950.
- _____. **2008.** The Floral Nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae): Structural Aspects During Floral Development. *Annals of Botany* **101**: 125-133.
- Pearse AGE. 1980.** *Histochemistry theoretical and applied*. vol.2, 4th ed. London: Longman Press.
- Pimentel RR. 2010.** Anatomia e desenvolvimento da Flor de *Eugenia neonitida* Sobral (MYRTACEAE). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Poser GLV, Mentz LA. 2007.** Diversidade biológica e sistemas de classificação In: Simões, CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Pterovick PR (org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ªed. Editora UFRGS, Porto Alegre.
- Proctor M, Yeo P, Lack A. 1996.** *The natural history of pollination*. Harper Collins, London.
- Proença CEB, Gibbs PE. 1994.** Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. *New Phytologist* **126**: 343-354.
- Purvis MJ, Collier DC, Walls D. 1964.** *Laboratory techniques in botany*. London: Butterwoths.

- Raatikainen OJ, Tipale HT, Pelltari A, Lapinjoki P. 1992.** Na electron microscope study of resin production and secretion by the glands of seedlings of *Betula pendula* Roth. *New Phytologist*. 122: 537-543.
- Renobales G, De Diego E, Urcelay B, Lo´ Pez-Quintana A. 2001.** Secretory hairs in *Gentiana* and allied genera (Gentianaceae, subtribe 23 Gentianinae) from the Iberian Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society* **136**: 119–129.
- Resende MH, Morretes BL. 2003.** Ocorrência e anatomia de estruturas secretoras em *Caryocar brasiliensis* Camb. (Caryocaraceae) I. Coléteres. *Bradea* **9** (9):37-44.
- Robards, A. W. 1978.** An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In J. L. Hall, (ed.). *Electron Microscopy and citochemistry of plant cells*. 343-344. Elsevier, New York.
- Rocha JF. 2004.** Estruturas secretoras em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): anatomia, desenvolvimento, histoquímica e ultra-estrutura. Tese de Doutorado. UNESP-Botucatu.
- Rocha JF, Neves LJ, Pace LB. 2002.** Estruturas secretoras em folhas de *Hibiscus tiliaceus* L. e *Hibiscus pernambucensis* Arruda. *Revista Universidade Rural, Série Ciências de Vida* **22**:43-55.
- Rocha JF, Machado SR. 2009.** Anatomy, ultrastructure and secretion in the extrafloral nectary of *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae). *Revista Brasileira de Botânica*. **32(3)**:489-498.
- Rodrigues TM. 2008.** Espaços secretores em *Copaifera langsdorffii* Desf. e *Pterodon pubescens* Benth.: ontogênese estrutura e secreção. Tese de Doutorado. UNESP-Botucatu.
- Roshchina VV, Roshchina VD. 1993.** The excretory fuction of higher plants. Berlin: Springer-Verlag.
- Sass JE. 1951.** Botanical microtechnique. The Iwoa State College Press, Iwoa
- Sawidis TH. 1991.** A histochemical study of nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis*. *Journal of Experimental Botany* **24**:1477-1487.
- Sawidis TH. 1998.** The subgandular tissue of *Hibiscus rosa-sinensis* nectarines. *Flora* **193**: 327-335.
- Sawidis TH, Eleftheriou EP, Tsekos I 1987.** The floral nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis* l. Development of the secretory hairs. *Annals of Botany* **59**:643-652.
- Schmidt R. 1972.** Floral anatomy of Myrtaceae. I. *Syzygium*. *Bot. Jahrb. Syst.* **92**: 433-489.

- Schwarz EA, Furlan A. 2002.** Coléteres foliares de *Oxypetalum* R. Br. (Asclepiadoideae, Apocynaceae) - Aspectos ultraestruturais e anatômicos úteis à taxonomia das espécies do Paraná (Brasil). *Acta Biol. Par.*, Curitiba, **31** (1, 2, 3,4): 79-97.
- 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. 33-34. Rio de Janeiro, Sociedade brasileira de Microscopia.
- Solereider H. 1908.** Systematic anatomy of the dicotyledons. v.1. Clarendon Press, Oxford.
- Stefano MA, Papini C, Andalo, Brighigna L. 2001.** Ultrastructural aspects of the hypanthial epithelium of *Selenicereus grandiflorus* (L.) Britton & Rose (Cactaceae). *Flora (Jena)* **196**: 194-203.
- Stevens PF.** (2001 em diante). Angiosperm Phylogeny Website. versão 9 de Junho de 2008. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. último acesso em 05 de Junho de 2012.
- Swain T. 1979.** Tannins and lignins. *In* Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites (G.A. Rosenthal & D.H. Jansen, eds.). Academic Press, New York, p.657-682.
- Taboga SR, Vilamaior PSL. 2001.** Citoquímica. *In* Carvalho HF, Recco-Pimentel SM. (eds.). A célula 2001. Barueri: Manoli Ltda.
- Taiz L, Zeiger E. 2006.** Plant physiology. 4th ed. Sinauer Associates, Sunderland.
- Teixeira SP, Borba EL, Semir J. 2004.** Lip Anatomy and its Implications for the Pollination Mechanisms of Bulbophyllum Species (Orchidaceae). *Annals of Botany* **93**: 499-505.
- Teixeira SP, Castro MM, Tozzi AMGA. 2000.** Secretory cavities and pellucid dots in leaflets of *Lonchocarpus* (Leguminosae, Papilionoideae, Millettieae). *Plant Systematics and Evolution* **221**: 61-68.
- Teixeira SP, Gabrielli AC. 2000.** Anatomia do eixo vegetativo de *Dahlstedtia pinnata* (Benth.) Malme e *D. pentaphylla* (Taub.) Burk. (Leguminosae, Papilionoideae). *Revista Brasileira de Botânica* **23**: 1-11.
- Teixeira SP, Rocha JF. 2009.** Oil glands in the Neotropical genus *Dahlstedtia* Malme (Leguminosae, Papilionoideae, Millettieae). *Revista Brasileira de Botânica* **32** (1): 57-64.

- Thomas V. 1991.** Structural, Functional and phylogenetic Aspects of the Colleter. *Annals of botany* **68**: 287-305.
- Thomas V, Dave Y. 1990.** Structure and necrosis of stipular colleters in *Mitragyna parvifolia* (Rubiaceae). *Belgian Journal of Botany*. **123 (1/2)**: 67-72.
- Turner G. 1999.** A brief history of the lysigenous gland hypothesis. *Botanical Review* **65**: 76-88.
- Vogel S. 1990.** The role of scent gland in pollination: on the structure an function of osmophores. Smithsonian Institution Libraries, Washington.
- Weberling F. 2000.** *Tepualia stipularis* (Myrtaceae), una planta con apéndices estipuliformes y estípulas rudimentarias. *Kurtziana* **28**: 313-315.
- Weryszko-Chmielewska E, Sulborska A.** Diversity in the structure of the petal epidermis emitting odorous compounds in *Viola x wittrockiana* Gams. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus* **11(6)** : 155-167.
- Williams NH, Whitem WM. 1983.** Orchid floral fragrances and male Euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. *Biol Bull.* 164: 355-395.
- Wilson PG, O'Brien MM, Helsewood MM, Quinn CJ. 2005.** Relationships within Myrtaceae *sensu lato* based on a *matK* phylogeny. *Plant Systemetics and Evolution* **251**:3-19.

CAPÍTULO III

4. Diversidade do gineceu e das estruturas secretoras associadas em Myrteae (Myrtaceae): inferências sobre a evolução de caracteres

4.1 Introdução

A filogenia molecular tem trazido avanços à nossa compreensão sobre as relações entre vários clados de angiospermas (APG III, 2009). Uma abordagem mais recente, usualmente empregada para a melhor compreensão da evolução de um caráter em particular, é a otimização do mesmo em uma árvore filogenética (Grandcolas *et al.*, 2004). Queiroz (2000) apresenta a otimização de caracteres morfológicos sobre árvores construídas exclusivamente a partir de dados moleculares como uma das soluções para os “problemas de redundância” gerados pela inclusão do dado morfológico que se quer estudar na construção de uma árvore.

Esse procedimento, também conhecido como “mapeamento de caracteres”, auxilia no estabelecimento de padrões de desenvolvimento dos mesmos durante o processo evolutivo e também pode ajudar a definir os estados ancestrais ou derivados (Maddison & Maddison, 2000). A otimização de caracteres consiste, por definição, em uma investigação “*a posteriori*” visando o estabelecimento da polarização de um caráter em particular em uma árvore topológica determinada (Wiley *et al.* 1991). Na prática o método consiste em sinalizar as mudanças de estado de caracteres em uma árvore filogenética e tem sido amplamente utilizado em estudos com enfoque evolutivo em vários grupos de plantas (Scharaschkin & Doyle, 2006; Lucas *et al.*, 2007; Couvreur *et al.*, 2008; O’Leary *et al.*, 2012; Xi *et al.* 2012).

A análise da evolução dos caracteres relacionados à placentação, à vascularização do ovário, aos tegumentos dos óvulos, às estruturas secretoras e seus estados pode ser informativa do ponto de vista filogenético auxiliando a elucidação das relações dentro de Myrteae e Myrtaceae tendo em vista, como os capítulos anteriores demonstram, que há muito mais variação do que a registrada na literatura.

Diante do exposto o presente capítulo objetiva ampliar os estudos relativos evolução dos caracteres estruturais do gineceu e das estruturas secretoras associadas em representantes sul-americanos de Myrteae através do mapeamento dos estados destes caracteres sobre a hipótese filogenética de Lucas *et al.* (2007), para a tribo (Anexo A).

4.2 Material e métodos

O material botânico foi o mesmo do capítulo 1. Para maior representatividade do grupo foram acrescentados dados obtidos a partir de material herborizado de cinco espécies (Tabela 1). O estado “ausente” dos caracteres osmóforos e coléteres destas espécies, foi considerado indefinido devido à dificuldade de observação destas estruturas em material herborizado.

No total foram selecionadas dezenove espécies, sendo:

- Quinze representantes dos clados sul-americanos
- Um representante do clado australasiano
- *Myrtus communis*
- Dois representantes do grupo externo “*Syzygium jambo* e *S. malacense*”.

O clado foi escolhido em função da sua inclusão no clado irmão de Myrteae na árvore filogenética de Lucas *et al.* (2007).

Os caracteres tratados neste estudo foram levantados a partir de estudos relativos à anatomia e ontogênese do gineceu e das estruturas secretoras apresentados nos capítulos anteriores. Dez caracteres foram considerados significativos, por se mostrarem variáveis entre as espécies amostradas. As matrizes de caracteres utilizadas para o mapeamento são exibidas na Tabela 2 e 3.

As inferências sobre a evolução dos caracteres foram realizadas através do mapeamento dos estados de caracteres de:

- I- Espécies estudadas no capítulo 1 e na tabela 2, que foram amostradas por Lucas *et al.* (2007), sobre a árvore filogenética de destes autores para a tribo Myrteae.
- II- Todos os clados representados no capítulo 1 e na tabela 2 sobre a árvore que representa as relações entre os grupos informais propostos pelos autores. Devido a sua maior representatividade nas amostras obtidas, o grupo *Plinia* foi representado com as relações entre seus gêneros. As inferências sobre a história evolutiva dos caracteres selecionados foram traçadas utilizando-se o programa Mesquite version 2.71 (Maddison & Maddison, 2009) através do método de máxima parcimônia.

As imagens foram editadas no software Adobe® Photoshop® 7.0 e as pranchas montadas utilizando o Corel DRAW® 12.

4.3 Resultados

O mapeamento dos dez caracteres considerados significativos (Tab. 2 e 3) sobre as árvores filogenéticas são apresentados nas figuras 1 a 10.

Tabela 1: Espécies herborizadas utilizadas no presente trabalho com seus respectivos, locais de coleta e voucher

Espécie	Local de coleta	Coletor e voucher
<i>Blepharocalyx salicifolius</i> (Kunth) O.Berg	Brasil, BA, Catolés	Harley <i>et al.</i> 28365(R)
<i>Ugni molinae</i> Turcz.	Chile, Province Cautín, Puerto Savedra	Zollner 7747 (RB)
<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> (Aiton) Hassk.	Brasil, RJ, Jardim Botânico do Rio de Janeiro	IRC 442 (RB)
<i>Acca sellowiana</i> (O.Berg) Burret	Brasil, RJ, São Francisco Paula	Pederneiras 259 (R)
<i>Myrtus communis</i> L.	Southern Europe	L. Neto 161840 (R)

Tabela 2: Matriz de caracteres utilizada para o mapeamento

Caráter	Espécies										
	<i>Myrciaria floribunda</i>	<i>Myrcia racemosa</i>	<i>Myrceugenia myrcioides</i>	<i>Ugni molinae</i>	<i>Psidium cattleianum</i>	<i>Acca selowiana</i>	<i>Eugenia punicifolia</i>	<i>Eugenia sulcata</i>	<i>Blepharocalix salicifolius</i>	<i>Myrtus comummunis</i>	<i>Syzygium jambos</i>
Número de carpelos: dois carpelos (0), três carpelos (1), quatro carpelos (2). (Fig. 1)	0	0	1	1	2	2	0	0	0	1	0
Origem da placenta: caulinar (0), carpelar (1). (Fig. 2)	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0
Número de fixes vasculares do hipanto: indefinido (0), definido-oito-(1). (Fig. 3)	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0
Vascularização da placenta: feixes vasculares penetram o septo ovariano por baixo e seguem em direção ascendente até a região de inserção da placenta (0), feixes vasculares penetram transversalmente nos carpelos. Alguns descem invertidos, até o ponto de inserção da placenta (1). (Fig.4)	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Origem do ovário ínfero: apendicular (0), receptacular (1). (Fig. 5)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
Esclereídes: presença (0), ausência (1). (Fig.6)	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0
Número de óvulos por lóculo: mais de dois óvulos por lóculo (0), dois óvulos por lóculo (1). (Fig. 7)	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0
Número de tegumentos dos óvulos: um tegumento (0), dois tegumentos (1). (Fig. 8)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Coléteres: ausência (0), presença (1) (Fig. 9)	0	0	1	1	1	?	1	1	?	?	0
Osmóforo: ausência (0), presença (1) (Fig. 10)	0	0	?	?	1	?	1	0	?	?	0

Tabela. 3: Matriz de caracteres utilizada para o mapeamento por grupos

Caráter	Grupos																	
	Grupo Plinia					Neomitranthes	Siphoneugena	Plinia	Myrciaria	Algizea	Grupo Myrcia	Grupo Myrceugena	Grupo Myrteola	Grupo Pimenta	Grupo Eugenia	Blepharocalix salicifolius	Grupo Australasiano	Myrtus communis
Número de carpelos: dois carpelos (0), três carpelos (1), quatro carpelos (2). (Fig. 1)	0	?	0	0	?	0	1	1	1&2	0	0	1	1	0	0	1	1	0
Origem da placenta: caulinar (0), carpelar (1). (Fig. 2)	0	?	0	0	?	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0
Número de fixes vasculares do hipanto: indefinido (0), definido-oito-(1). (Fig. 3)	0	?	0	0	?	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Vascularização da placenta: feixes vasculares penetram o septo ovariano por baixo e seguem em direção ascendente até à região de inserção da placenta (0), feixes vasculares penetram transversalmente nos carpelos. Alguns descem invertidos, até o ponto de inserção da placenta (1). (Fig. 4)	0	?	1	0	?	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0
Origem do ovário ínfero: inferido apartir da vascularização apendicular (0), receptacular (1). (Fig. 5)	0	?	1	0	?	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0
Esclereídes: presença (0), ausência (1). (Fig. 6)	1	?	1	1	?	1	1	1	0&1	1	1	0	1	0	1	0	0	0
Número de óvulos por lóculo: mais de dois óvulos por lóculo (0), dois óvulos por lóculo (1). (Fig. 7)	1	?	1	1	?	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Número de tegumentos dos óvulos: um tegumento (0), dois tegumentos (1). (Fig. 8)	1	?	1	1	?	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
Coléteres: ausência (0), presença (1) (Fig. 9)	0	?	1	0	?	0	1	1	1	1	1	1	1	?	?	?	?	0
Osmóforo: ausência (0), presença (1) (Fig. 10)	?	?	0	0	?	0&1	?	?	1	0&1	?	?	?	?	?	?	?	0&1

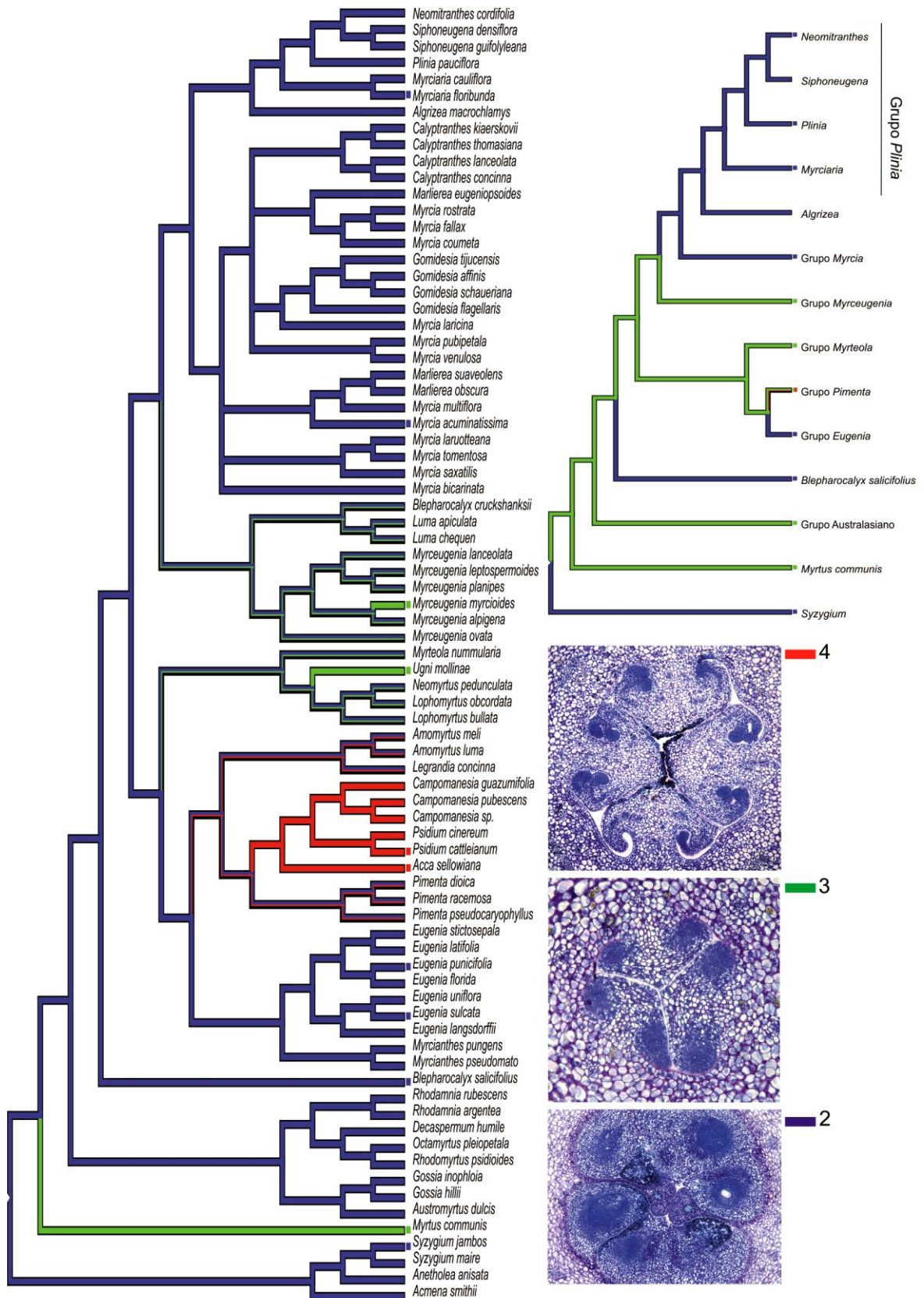


Figura 1: Mapeamento do número de carpelos, sobre a árvore filogenética de Lucas *et. al.* 2007. Os terminais marcados com um quadrado apresentam os estados de caracteres obtidos neste estudo. Os estados dos demais terminais e nós foram atribuídos pelo software utilizando-se a máxima parcimônia.

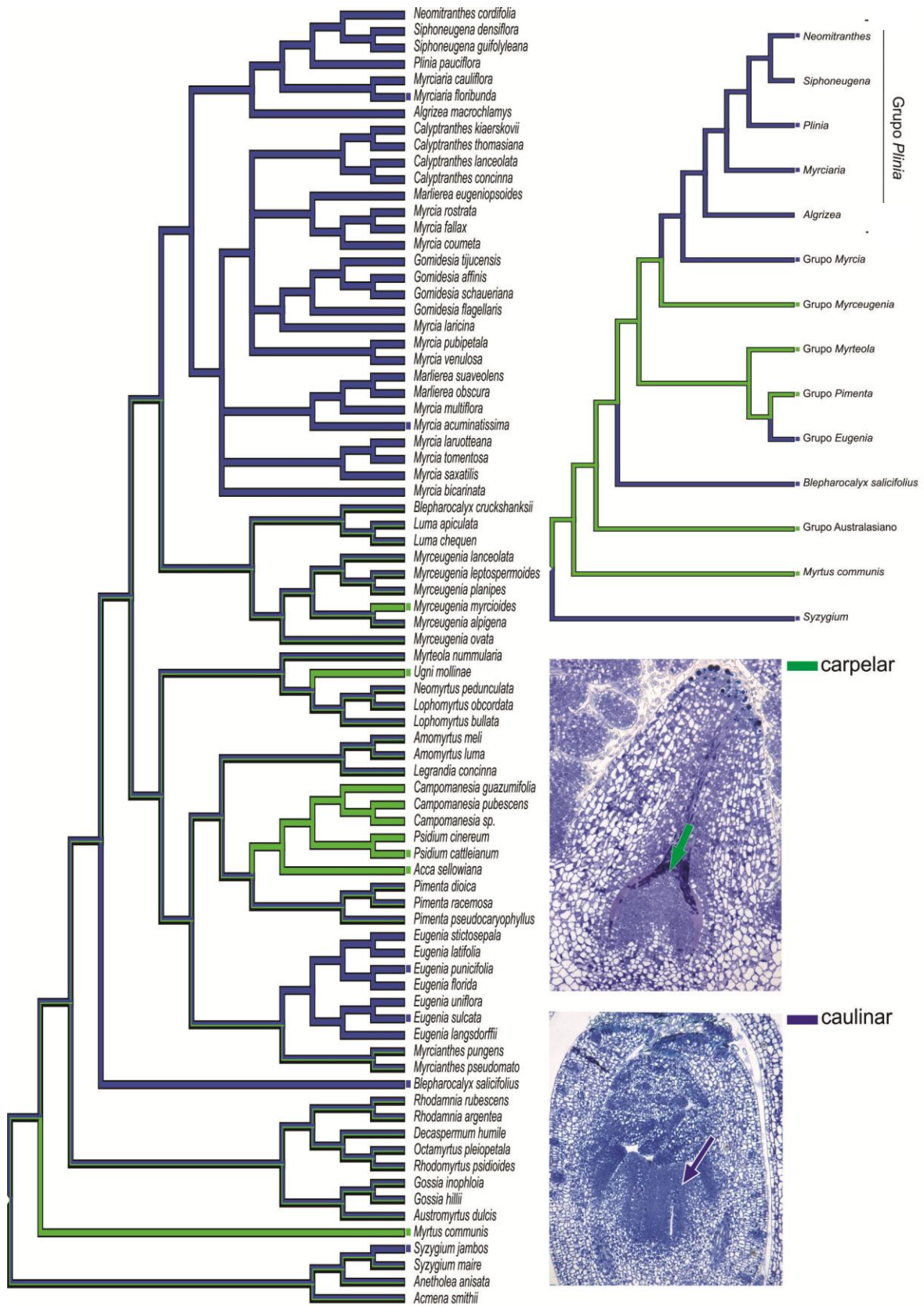


Figura 2: Mapeamento da origem da placenta, sobre a árvore filogenética de Lucas *et. al.* 2007. Os terminais marcados com um quadrado apresentam os estados de caracteres obtidos neste estudo. Os estados dos demais terminais e nós foram atribuídos pelo software utilizando-se a máxima parcimônia.

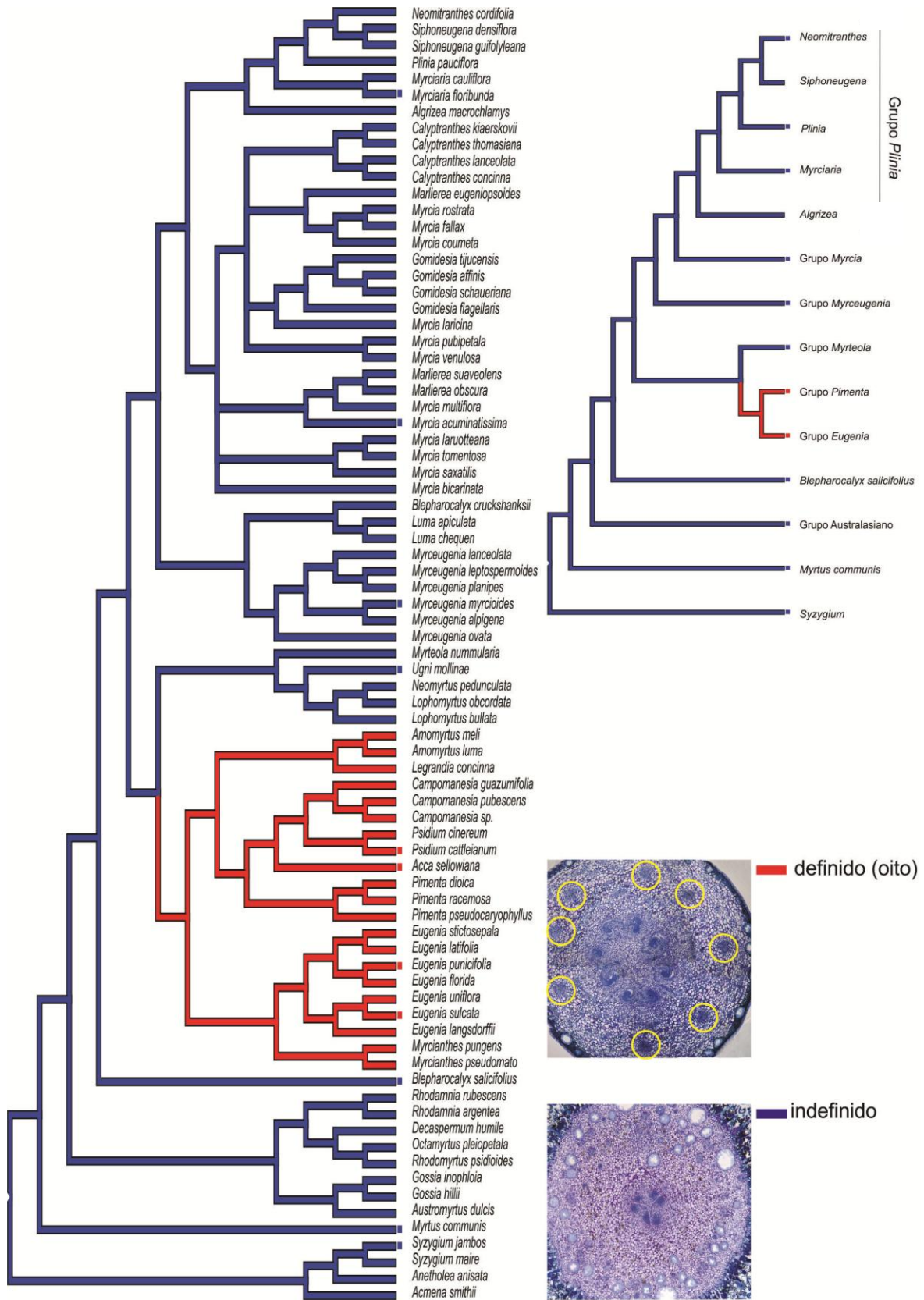


Figura 3: Mapeamento do número de fixas vasculares do hipanto, sobre a árvore filogenética de Lucas *et. al.* 2007. Os terminais marcados com um quadrado apresentam os estados de caracteres obtidos neste estudo. Os estados dos demais terminais e nós foram atribuídos pelo software utilizando-se a máxima parcimônia.

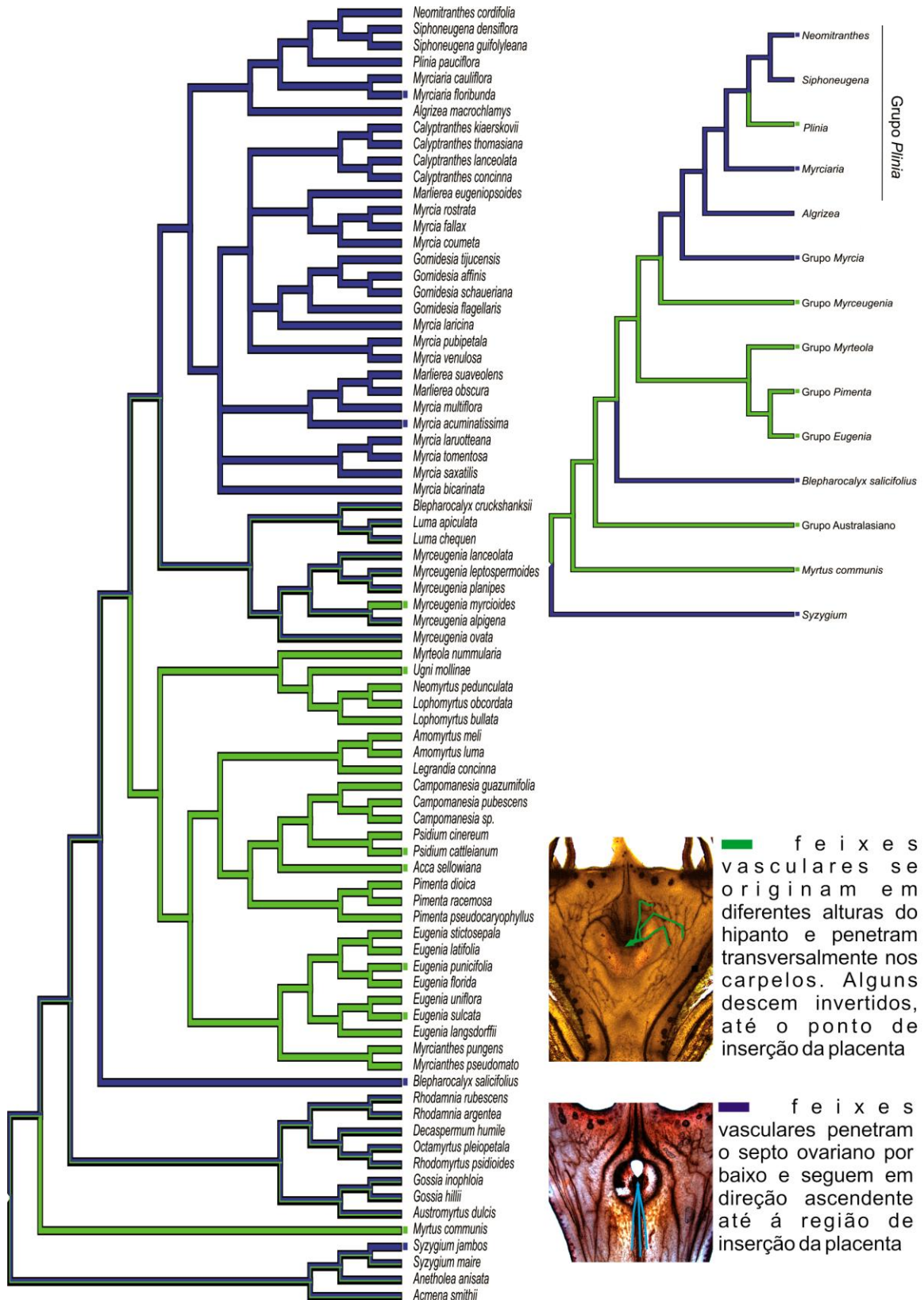


Figura 4: Mapeamento da vascularização da placenta, sobre a árvore filogenética de Lucas *et. al.* 2007. Os terminais marcados com um quadrado apresentam os estados de caracteres obtidos neste estudo. Os estados dos demais terminais e nós foram atribuídos pelo software utilizando-se a máxima parcimônia.

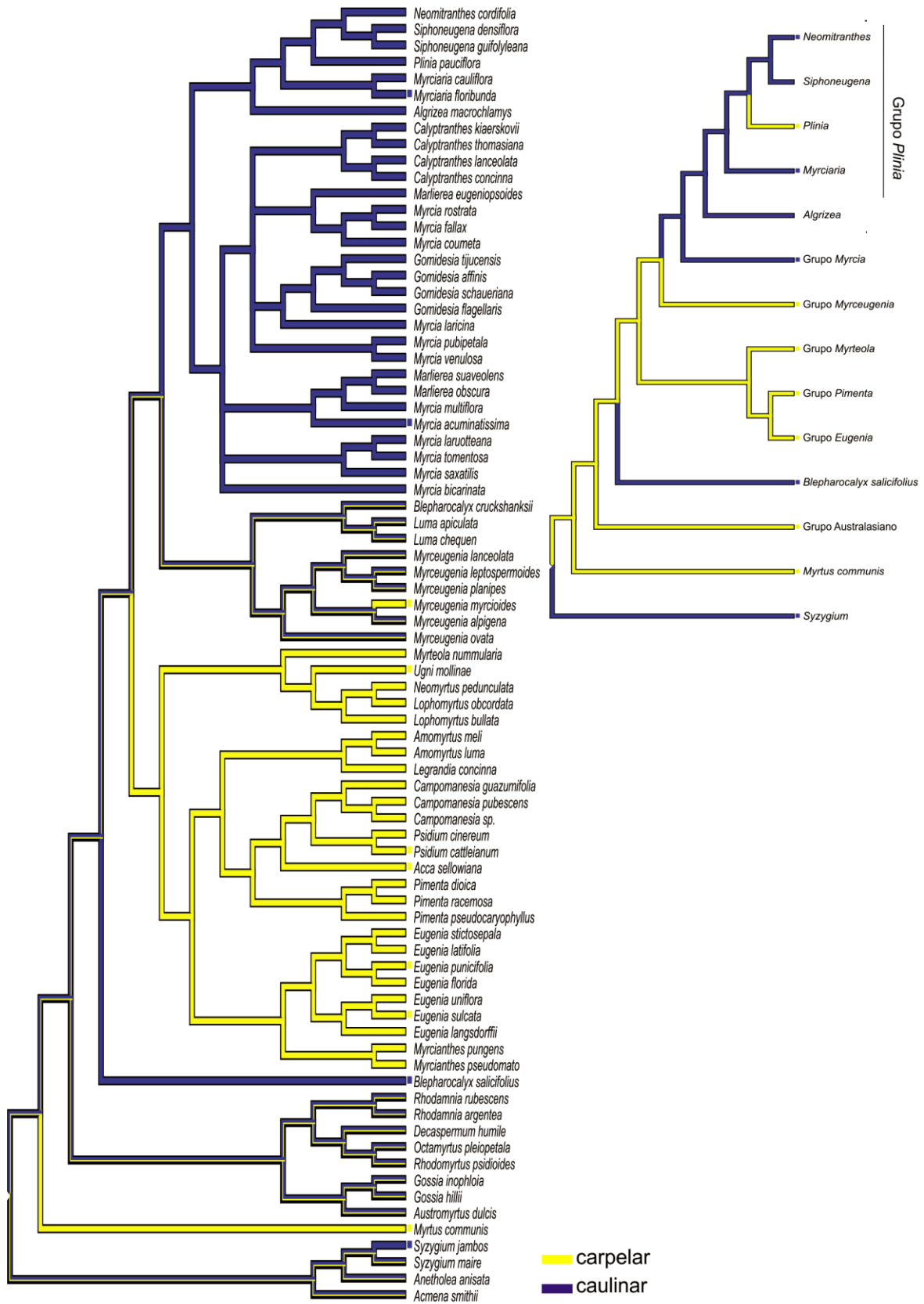


Figura 5: Mapeamento da origem do ovário ínfero, sobre a árvore filogenética de Lucas *et. al.* 2007. Os terminais marcados com um quadrado apresentam os estados de caracteres obtidos neste estudo. Os estados dos demais terminais e nós foram atribuídos pelo software utilizando-se a máxima parcimônia.

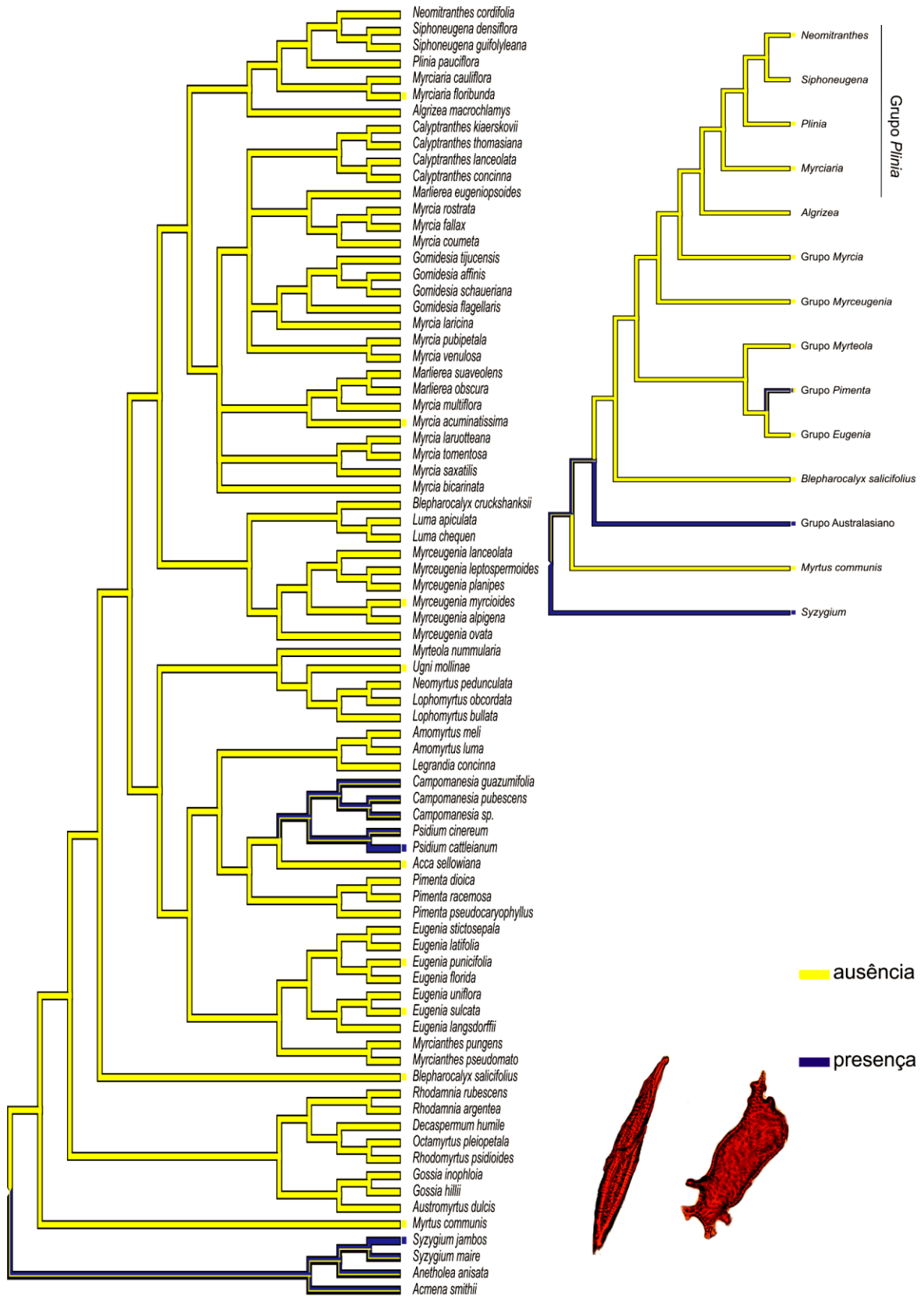


Figura 6: Mapeamento dos esclereídes, sobre a árvore filogenética de Lucas *et. al.* 2007. Os terminais marcados com um quadrado apresentam os estados de caracteres obtidos neste estudo. Os estados dos demais terminais e nós foram atribuídos pelo software utilizando-se a máxima parcimônia.

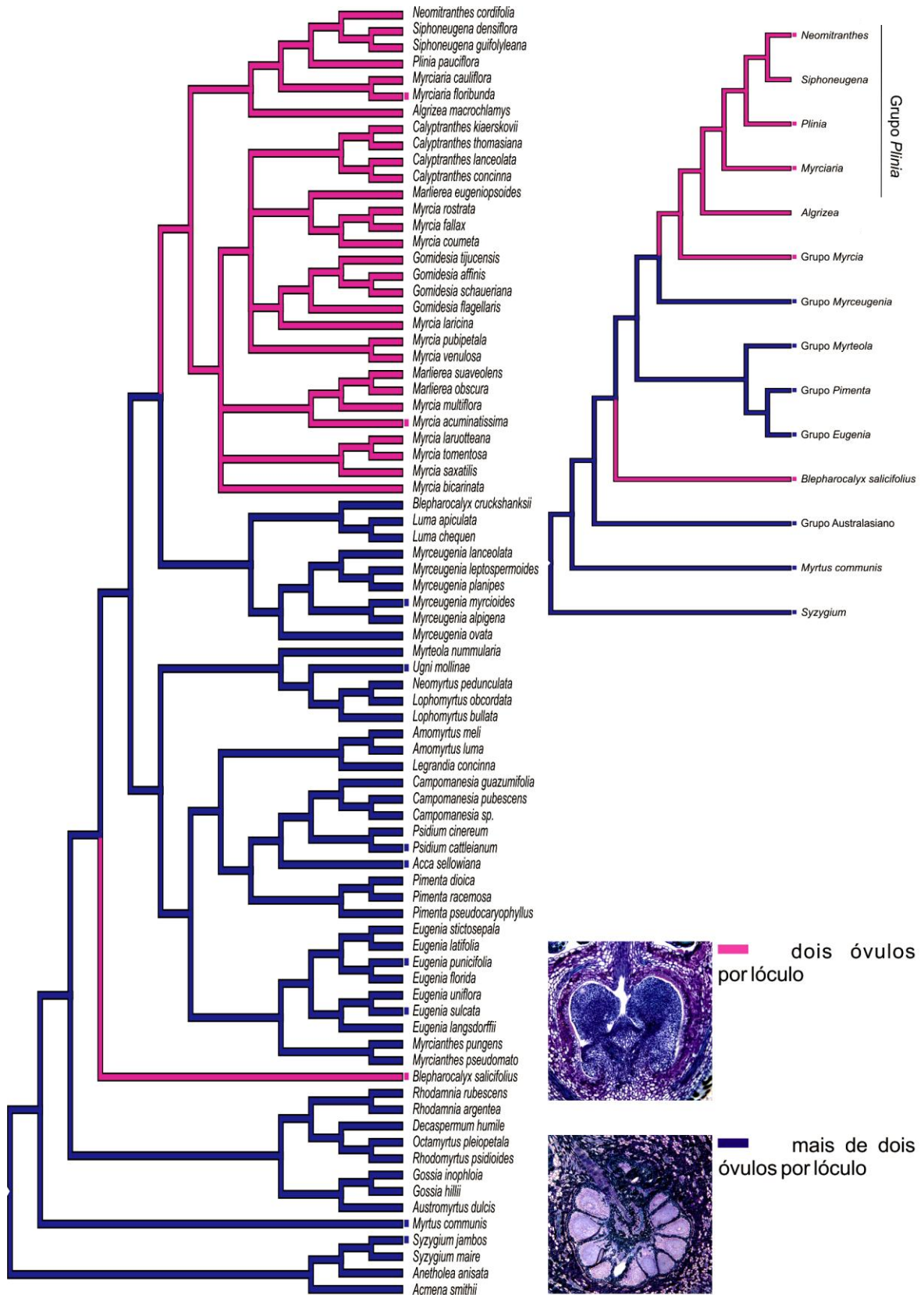


Figura 7: Mapeamento do número de óvulos por lóculo, sobre a árvore filogenética de Lucas *et. al.* 2007. Os terminais marcados com um quadrado apresentam os estados de caracteres obtidos neste estudo. Os estados dos demais terminais e nós foram atribuídos pelo software utilizando-se a máxima parcimônia.

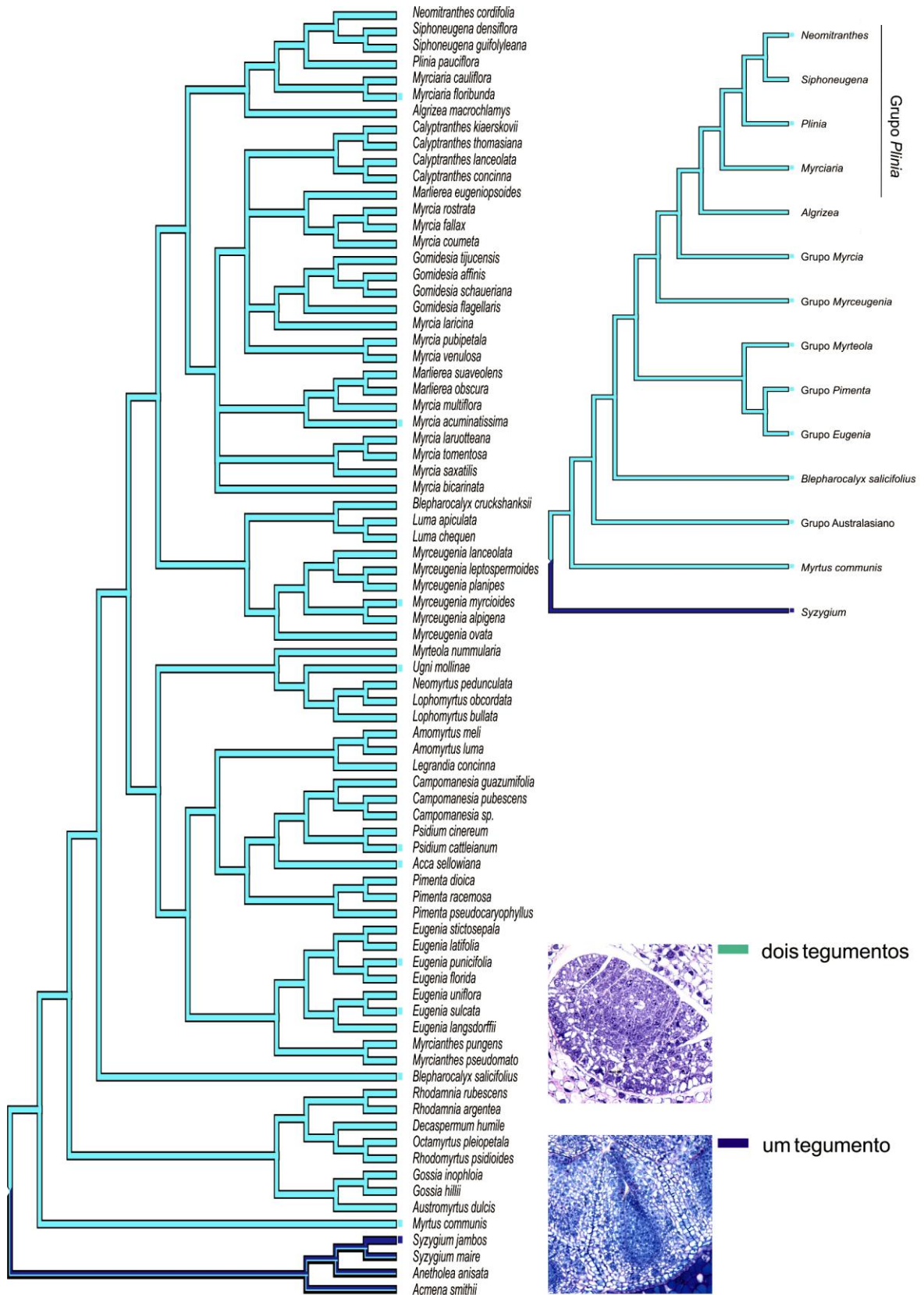


Figura 8: Mapeamento do número de tegumentos dos óvulos, sobre a árvore filogenética de Lucas *et al.* 2007. Os terminais marcados com um quadrado apresentam os estados de caracteres obtidos neste estudo. Os estados dos demais terminais e nós foram atribuídos pelo software utilizando-se a máxima parcimônia.

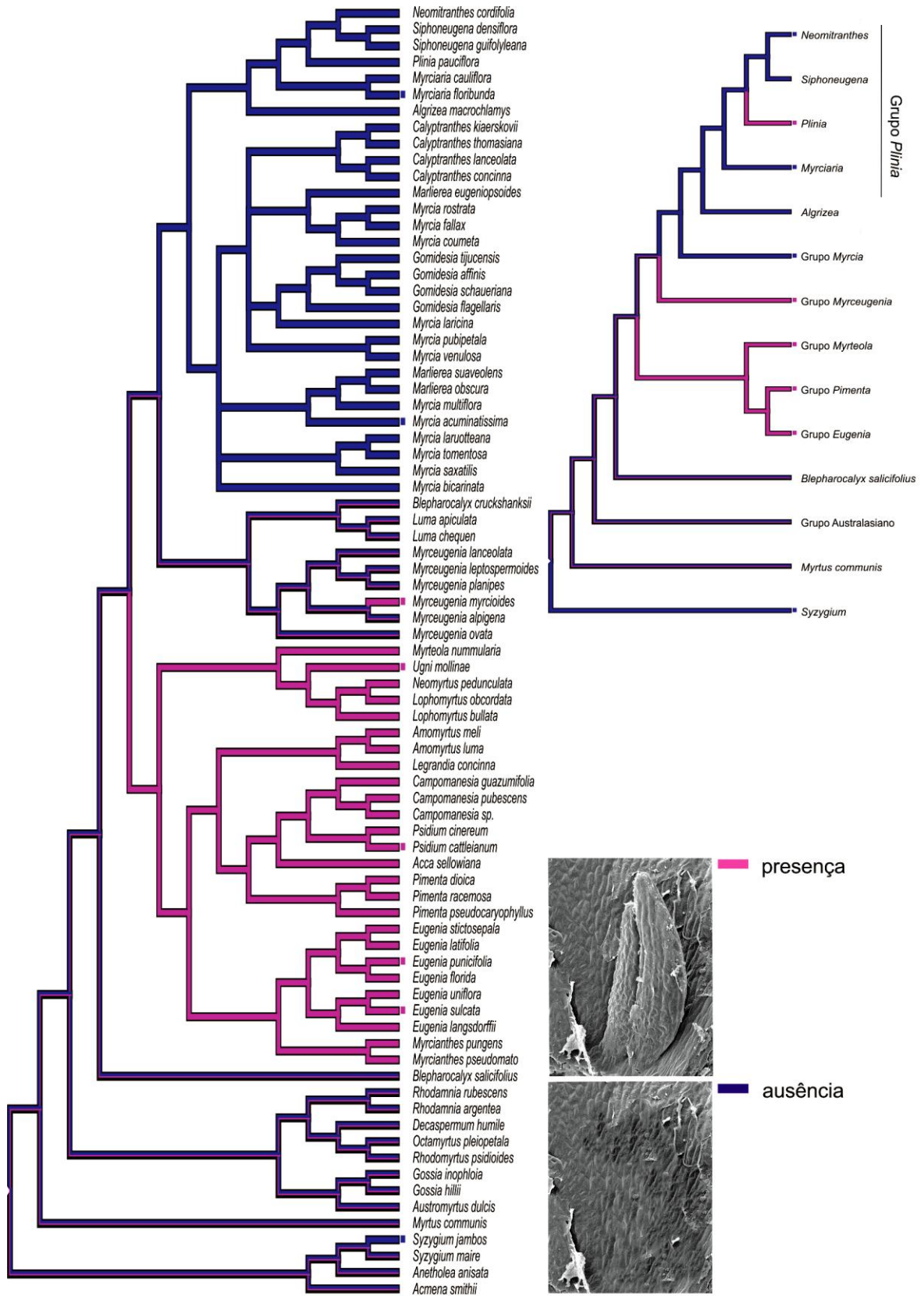


Figura 9: Mapeamento dos coléteres, sobre a árvore filogenética de Lucas *et. al.* 2007. Os terminais marcados com um quadrado apresentam os estados de caracteres obtidos neste estudo. Os estados dos demais terminais e nós foram atribuídos pelo software utilizando-se a máxima parcimônia.

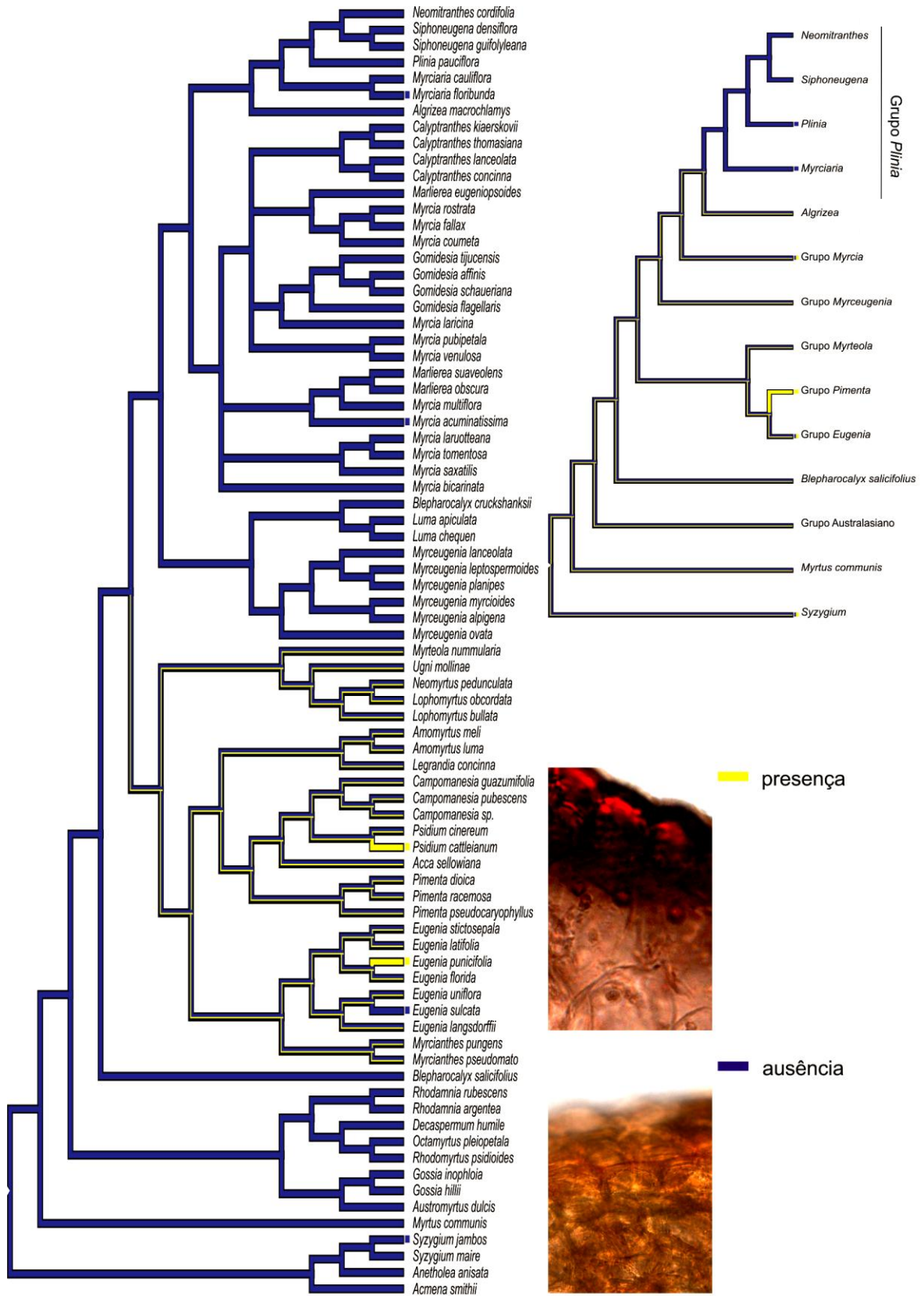


Figura 10: Mapeamento dos osmóforos, sobre a árvore filogenética de Lucas *et. al.* 2007. Os terminais marcados com um quadrado apresentam os estados de caracteres obtidos neste estudo. Os estados dos demais terminais e nós foram atribuídos pelo software utilizando-se a máxima parcimônia. As ilustrações mostram teste para lipídeos feito com o reagente sudan IV.

4.4 Discussão

A maioria das espécies sul-americanas analisadas é bicarpelar. As exceções ocorrem em *Myrceugenia myrcioides*, *Ugni molinae* e nas espécies de *Psidium*. Estes dados sugerem que a evolução levou a uma diminuição do número carpelos, sendo três a condição plesiomórfica. A perda de um carpelo ocorreu em *Blepharocalyx salicifolius*, no grupo Eugenia, e no ancestral comum dos grupos Myrcia e Plinia. A presença de quatro carpelos só foi observada no grupo *Pimenta*. Os estudos de Barreira (2013) descrevem *Myrrhinium atropurpureum* como uma espécie bicarpelar sem septo apical e com feixes transeptais. *Myrrhinium* não foi representado na hipótese filogenética de Lucas *et al.* (2007), mas assumindo-se a afinidade entre *Myrrhinium* e *Acca* (Landrum 1986), esta espécie provavelmente seria incluída no grupo *Pimenta*, cujos representantes aqui estudados também possuem feixes transeptais e não apresentam septo apical. Dessa forma *Myrrhinium atropurpureum* teria perdido pelo menos um carpelo durante sua evolução.

As placentações axial e parietal têm sido registradas na família, porém não havendo diferença significativa entre estas uma vez que, na essência, esta diferença estaria no maior ou menor grau de desenvolvimento do septo ovariano, sem diferenças na origem da placenta que seria sempre a partir das margens dos carpelos (Lucas *et al.*, 2007; Craven & Biffin, 2010; Snow & Cantley, 2010). Como consequência desta interpretação, as espécies uniloculares têm o sépto pouco ou não desenvolvido e a placenta é considerada parietal, enquanto nas espécies biloculares (ou mais) as margens dos carpelos se fusionam e suas faces formam o septo ovariano enquanto a região de fusão das margens dos carpelos forma o eixo de onde partem os óvulos. Neste último caso a placentação é considerada axial. Os dados obtidos neste trabalho revelaram que em algumas espécies a placenta tem origem independente dos carpelos, a partir de um meristema caulinar residual, o que permitiu o mapeamento de duas possibilidades para a origem da placenta: carpelar ou caulinar. Tendo como referencial o grupo externo, em Myrteae a origem caulinar é a condição plesiomórfica e a mudança para uma origem carpelar ocorreu na cladogênese da tribo com reversões nos clados sul-

americanos "*Blepharocalyx salicifolius*", "*Eugenia*", e no ancestral comum de *Myrcia* and *Plinia*

A análise do número de feixes vasculares do receptáculo revela que a organização em um cilindro de oito feixes de maior calibre, -descrito por Schmid (1972) como "monocíclico com número definido de feixes" - apareceu apenas uma vez na tribo, no ancestral comum dos grupos *Pimenta* e *Eugenia*. Desta forma, constitui uma sinapomorfia morfológica para o estabelecimento desses clados como grupos de irmãos.

A vascularização da placenta por feixes transeptais ter surgido no ancestral das Myrteae. As mudanças ocorreram em *Blepharocalyx salicifolius* e no ancestral dos grupos *Plinia* e *Myrcia*, com uma reversão no gênero *Plinia*.

A vascularização do gineceu é utilizada para inferir a origem do ovário ínfero em diferentes famílias (Kaplan 1967; Soltis & Hufford, 2002; Costello & Motley, 2004). Em ovários com origem apendicular os feixes vasculares são sempre ascendentes, enquanto nos ovários de origem receptacular os eixos condutores sobem através do hipanto em direção aos verticilos florais e, a partir daí, descem invertidos até os óvulos atravessando transversalmente o septo ovariano. Assumindo como verdade que a vascularização da placenta é informativa para inferir a origem do ovário ínfero (Kaplan, 1967), pode-se sugerir que o ancestral de Myrteae teve um ovário ínfero com origem receptacular. A origem apendicular aparece em *Blepharocalyx salicifolius*, e no ancestral do grupo *Myrcia* e *Plinia*, com uma inversão no gênero *Plinia*. No entanto, outro caráter utilizado para inferências sobre a origem do ovário ínfero é a conformação do meristema floral durante a diferenciação do perianto (Soltis & Hufford, 2002; Costello & Motley, 2004). Como discutido no capítulo 1 todas as espécies estudadas apresentaram meristema com conformação côncava na fase indicada. Desta forma toda a tribo apresentaria ovário com origem apendicular. Fica claro que, do ponto de vista filogenético, este é o caráter que apresenta o resultado mais parcimonioso para inferências sobre a origem do ovário em Myrteae. A variação na vascularização septal seria o reflexo da formação do septo apical conforme proposto por Jäger-Zürn (2011), não obstante as exceções encontradas em *Myrcia*, *Neomitantes* e em *Myrciaria floribunda*.

Em uma análise parcimoniosa, o estado presente do caráter esclereíde em *Syzygium*, permaneceu no grupo australasiano e desapareceu nas Myrteae sul-americanas, reaparecendo no clado Pimenta.

Lucas *et al.* (2007) estabeleceram <70 e > 120 como estados do número de óvulos por ovário, reconhecendo o polimorfismo deste caráter. Entretanto, as observações indicaram um padrão regular de dois óvulos por lóculo em *Blepharocalyx salicifolius* e nos grupos Myrcia e Plinia. O número de óvulos teria então, sofrido redução da condição ancestral pluriovulada para dois por lóculo nos grupos Myrcia e Plinia. Este resultado fornece um bom suporte para a hipótese de que estes são grupos irmãos.

Nas espécies de Myrteae aqui estudadas os óvulos mostram dois tegumentos, de acordo com o que é comumente encontrado em Myrtaceae (Wilson 2011). De acordo com Wilson *l.c.*, óvulos unitegmentados estão restritos ao gênero *Syzygium*. Nossa análise indica que os clados sul-americanos de Myrteae ganharam um segundo tegumento, em comparação com o grupo externo. Se *Syzygium* perdeu um tegumento durante a evolução da família (Wilson, 2011), pode-se então inferir que em Myrteae ocorre uma reversão à condição plesiomórfica bitegmentada da família. Dados de Lopes (2008) revelam unitegmia em óvulos de *Eugenia uniflora*, nesse caso ocorre uma reversão que representa, até o presente, uma autapomorfia para a espécie.

Do ponto de vista evolutivo, os coléteres parecem ter surgido duas vezes nos clados sul-americanos, diferindo dentro de um mesmo grupo, o que indica uma sinapomorfia que está mais associada aos gêneros do que aos clados supragenéricos. Observou-se também uma relação inesperada entre a ocorrência de coléteres e a vascularização carpelar da placenta nos grupos Eugenia, Myrteola, Pimenta, e no gênero *Plinia*.

A análise da ocorrência dos osmóforos ao longo da árvore filogenética da tribo demonstra que este caráter parece não ter relação com quaisquer níveis taxonômicos acima de espécies.

4.5 Conclusões

A análise dos caracteres morfológicos aqui tratados fornece uma visão geral da evolução do gineceu e das estruturas secretoras associadas nas Myrteae sul-americanas bem como sinapomorfias para os clados *Plinia*+ *Myrcia* e *Eugenia*+ *Psidium*, além de revelar uma inesperada correlação entre a vascularização da placenta e a presença de coléteres. São necessários estudos que ampliem o número de táxons amostrados a fim de se testar a existência de uma relação entre a vascularização da placenta e os coléteres e investigar seu significado.

Embora a conformação côncava e convexa do meristema floral apresente um resultado mais parcimonioso para inferências sobre a origem do ovário que as variações encontradas na vascularização da placenta, não foi possível interpretar qual seria o significado evolutivo destas últimas. O número de óvulos por lóculo e o número de feixes vasculares do hipanto se mostraram informativos do ponto de vista filogenético. Apesar de não ser filogeneticamente informativa a variação encontrada na origem da placenta pode auxiliar na diagnose de táxons infratribais.

São necessários estudos que ampliem o número de táxons amostrados a fim de se testar a existência de uma relação entre a vascularização da placenta e os coléteres e investigar seu significado.

4.6 Referências

- 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*. **161**:105–121.
- Craven LA, Biffin E. 2010.** An infrageneric classification of *Syzygium* (Myrtaceae). *Blumea* **55**: 94–99
- Couvreur TLP, Richardson JE, Sosef MSM, Erkens RHJ, Chatrou LW. 2008.** Evolution of syncarpy and other morphological characters in African Annonaceae: A posterior mapping approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **47**: 302–318.
- Grandcolas, P.; Guilbert, E.; Obillard, T. D’haese C. A.; Murienne, J. & Legendre, F. 2004.** Mapping characters on a tree with or without the outgroups. *Cladistics* **20**: 579–582.
- Lucas EJ, Harris SA, Mazine FF, Belsham SR, Nic Lughadha EM, Telford A, Gasson PE, 2007.** Chase MW. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (myrtales). *Taxon* **56** (4):1105-1128.
- Lucas EL, Matsumotok, Harris SA, Nic Lughadha EM, Benardini B, Chasey MW. 2011.** Phylogenetics, Morphology, and evolution of the large genus *Myrcia* S.L. (Myrtaceae). *International Journal of Plant Science*. **172**(7):915–934.
- Maddison DR, Maddison WP. 2000.** *MacClade 4: analysis of phylogeny and character evolution, Version 4.0*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.
- _____. **2009.** Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 2.71. <http://mesquiteproject.org>
- O’leary N, Calviño Ci, Martínez S, Lu-Irving P, Olmstead Rg, Múlgura Me. 2012.** Evolution of morphological traits In Verbenaceae. *American Journal Of Botany* **99**(11): 1–15.
- Queiroz, K. 2000.** Logical problems associated with including and excluding characters during tree reconstruction and their implications for the study of morphological character evolution. In J. J. Wiens (ed.). *Phylogenetic analysis of morphological data*. 192–212. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C.
- Scharaschkin T, Doyle JA. 2006.** Character Evolution in *Anaxagorea* (Annonaceae). *American Journal of Botany* **93**(1): 36–54.

- Schmidt R. 1972** . A resolution of the *Eugenia-Syzygium* controversy (Myrtaceae). *American Journal of Botany*. **59**: 423–436.
- Snow N, Cantley J. 2010**. New species of *Uromyrtus* and *Rhodomyrtus* (Myrtaceae: Myrteae) from Kamiali wildlife management area, Papua New Guinea, with an updated key to *Rodomyrtus*. *Harvard Papers in Botany*. **15**(1): 63-70
- Wiley EO, Siegel-Causey D, Brooks DR, Funk VA. 1991**. The Compleat Cladist A Primer of Phylogenetic Procedures. The University of Kansas Museum of Natural History. Special Publication n° 19.
- Xi Z, Ruhfel BR, Schaefer H, Amorim AM, Sugumaran M, Wurdack KJ, Endress PK, Matthews ML, Stevens PF, Mathews S, Davis CC. 2012**. Phylogenomics and a posteriori data partitioning resolve the Cretaceous angiosperm radiation Malpighiales. *PNAS*. **109** (43): 17519–17524

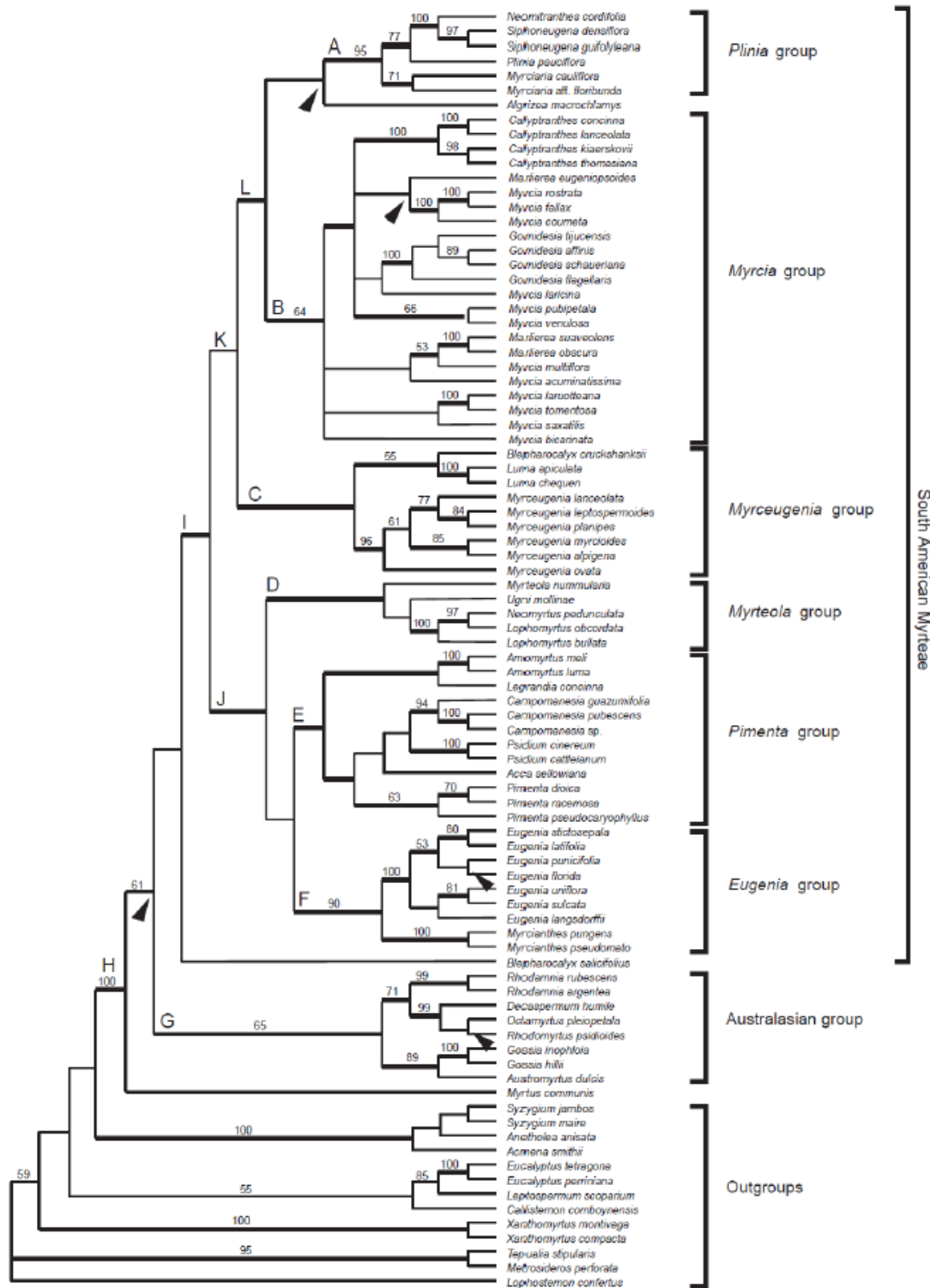
5 Considerações finais

A análise da evolução dos caracteres estruturais do gineceu em Myrteae sugere uma tendência a um menor número de carpelos e de óvulos. O número de óvulos por lóculo e o padrão monocíclico com número definido de feixes (oito) são sinapomorfias que corroboram o estabelecimento de *Plinia* - *Myrcia* e *Eugenia* – *Pimenta*, respectivamente, como grupos irmãos. Estudos futuros deverão incluir um maior número de espécies de modo a testar a correlação entre coléteres e vascularização da placenta.

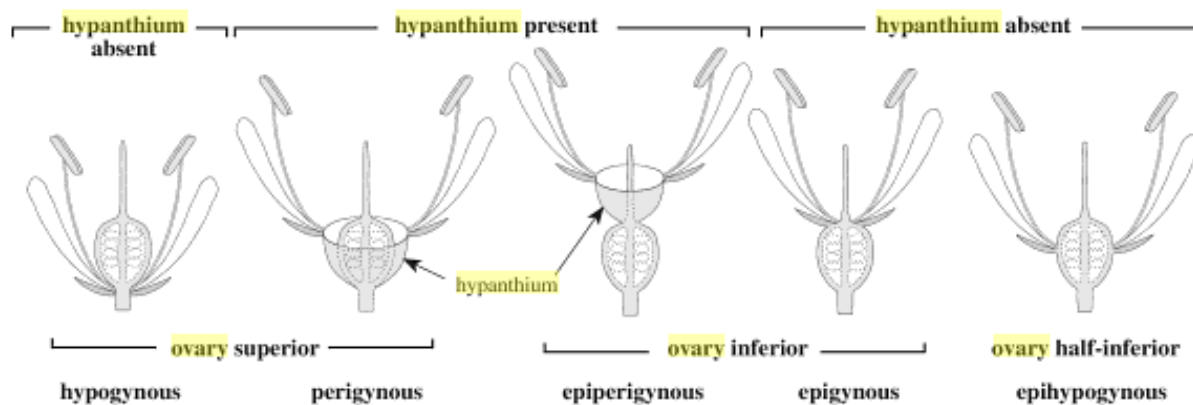
A variação encontrada na vascularização da placenta e sua divergência com a conformação do meristema floral, indicada na literatura como caracteres associados à origem do ovário, bem como a presença de diferentes tipos de estruturas ovário/hipanto (Anexo B), indicam que a tribo é um bom modelo para trabalhos que objetivem investigar as origens do ovário ínfero e do hipanto.

A presença de coléteres e a origem da placenta são novos caracteres que, somados aos tradicionalmente utilizados podem auxiliar na diagnose de táxons na infratribais.

O aumento do número de tegumentos protegendo os óvulos, esclereídes e coléteres protegendo o gineceu e os frutos jovens garantem o sucesso da tribo nas florestas tropicais onde seus frutos carnosos são componentes importantes da dieta de pássaros e mamíferos assegurando a manutenção do equilíbrio ecológico deste ambiente.



Anexo A- Cladograma de Myrteae com bases em dados moleculares, extraído de Lucas *et al.*(2007).



Anexo B- Ilustração de Simpson (2010) mostrando a posição do ovário, perianto e androceu. Reparar no hipanto com o caracterizado como extensão em formato de taça presente em flores com ovários súperos e íferos.