



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Museu Nacional

Anatomia floral e heterostilia em *Vismia micrantha* (Hypericaceae)

Victor Machado de Azevedo

Rio de Janeiro
2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Museu Nacional
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

Anatomia floral e heterostilia em *Vismia micrantha* (Hypericaceae)

Victor Machado de Azevedo

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

Orientadora: Dra. Bárbara de Sá Haiad
Coorientadora: Dra. Marina Muniz Moreira

Rio de Janeiro
2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Museu Nacional
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

Aprovada por:

Dra. Bárbara de Sá Haiad - Presidente

Dra. Silvia Rodrigues Machado

Dra. Cristine Rodrigues Benevides

Membros Suplentes:

Daniel de Oliveira Leal – Suplente Externo

Heloisa Alves de Lima Carvalho – Suplente Interno

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

AA994a Azevedo, Victor Machado de
Anatomia floral e heterostilia em *Vismia micrantha* (Hypericaceae) / Victor Machado de Azevedo. -- Rio de Janeiro, 2021.
53 f.

Orientadora: Bárbara de Sá Haiad.
Coorientadora: Marina Muniz Moreira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), 2021.

1. Hypericaceae. 2. *Vismia micrantha*. 3. Anatomia floral. 4. Heterostilia. 5. Cavidade secretora. I. Sá Haiad, Bárbara de, orient. II. Moreira, Marina Muniz, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

DEDICATÓRIA

A Deus, por ser luz e esperança, por tornar o impossível, possível.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pai bondoso, sempre muito generoso, por se fazer presente em minha vida. Eu te agradeço por me levantar quando tudo se fazia difícil, por me dar forças, por ser luz em minha vida e me permitir conseguir ultrapassar todos os obstáculos;

A meus pais (Nilcéa Machado e Sebastião Nascimento), por terem me concedido a vida, por estarem sempre me auxiliando em tudo que necessito e por terem orgulho de quem sou e do que faço;

A Bárbara de Sá Haiad! As vezes faltam palavras para expressar a gratidão que tenho por você. Muito obrigado pela acolhida durante todos esses anos, confiança, ensinamentos, ajuda (de inúmeras formas) e carinho que tem comigo e todos os seus demais alunos. Foi um prazer te ter como professora e orientadora;

A Marina Muniz Moreira, por ter aceito o convite para coorientar o trabalho, por me ensinar um pouquinho sobre biologia da reprodução, pelas inúmeras perguntas respondidas, pelas correções e sugestões que fez no trabalho durante toda essa trajetória. Muito Obrigado!;

A Karina Varella, minha companheira de vida, por partilhar inúmeros momentos comigo, bons e ruins. Muito obrigado pelos conselhos, apoio e por torcer por mim. Você vai longe!;

A Luciene Leão, sempre disponível a estender a mão a quem precisa. Muito obrigado pela ajuda para conseguir a licença de coleta e por todos os demais auxílios;

A professora Ana Rodarte, pessoa de bom coração, solícita, amiga e que busca sempre ajudar seus alunos. Gratidão!;

A Camila Raposo, pela excelente ajuda em campo que foi fundamental para o desenvolvimento desse trabalho. Eu te desejo sucesso!;

A Ingrid Cartaxo Campello, por todo autoconhecimento que me proporcionou ter, por me ensinar que a vida pode ser mais leve e que tudo vai depender de como a enxergamos. Você fez e faz diferença na vida de muitas pessoas. Parabéns pela profissional que é, e por sempre se fazer presente. “Tá tudo bem”;

A Daniel Leal, amigo de longa data, pelas conversas sempre sinceras sobre a vida e por aceitar ser revisor do trabalho;

A Cristine Benevides, pela ajuda lá no início do trabalho e por agora aceitar fazer parte da banca examinadora.

Aos amigos do laboratório de Anatomia Vegetal do Museu Nacional, em especial: José Guilherme, Bruna Gino, Lareska Zirondi e Vinícius Caldas;

Aos professores do PPGBOT, pelo conhecimento concedido e acolhimento que tem com seus alunos;

A todos os colegas do PPGBOT e amigos da turma de mestrado (2019.01) pelos momentos compartilhados, em especial: Felipe Zune, Mateus Tomás, Eliza Christina e Carollina Casa;

A todos que torceram por mim;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

RESUMO

Vismia micrantha Mart. ex A. St.-Hil, espécie pertencente a Hypericaceae, é endêmica do Brasil, ocorrendo nos biomas Cerrado e Mata Atlântica. Embora a espécie seja heterostílica e possua flores pediceladas, actinomorfas, diclamídeas, perfeitas e hipóginas, dispostas em cimeiras multifloras terminais, o tipo de heterostilia, bem como a anatomia das flores ainda não foram avaliadas. O presente trabalho pretendeu, através de análises populacionais, morfométricas, histoquímicas e de anatomia floral, avaliar o tipo de heterostilia, além de analisar e descrever estruturalmente as flores da espécie. O estudo foi realizado no Parque Estadual do Ibitipoca, MG, Brasil. *Vismia micrantha* é distílica, apresentando dois morfos florais, brevistilo e longistilo. Além disso, a projeção lateral dos estigmas (brevistilo) e estames (longistilo) sugere uma heterostilia do tipo 3D. Sépalas e pétalas apresentam epiderme uniestratificada, mesofilo parenquimático contendo cavidades secretoras e feixes vasculares. Cinco glândulas alternipétalas constituem o nectário. O recurso floral é o néctar, sugerido pelo comportamento dos visitantes florais. O androceu é composto por cinco fascículos, cada um dos fascículos reunindo três estames. As anteras são bitecas e tetraesporangiadas. Na região do conectivo ocorrem duas cavidades secretoras. A microsporogênese é simultânea, padrão comum e de utilidade para a caracterização das eudicotiledônes. O gineceu é súpero, sincárpico. O ovário é septado, pentalocular, uniovulado por lóculo. No parênquima ovariana ocorrem cavidades secretoras. A secreção produzida nas cavidades presentes em todos os verticilos é composta por substância lipofílica. A placentação é axial. Os óvulos são anátropos, bitegmentados, tenuinucelados e com endotélio. Tais características do óvulo contribuem e reforçam o padrão descrito para Hypericaceae. O saco embrionário maduro é unimodular. Este estudo traz esclarecimentos importantes para a compreensão de aspectos da reprodução de *V. micrantha*. Além disso, fornece informações relativas à morfologia e ontogênese floral, dados importantes e que historicamente contribuem para a sistemática.

Palavras-chave: cavidade secretora; nectário; distília; reciprocidade.

ABSTRACT

Vismia micrantha, a species belonging to Hypericaceae, is endemic to Brazil, occurring in the Cerrado and Atlantic Forest biomes. Although the species is heterostylous and has pedicellate, actinomorphic, dichlamydeous, perfect and hypogynous flowers, arranged in cymose inflorescences, the type of heterostyly, as well as the flower anatomy of the species were not analyzed. The present work aimed, through population, morphometric and histochemical analyses, and floral anatomy, to evaluate the type of heterostyly, in addition to analyze and structurally describe the flowers of the species. The study was carried out at the Parque Estadual do Ibitipoca, MG, Brazil. *Vismia micrantha* is distylous and has two floral morphs, short-style and long-style. Furthermore, the lateral projection of the stigmas (short-style) and stamens (long-style) suggests a 3D-type heterostyly. Sepals and petals have one-layered epidermis with non-glandular trichomes on both faces and margin, parenchymatic mesophyll containing secretory cavities and vascular bundles. The nectary is formed by five glands alternated with the petals. The floral resource is nectar, suggested by the behavior of the floral visitors. The androecium is composed of five fascicles, each fascicle bringing together three stamens. Anthers are bithecate and tetrasporangiate. In the connective there are two secretory cavities. Microsporogenesis is simultaneous, common pattern and useful for the characterization of eudicotyledons. The gynoecium is superior, syncarpous. The ovary is septate, 5-locular, uniovulate locules. Secretory cavities occur in the ovarian parenchyma. The secretion produced in the cavities present in all whorls is composed of a lipophilic substance. Placentation is axial. The ovules are anatropous, bitegmic, tenuinucellate and with endothelium. The characteristics of the ovule contribute and reinforce the pattern described for Hypericaceae. The mature embryo sac is unimodular. This study provides important clarifications for understanding aspects of *V. micrantha* reproduction. In addition, it provides information regarding floral morphology and ontogenesis, important data that historically contribute to systematics.

Keywords: nectary; distyly; reciprocity; secretory cavity.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Altura dos estigmas e dos estames maiores e menores nas flores brevestilas e longestilas de <i>V. micrantha</i> | 7 |
| Figura 2: Hábito, inflorescências e flores de <i>V. micrantha</i> | 9 |
| Figura 3: Altura das estruturas reprodutivas de flores de <i>V. micrantha</i> | 10 |
| Figura 4: Distribuição espacial dos 60 indivíduos de <i>V. micrantha</i> estudados no Parque Estadual do Ibitipoca | 11 |
| Figura 5: Pedicelo de <i>V. micrantha</i> , em vista superficial, secção transversal e longitudinal .. | 13 |
| Figura 6: Sépala de <i>V. micrantha</i> , em vista superficial e em secção transversal..... | 15 |
| Figura 7: Sépala de <i>V. micrantha</i> , em secção transversal..... | 16 |
| Figura 8: Pétala de <i>V. micrantha</i> , em vista superficial, em secção transversal e em secção longitudinal..... | 18 |
| Figura 9: Pétala de <i>V. micrantha</i> , em secção transversal | 19 |
| Figura 10: Nectário de <i>V. micrantha</i> , em secções oblíqua, longitudinais e transversal | 21 |
| Figura 11: Androceu de <i>V. micrantha</i> , em vista superficial, em secções transversais e oblíqua | 24 |
| Figura 12: Antera de <i>V. micrantha</i> , em secções transversais e oblíqua | 25 |
| Figura 13: Gineceu de <i>V. micrantha</i> , em secções transversais e oblíqua | 28 |
| Figura 14: Gineceu de <i>V. micrantha</i> , em secções longitudinais e transversal..... | 29 |
| Figura 15: Gineceu de <i>V. micrantha</i> , em secções oblíquas e em vista superficial..... | 30 |

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados dos testes histoquímicos realizados em botões florais e flores de *Vismia micrantha*31

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. Introdução | 1 |
| 2. Material e Métodos..... | 4 |
| 2.1. Área de estudo..... | 4 |
| 2.2. Estrutura populacional e aspectos da biologia floral | 4 |
| 2.3. Análises estruturais..... | 5 |
| 3. Resultados | 8 |
| 3.1. Estrutura floral | 12 |
| 3.1.1 Pedicelo | 12 |
| 3.1.2 Perianto | 14 |
| 3.1.2.1 Sépalas | 14 |
| 3.1.2.2 Pétalas..... | 17 |
| 3.1.3 Nectário | 20 |
| 3.1.4 Androceu | 22 |
| 3.1.5 Gineceu..... | 26 |
| 4. Discussão | 32 |
| 5. Conclusão | 41 |
| 6. Referências Bibliográficas | 42 |

1. Introdução

Hypericaceae Juss. pertence à ordem Malpighiales (Ruhfel *et al.* 2013) e, apesar de tradicionalmente ter sido incluída em Clusiaceae *sensu lato*, evidências filogenéticas a reconhecem como uma linhagem independente e monofilética (Xi *et al.* 2012). Seus representantes possuem distribuição cosmopolita e configuram 700 espécies subordinadas a sete gêneros (Stevens 2007; Ruhfel *et al.* 2013; Vogel *et al.* 2020). No Brasil, a família é representada por 56 espécies pertencentes a dois gêneros (*Hypericum* L., com 26 espécies, e *Vismia* Vand, com 30) que ocorrem em diversos domínios fitogeográficos, a saber: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pampa (Vogel *et al.* 2020).

Os representantes de Hypericaceae variam de ervas a árvores e possuem flores diclamídeas, dialissépalas, dialipétalas, perfeitas, com androceu fasciculado, geralmente com cinco fascículos antepétalos e estaminódios alternipétalos, já descritos por Decraene e Smets (1991) como "escamas nectaríferas". As anteras possuem glândulas no ápice, posicionadas entre as tecas. O gineceu é súpero, composto por três ou cinco carpelos; os óvulos são anátropos, tenuinucelados, com endotélio e de placentação axial (Stevens 2007).

As flores podem ser homostílicas ou heterostílicas (Vogel *et al.* 2020). A heterostilia é um polimorfismo geneticamente controlado no qual dois (distilia) ou três morfos (tristilia) florais ocorrem dentro de uma mesma população e diferem reciprocamente quanto às alturas das anteras e dos estigmas, i.e. hercogamia recíproca (Webb & Lloyd 1986; Barrett 1992; Dulberger 1992). A hercogamia recíproca é um mecanismo conhecido por promover a polinização cruzada e por diminuir a interferência espacial entre as funções sexuais femininas e masculinas da flor (Webb & Lloyd 1986; Barrett 1992). A distilia, forma mais comum da heterostilia, é caracterizada pela presença de indivíduos com estigmas posicionados acima das anteras (morfo longistilo - LS) e de indivíduos com estigmas posicionados abaixo das anteras (morfo brevistilo - BS) (Webb & Lloyd 1986). Embora a presença de espécies distílicas já tenha sido reportada em Hypericaceae (Ornduff 1975; Ornduff 1979; Santos & Machado 1999; Robson 2012; Martins *et al.* 2017), investigações mais aprofundadas sobre o tema, que busquem avaliar a presença e o tipo deste polimorfismo, ainda são necessárias para um maior conhecimento sobre a distribuição da heterostilia na família.

Como a heterostilia está comumente associada à polinização entomófila, é esperado que plantas com esse fenótipo apresentem recursos florais como, por exemplo, o néctar (Dulberger 1992). A presença de nectários em representantes de Hypericaceae é conhecida

(Decraene & Smets 1991; Santos & Machado 1999; Azevedo 2018), ainda que para algumas espécies, estas estruturas tenham recebido diferentes interpretações e denominações (Decraene & Smets 1991; Martins *et al.* 2017; Martins *et al.* 2018; Azevedo 2018).

Para flores de *Vismia micrantha* Mart. ex A. St.-Hil, Martins *et al.* (2017) descreveram a presença de “estaminódios nectaríferos”. Posteriormente, a autora (Martins *et al.* 2018), denominou as mesmas estruturas de “estaminódios retangulares”, sem mencionar a função de produção de néctar. Azevedo (2018) descreveu as flores de *V. micrantha* com nectário hipógino 5-lobado. Porém, Stevens (2007) afirma que não ocorre nectário na base do ovário em Hypericaceae. Devido às diferentes interpretações apresentadas nos estudos mencionados, uma análise mais aprofundada, considerando morfologia, anatomia e função destas estruturas presentes em flores de representantes de Hypericaceae, se faz necessária.

A presença de “glândulas” nas anteras, como anteriormente mencionado, é relatada para espécies de Hypericaceae (Stevens 2007). Martins *et al.* (2018) apontam, para espécies de *Vismia*, além de “glândulas nigrescentes” no ápice das anteras, presença de “pontoações nigrescentes ou avermelhadas” em sépalas, pétalas e ovário. De fato, flores de *Vismia brasiliensis* Choisy possuem cavidades e canais secretores em todos os verticilos florais (Leal 2016). Para flores de *V. micrantha*, Martins *et al.* (2017) descreveram “ausência de glândulas nigrescentes no ápice das anteras”. Azevedo (2018), em estudo recente, relatou para esta mesma espécie, a presença de uma grande cavidade secretora subepidérmica, na região do conectivo das anteras, e de espaços secretores nas demais estruturas florais, porém análises histoquímicas destes espaços e de suas secreções não foram realizadas, assim como seu papel funcional nas flores não foi avaliado. De acordo com Mejía-Agudelo *et al.* (2019), espécies de *Hypericum*, gênero relacionado a *Vismia*, apresentam uma ampla variedade de metabólitos, produzidos em estruturas secretoras presentes em órgãos vegetativos e reprodutivos, associados a atividades farmacológicas, tais quais antidepressiva, antiviral, antiinflamatória, espasmolítica ou antimicrobiana (Greeson *et al.* 2001; Ernst 2003; Saddiqe *et al.* 2010; Stojanovice *et al.* 2013). Tais achados reforçam a importância de estudos preliminares, anatômicos e histoquímicos, em outros representantes de Hypericaceae.

Poucos são os dados sobre a microsporogênese para a família. A presença de microsporogênese simultânea foi relatada para *Hypericum brasiliense* Choisy (Leal 2016). De acordo com Furness (2012), a microsporogênese do tipo simultânea é uma característica plesiomórfica para o clado clusioid, do qual faz parte Hypericaceae. A autora (Furness 2012) sugere que análises adicionais, incluindo outras espécies, são necessárias para reforçar tal

afirmativa, uma vez que sua análise avaliou apenas um representante para esta família, a saber: *Hypericum polyphyllum* Boiss. & Balsana.

Em Hypericaceae, o gineceu é formado por três ou cinco carpelos e a placentação geralmente é axial (Stevens 2007). Em algumas espécies de *Hypericum*, as placentas podem não atingir a região mediana do ovário, configurando placentas marginais (Stevens 2007). Os óvulos são anátropos, bitegumentados, tenuinucelados e com endotélio, características frequentes em Malpighiales (Endress *et al.* 2013). No gineceu de *V. brasiliensis* e *H. brasiliense*, a fusão dos carpelos não é total e, conseqüentemente, o ovário se apresenta incompletamente septado (Leal 2016). Ainda nestas espécies, a placentação foi classificada como marginal, os óvulos como anátropos, bitegumentados, tenuinucelados e com endotélio e os sacos embrionários, como unimodulares (com quatro células e cinco núcleos) (Leal 2016).

Vismia micrantha, espécie endêmica do Brasil, ocorre nos domínios fitogeográficos do Cerrado e da Mata Atlântica no sudeste do país (Vogel *et al.* 2020). A espécie é heterostílica (Martins *et al.* 2017) e possui flores actinomorfas, diclamídeas, perfeitas e hipóginas (Azevedo 2018).

Considerando (i) a importância de estudos de anatomia floral para a compreensão de aspectos reprodutivos em Hypericaceae e (ii) o fato de *V. micrantha* ser uma espécie heterostílica, o presente trabalho pretendeu, através de análises populacionais, morfométricas, histoquímicas e de anatomia floral, descrever as flores da espécie, bem como avaliar a presença e funcionalidade de nectários nos diferentes tipos florais, respondendo às seguintes perguntas:

- Qual o tipo de heterostilia *V. micrantha* possui?
- O recurso floral oferecido aos visitantes florais é néctar?
- Qual(is) a(s) classe(s) de substância(s) é(são) produzida(s) e secretada(s) pelas cavidades localizadas no conectivo das anteras?
- Os componentes da secreção das cavidades localizadas no conectivo das anteras diferem daqueles dos espaços secretores presentes nas demais estruturas florais?
- A microsporogênese é simultânea?
- O ovário é incompletamente septado e a placentação marginal?
- O óvulo é bitegumentado, tenuinucelado e com endotélio?
- O saco embrionário maduro é unimodular?

2. Material e Métodos

2.1. Área de estudo

O estudo foi realizado no Parque Estadual do Ibitipoca (PEI), localizado no sudeste do Estado de Minas Gerais, Brasil, entre os municípios de Santa Rita de Ibitipoca e Lima Duarte (21°40' - 21°44'S e 43°52' - 43°55'W). O clima da região é do tipo Cwb: mesotérmico úmido, com verões amenos e invernos secos (Koeppen 1948), com uma precipitação anual média de 1.532mm e temperatura média de 18,9°C (Cetec 1983). O PEI faz parte do complexo da Mantiqueira (Filardi *et al.* 2014) e apresenta um mosaico vegetacional onde predominam os campos rupestres (Giulietti & Pirani 1988; Andrade & Souza 1995; Alves & Kolbek 2010; Filardi *et al.* 2014). Devido a sua fauna e flora diferenciadas e seu grande número de grutas e cavernas, o PEI foi classificado na categoria de extrema importância biológica (Silveira *et al.* 2016).

2.2. Estrutura populacional e aspectos da biologia floral

Todos os indivíduos de *V. micrantha* encontrados e identificados em floração, através de caminhadas ao longo de trilhas pré-estabelecidas no interior do PEI (a saber: Circuito das Águas, Trilhas Próximas ao Centro de Visitantes e Início da Trilha para a Janela do Céu), foram marcados e georreferenciados.

Para verificar a ocorrência e o tipo de heterostilia, os indivíduos de *V. micrantha* encontrados e identificados em floração no período de janeiro a março de 2020 (n= 60 indivíduos), foram caracterizados quanto à posição de estigma e anteras nas flores, definindo seus morfos. Para isso, cinco flores de quatro indivíduos longistilos e cinco flores de cinco indivíduos brevistilos (n total = 45 flores) foram coletadas, conservadas em álcool 70%, sendo o comprimento dos estames e pistilos posteriormente mensurados no laboratório. Essas medidas foram avaliadas apenas em flores com a mesma idade. Além dessas medidas, também mensuramos: o diâmetro da corola, o comprimento e largura das pétalas e contabilizamos o número de óvulos por flor. Todas as medidas foram realizadas com auxílio de paquímetro digital Digimess 0,01mm/150mm/6" (Digimess, São Paulo, Brasil). Previamente a essas medidas, as flores foram avaliadas no campo quanto à coloração, presença de odor e tipo de recurso floral oferecido. A presença de odor foi avaliada durante o dia, para isso flores foram armazenadas em vidros hermeticamente fechados e posteriormente avaliadas pela percepção humana quanto a presença de odor.

A proporção entre os morfos na população foi avaliada através da contagem dos 60 indivíduos totais amostrados na população. Utilizou-se o teste do Qui-quadrado para avaliar se as proporções entre os morfos difere de 1:1 (isopletia). Para isso, utilizamos a função *chisq.test* do software R versão 3.5.3 (R Development Core Team 2018).

A reciprocidade entre os morfos, na população amostrada, foi avaliada através do conceito de inacurácia adaptativa da reciprocidade proposto por Armbruster *et al.* (2017). Para o cálculo da inacurácia foram tomadas medidas das alturas das estruturas reprodutivas (estigma e anteras) de 22 flores de cada morfo (n = 44 flores totais), sendo uma flor por indivíduo. Como as flores de *V. micrantha* apresentam anteras com duas alturas distintas em ambos os morfos florais essas diferenças também foram incluídas nos cálculos da inacurácia. Os valores da imprecisão para os órgãos altos e baixos foram calculados através das seguintes fórmulas:

$$\text{Inacurácia}_{\text{órgãos altos com anteras altas}} = (\overline{AA} - \bar{S})^2 + V_{AA} + V_S$$

$$\text{Inacurácia}_{\text{órgãos baixos com anteras baixas}} = (\overline{aa} - \bar{s})^2 + V_{aa} + V_s$$

$$\text{Inacurácia}_{\text{órgãos altos com anteras mais baixas}} = (\overline{Aa} - \bar{S})^2 + V_{Aa} + V_S$$

$$\text{Inacurácia}_{\text{órgãos baixos com anteras mais altas}} = (\overline{aA} - \bar{s})^2 + V_{aA} + V_s$$

Onde os órgãos altos são representados por **A** (altura das anteras do morfo brevistilo) e **S** (altura dos estigmas do morfo longistilo), e os órgãos baixos por **a** (altura das anteras do morfo longistilo) e **s** (altura dos estigmas do morfo brevistilo) (Fig. 1). Os estames maiores do morfo longistilo estão representados por **aA** e os menores por **aa** (Fig. 1). Para o morfo brevistilo os estames maiores estão representados por **AA** e os menores **Aa** (Fig. 1). Os valores de \overline{AA} , \overline{aA} , \overline{Aa} , \overline{aa} , \bar{S} e \bar{s} representam as médias das alturas e os valores de V_{AA} , V_{Aa} , V_{aA} , V_{aa} , V_S e V_s as variâncias das alturas. A reciprocidade perfeita ocorre se a inacurácia for zero, ou seja, se todas as anteras e estigmas correspondentes estiverem na mesma altura (Armbruster *et al.* 2017).

2.3. Análises estruturais

Para a realização das análises estruturais, botões florais em diferentes estádios de desenvolvimentos e flores de *V. micrantha* foram coletados nos meses de novembro de 2018 a março de 2019 e de janeiro a março de 2020.

Para análises em microscopia eletrônica de varredura (MEV), as amostras foram fixadas em glutaraldeído 2.5% em tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7.2, pós-fixadas com tetróxido de ósmio 0.5% no mesmo tampão, desidratadas em série etílica, secadas ao ponto crítico de CO₂

em equipamento Balzers Union CPD 020 (Balzers Union Ltd, Balzers, Leichtenstein), metalizadas com ouro em metalizador Bal-Tec SCD 050 (Bal-Tec, Pfäffikon, Suíça), examinadas e documentadas em microscópio eletrônico de varredura FEI QUANTA 200 (FEI, Hillsboro, OR, EUA) do Centro de Microscopia Eletrônica, IBB/UNESP.

Para análises em microscopia de luz (ML) e de epifluorescência (MF), as amostras foram fixadas em formaldeído 4% + glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,05 M pH 7.2 (Gahan 1984), submetidas à baixa pressão, desidratadas em série etílica e emblocadas em Historesin® (Leica, Wetzlar, Germany). Secções seriadas de 1-3µm de espessura, obtidas com navalha de vidro em micrótomo rotativo modelo Spencer 820 (American Optical Co, Buffalo, NY, EUA), foram coradas com Azul de Toluidina O 0,05% (Feder & O'Brien 1968). Análises e documentação fotográfica foram realizadas em microscópio Leica DM750 com câmera Leica ICC50 HD e software LAS EZ versão 3.0.0 ou em microscópio de epifluorescência Olympus BX-51 (Olympus Co Ltd, Tokyo, Japão) com câmera Q color 5 e software Image-Pro Express.

Para detectar as principais classes de metabólitos nas células, secções de material emblocado ou conservado em álcool 70%, obtidas em micrótomo rotativo e de Ranvier respectivamente, foram tratadas com: (a) Sudan III e IV, para compostos de natureza lipofílica (Jensen 1962), (b) Lugol, para amido (Langeron 1949), (c) dicromato de potássio, para compostos fenólicos (Gabe 1968), (d) Reagente de Fehling, para açúcares (Maclean & Ivimey-Cook 1952), (e) Vermelho de Rutênio, para mucilagem (Langeron 1949), (f) ácido periódico + reagente de Schiff (PAS) (Taboga & Vilamaior 2013), para polissacarídeos; (h) ácido acético e ácido clorídrico para a determinação da natureza química dos cristais através de testes de solubilidade diferencial (Maclean & Ivimey-Cook 1952); (i) Auramina O, para cutina (Gahan 1984). Para observação de calose, secções foram coradas com Azul de Anilina (0,1%) em K₂HPO₄, 0,15 M (Martin 1959), mantidas sob-refrigeração por um período de 2 horas e observadas sob luz UV em microscópio de epifluorescência.

Todas as imagens foram editadas usando Adobe Photoshop extended CS4.

Os materiais testemunho foram depositados no Herbário do Museu Nacional (R).

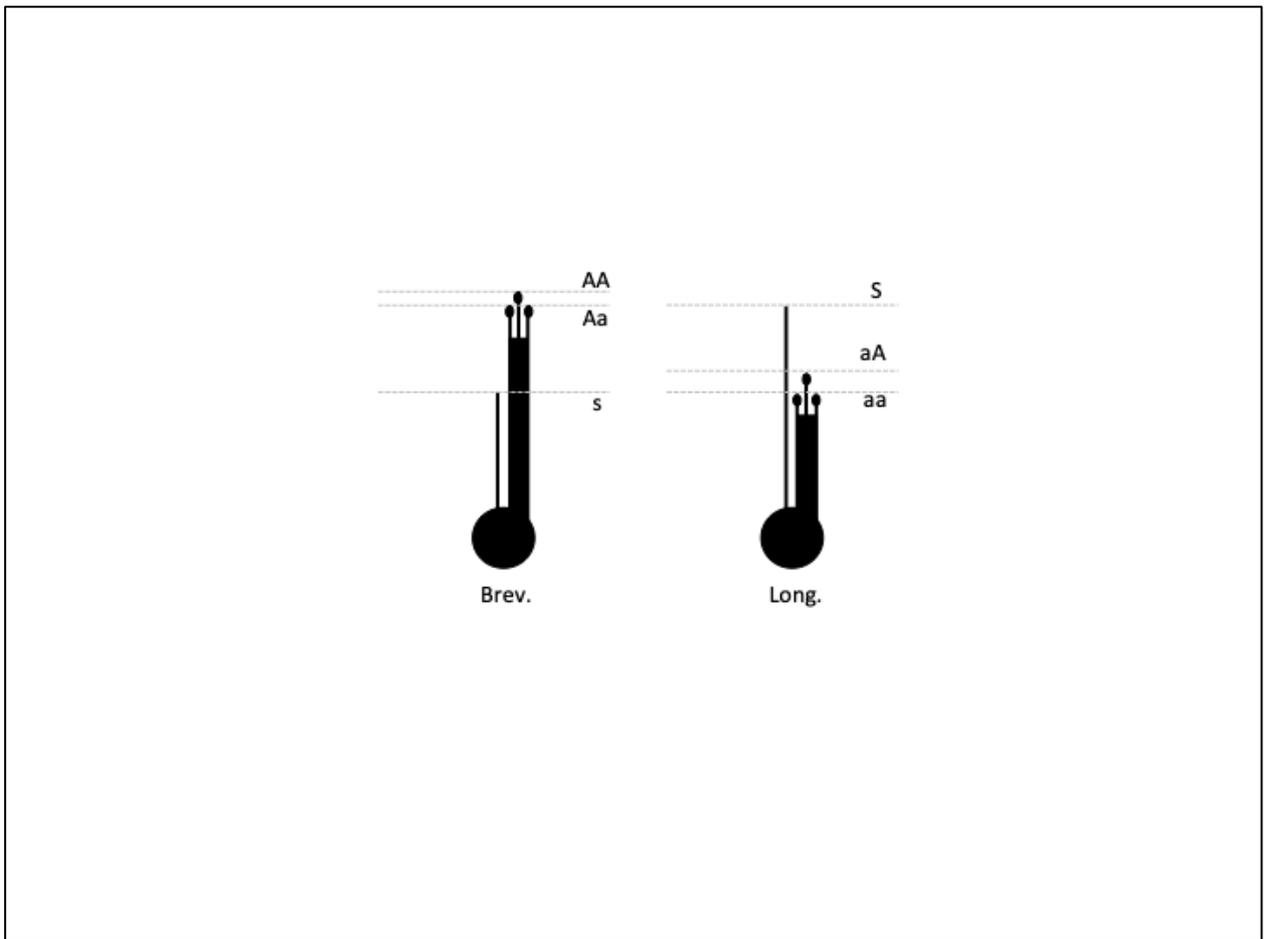


Figura 1: Altura dos estigmas e dos estames maiores e menores nas flores brevistilas e longistilas de *V. micrantha*. AA: estame maior na flor brevistila; Aa: estame menor na flor brevistila; s: estigma da flor brevistila; S: estigma da flor longistila; aA: estame maior da flor longistila; aa: estame menor da flor longistila.

3. Resultados

Vismia micrantha é uma espécie lenhosa de hábito arbustivo-arbóreo, com altura variando entre 1 e 5m na área de estudo (Fig. 2a). Através da amostragem populacional, observamos a existência de dois morfos florais, um caracterizado pela presença de flores com anteras posicionadas acima dos estigmas (morfo brevistilo) (Fig. 2b; 3a) e outro caracterizado pela presença de flores com anteras localizadas abaixo dos estigmas (morfo longistilo) (Fig. 2c; 3b). Este resultado confirma que a espécie é distílica. Além disso, observamos proporções equivalentes (1:1) entre os indivíduos brevistilos (n= 28) e longistilos (n= 32) na população amostrada ($\chi_2 = 0,008$, $gl = 1$, $p = 0,927$; Fig. 4).

As inflorescências de *V. micrantha* são cimeiras multifloras terminais (Fig. 2d). As flores são pequenas (diâmetro da corola: $5,95 \pm 0,58\text{mm}$), pediceladas, hermafroditas, actinomorfas, diclamídeas, heteroclamídeas, hipóginas, nectaríferas e odoríferas. O cálice é dialissépalo e esverdeado. A corola é dialipétala; as pétalas são elípticas (comprimento: $3,13 \pm 0,37\text{mm}$; largura: $1,73 \pm 0,22\text{mm}$), branco-esverdeadas com máculas castanho-alaranjadas (Fig. 2e) e apresentam tricomas alvos, numerosos na face adaxial e raros na face abaxial (Fig. 2c, e). O nectário é composto por cinco glândulas alternipétalas, alaranjadas com numerosos tricomas alvos. As flores produzem um odor fraco e adocicado. O androceu, em ambos os morfos, é composto por cinco fascículos, cada um dos fascículos reunindo três estames (raro dois ou quatro), sendo dois estames menores e um maior. Ao todo as flores possuem 10 estames menores e cinco maiores (Fig. 2f). A porção proximal dos fascículos apresenta tricomas. As anteras são branco amareladas, bitecas e rimosas. O gineceu é súpero, gamocarpelar com 5 carpelos, raro 4 ou 6. O ovário é esverdeado com máculas castanho-alaranjadas e uniovulado por lóculo.

A inacurácia da reciprocidade dos órgãos altos (i.e. estigma de flores longistilas e anteras de flores brevistilas) foi de 1,04 considerando as anteras altas e de 0,47 com as anteras mais baixas do fascículo. A inacurácia dos órgãos baixos (i.e. estigma de flores brevistilas e anteras de flores longistilas) foi de 0,87 considerando as anteras altas e de 0,34 com as anteras mais baixas do fascículo, indicando uma maior reciprocidade dos órgãos baixos. Além disso, esses resultados indicam uma maior reciprocidade do estigma com as anteras mais baixas em ambos os morfos.

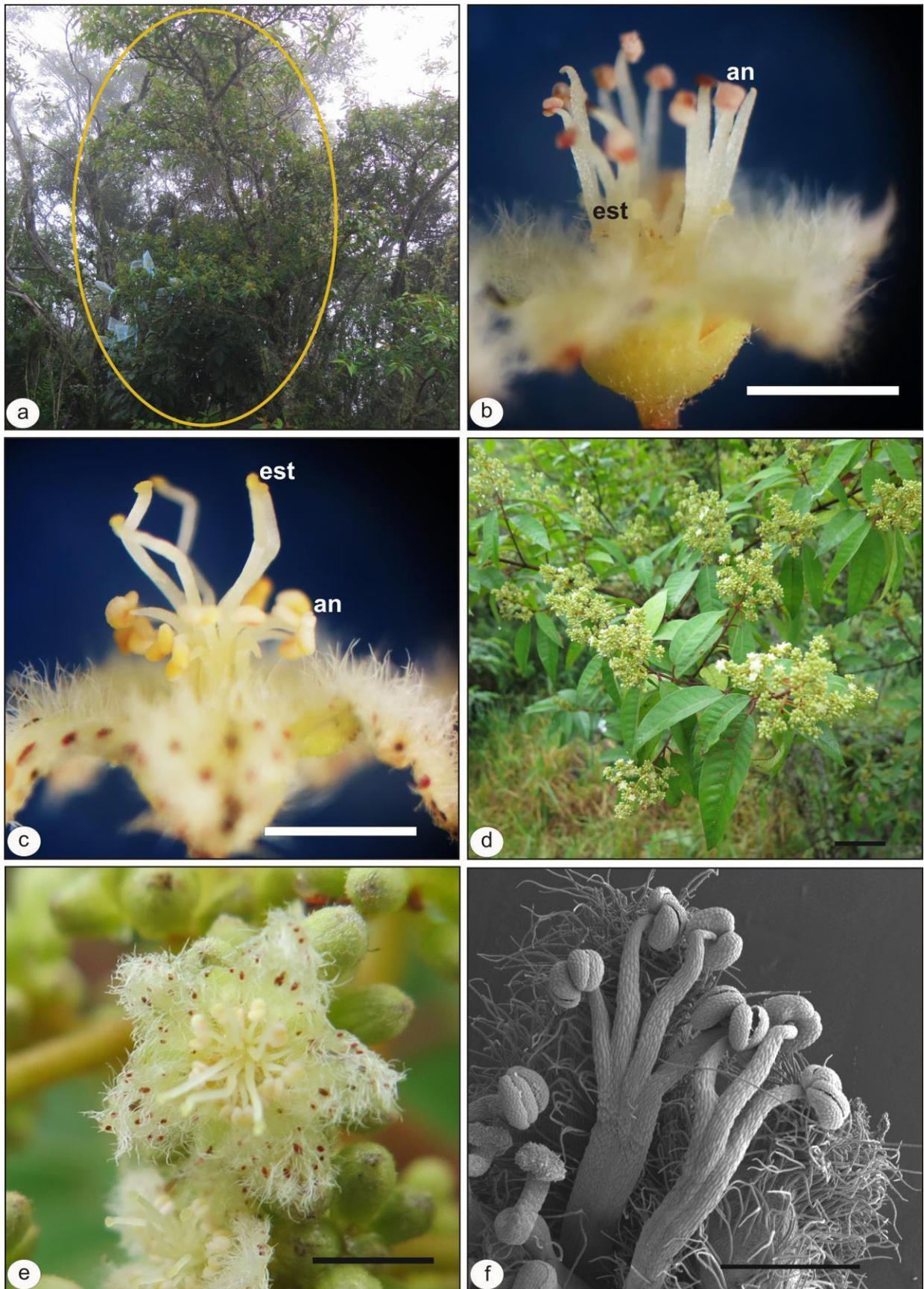


Figura 2: Hábito, inflorescências e flores de *V. micrantha*: a, hábito (destaque); b, detalhe da flor do morfo brevistilo; c, detalhe da flor do morfo longistilo; d, detalhe das inflorescências; e, detalhe das pétalas, androceu e gineceu; f, detalhe do androceu fasciculado (MEV). an = antera; est = estigma. Barra = 12mm em d; 3mm em e; 2mm em b, c; 1mm em f.

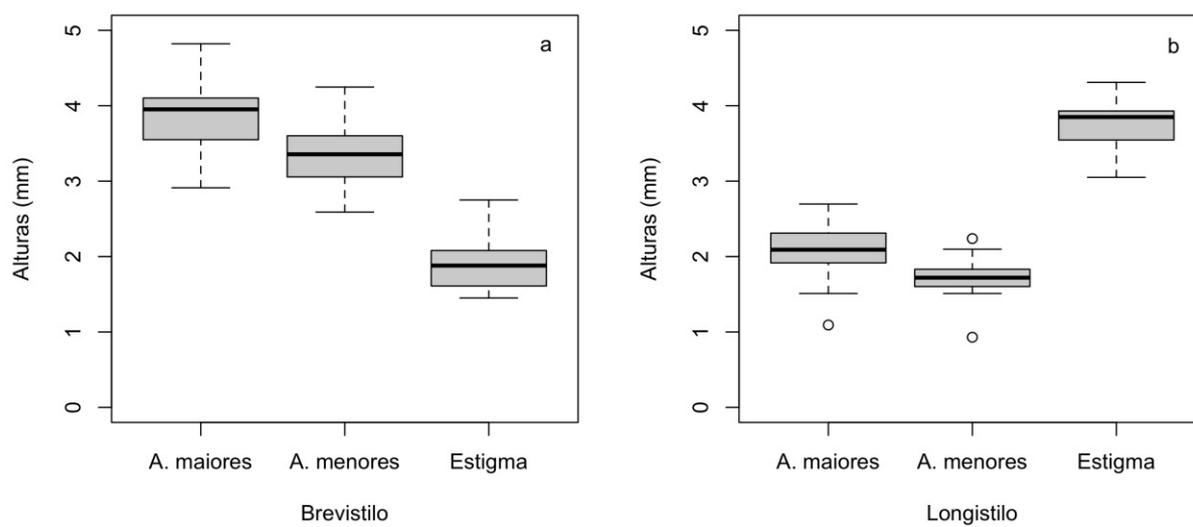


Figura 3: Altura (mm) das estruturas reprodutivas (anteras e estigmas) de flores de *V. micrantha*: a, estruturas reprodutivas das flores do morfo brevistilo; b, estruturas reprodutivas das flores do morfo longistilo. A. Maiores = anteras maiores; A. Menores = anteras menores.

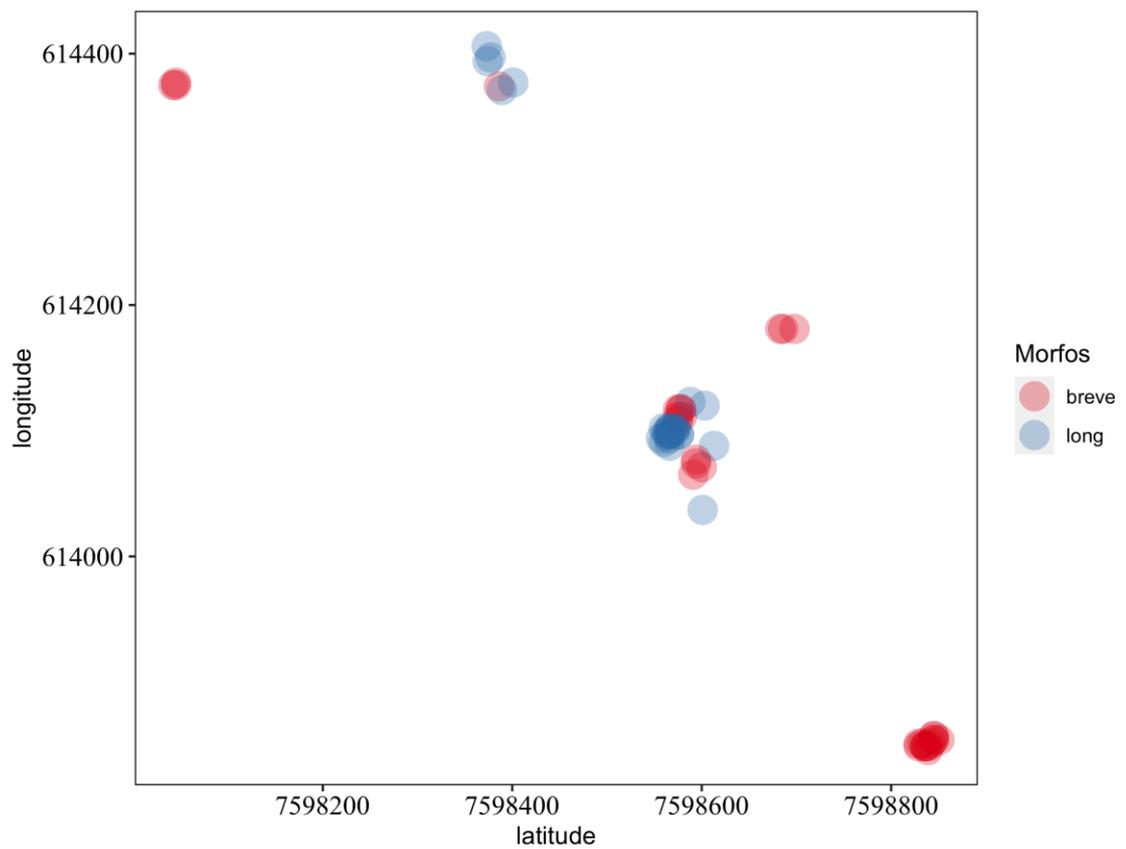


Figura 4: Distribuição espacial dos 60 indivíduos de *V. micrantha* estudados no Parque Estadual do Ibitipoca. Círculos vermelhos representam os indivíduos do morfo brevestilo ($n = 28$); círculos azuis representam os indivíduos do morfo longiestilo ($n = 32$). A intensidade das cores dos círculos indica uma grande proximidade dos indivíduos.

3.1. Estrutura floral

3.1.1 Pedicelo

O pedicelo, em secção transversal (Fig. 5a), tem contorno sinuoso. Apresenta epiderme uniestratificada com tricomas simples ou pluricelulares radiados, compostos por uma célula basal e 2-4 células de disposição oposta ou oposto-cruzada (Fig. 5b, c). Por vezes, as células radiais destacam-se da célula basal que permanece na superfície do pedicelo (Fig. 5b). Os tricomas são revestidos por cutícula estriada. As células epidérmicas possuem contorno retangular ou quadrangular e paredes espessadas, sendo revestidas por cutícula lisa. Nota-se a presença de cera epicuticular. A região cortical é composta por 6 a 8 estratos de parênquima com células arredondadas, de tamanhos variados e paredes espessadas (Fig. 5d). O estrato parenquimático subepidérmico se destaca dos demais pelas maiores dimensões das células que o compõem. O sistema vascular é formado por feixes colaterais e está disposto em anel. Cavidades e canais secretores ocorrem no parênquima vascular (Fig. 5e, f). A região medular possui células de parênquima e idioblastos de conteúdo fenólico.

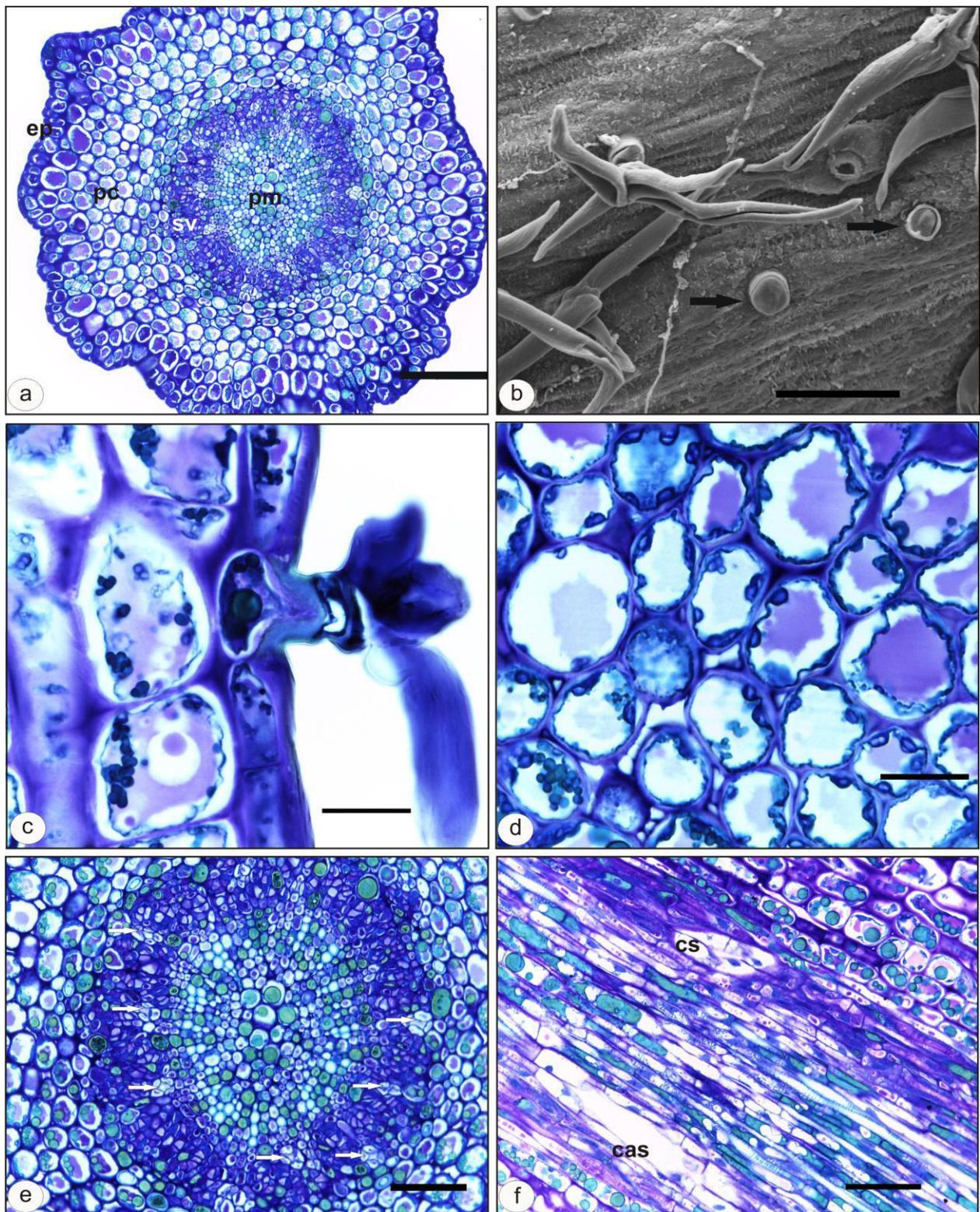


Figura 5: Pedicelo de *V. micrantha*, em vista superficial (b), secção transversal (a, d, e) e longitudinal (c, f): a, vista geral; b, tricomas pluricelulares radiados. Note as células basais (setas); c, detalhe de tricoma; d, parênquima cortical; e - f, detalhes de cavidades (setas em e; cs, em f) e canal (cas, em f) secretores. ep = epiderme; pc = parênquima cortical; sv = sistema vascular; pm = parênquima medular. Barra = 100 μ m em a; 50 μ m em b, e, f; 20 μ m em c, d.

3.1.2 Perianto

3.1.2.1 Sépalas

As sépalas são hipostomáticas. Em vista superficial da face abaxial, a epiderme apresenta células de contorno circular a poligonal, com paredes periclinais externas convexas, revestidas por cutícula estriada (Fig. 6a) (tabela 1). Nesta face, além dos estômatos (Fig. 6b), ocorrem tricomas tectores variando de simples a pluricelulares radiados. No bordo da sépala ocorrem tricomas tectores simples e longos (Fig. 6c). Os tricomas são revestidos por cutícula ornamentada (Fig. 6d).

Em secção transversal, a epiderme, uniestratificada em ambas as faces, possui células arredondadas a retangulares na face adaxial e arredondadas a tabulares, com paredes periclinais externas convexas, na face abaxial (Fig. 6e). A cutícula, na face abaxial é mais espessa quando comparada à da face adaxial (Fig. 6f). Tricomas tectores são raros na face adaxial, onde as células epidérmicas possuem paredes espessadas, especialmente as periclinais externas e aspecto secretor. Em botões florais, nota-se a presença de mucilagem no espaço entre sépalas e pétalas (Fig. 7a; tabela 1). O mesofilo é formado por 4 a 11 estratos parenquimáticos com células frouxamente dispostas. Nesta região ocorrem idioblastos drusíferos no estrato subepidérmico voltado para a face adaxial (Fig. 7b; tabela 1), além de cavidades secretoras de conteúdo lipofílico (Fig. 7c; tabela 1) e feixes vasculares também voltados para esta face. Cavidades secretoras ocorrem ainda no parênquima vascular, à semelhança do pedicelo (Fig. 7a). O número de estratos parenquimáticos diminui em direção ao bordo que, geralmente, é composto apenas por epiderme (Fig. 7d).

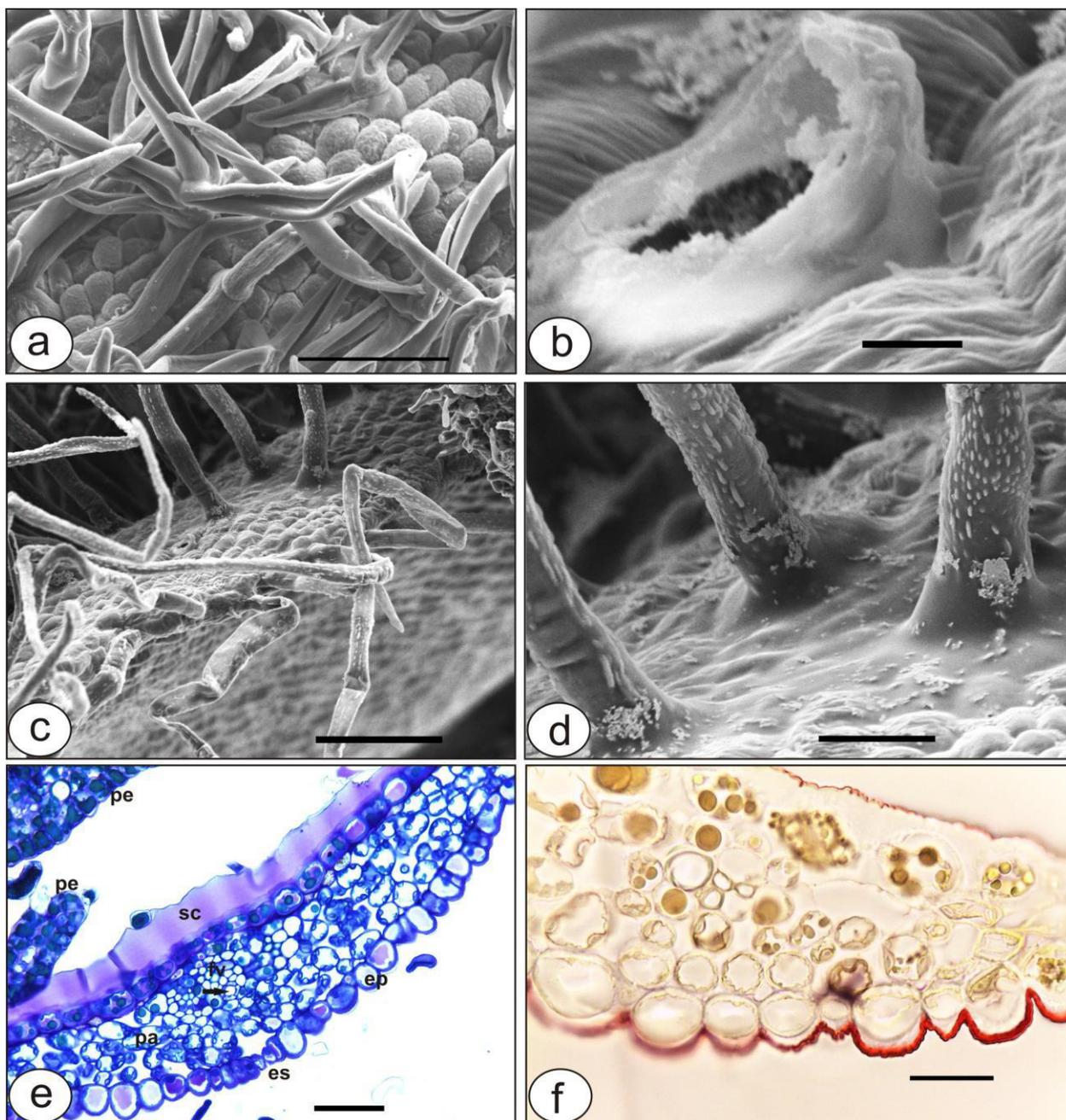


Figura 6: Sépala de *V. micrantha*, em vista superficial (MEV; a-d) e em secção transversal (e, f): a, detalhe da epiderme com tricomas tectores pluricelulares radiados na face abaxial; b, detalhe de estômato na face abaxial; c, detalhe do bordo com tricomas tectores simples e longos; d, detalhe da ornamentação da cutícula dos tricomas; e, vista geral; f, detalhe da cutícula (reação ao Sudan IV). ep = epiderme; es = estômato; fv = feixe vascular; pa = parênquima; pe = pétala; sc = secreção. Barra = 100µm em c; 50µm em a, e; 25µm em d; 20µm em f; 5µm em b.

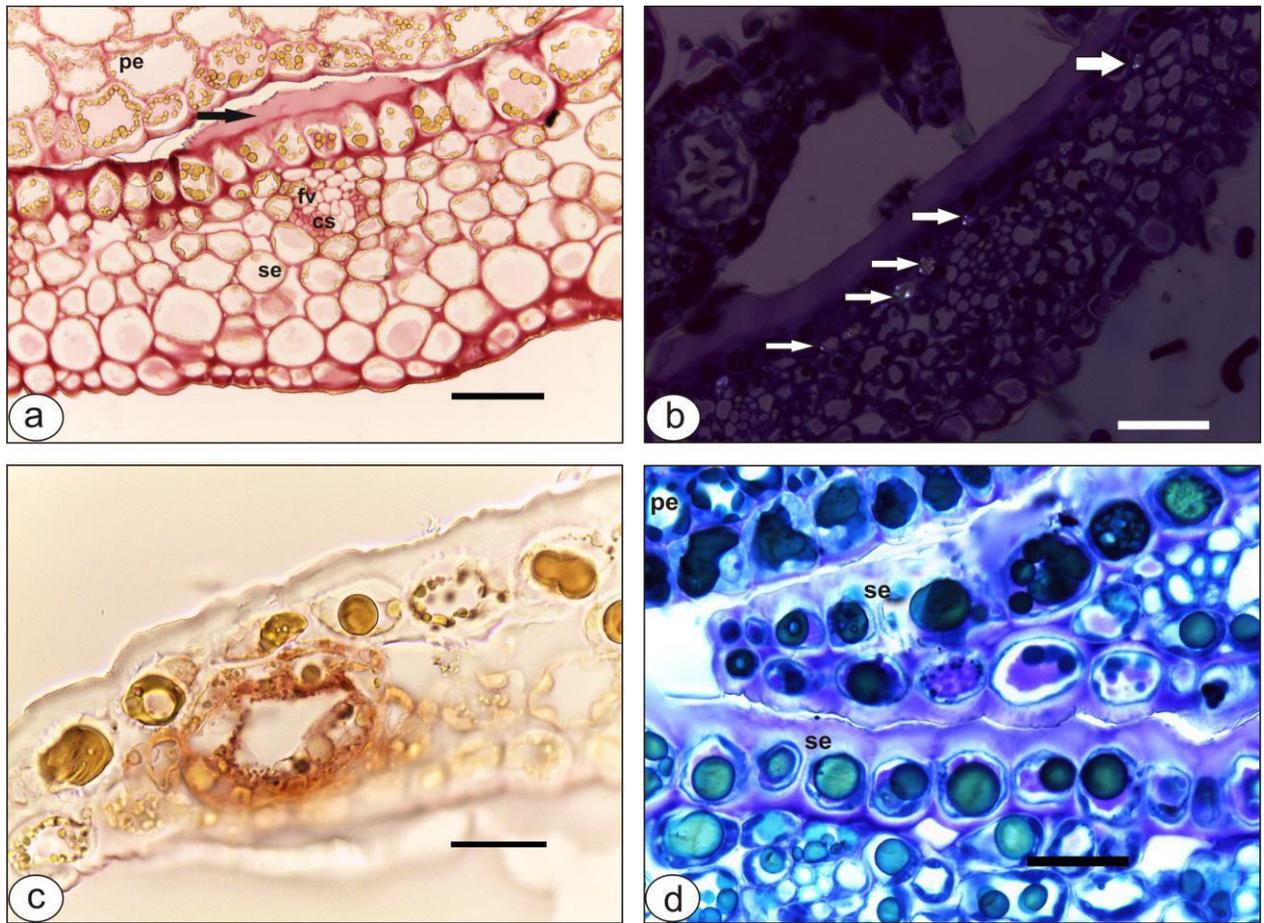


Figura 7: Sépala de *V. micrantha*, em secção transversal: a, vista geral. Note a presença de mucilagem (reação ao vermelho de rutênio; seta) entre a face adaxial da sépala e a face abaxial da pétala adjacente; b, detalhe de drusas, vistas sob luz polarizada (setas), no estrato subepidérmico voltado para a face adaxial; c, detalhe de cavidade secretora (reação ao Sudan IV); d, detalhe do bordo. cs = cavidade secretora; fv = feixe vascular; pe = pétala; se = sépala. Barra = 50 μ m em a, b; 20 μ m em c, d.

3.1.2.2 Pétalas

Em vista frontal, a superfície da face abaxial da pétala mostra epiderme com células de contorno retangular a poligonal, revestidas por cutícula estriada, exceto em determinadas regiões em que agrupamentos de células são revestidos por cutícula lisa (Fig. 8a). No bordo ocorrem longos tricomas tectores articulados na base e revestidos por cutícula ornamentada (Fig. 8b). A epiderme na face adaxial apresenta células de contorno arredondado a retangular com inúmeros tricomas tectores simples, revestidos por cutícula ornamentada (Fig. 8c). Nesta face notam-se cicatrizes de tricomas que caíram (Fig. 8d).

Em secção transversal (Fig. 8e), a epiderme é uniestratificada em ambas as faces, com células arredondadas, quadrangulares ou retangulares, revestidas por cutícula delgada (Fig. 8f, g; tabela 1). Os tricomas, na face adaxial são simples, formados por uma ou mais células e possuem conteúdo fenólico (Fig. 9a; tabela 1). Tricomas são raros na face abaxial. As células epidérmicas, em ambas as faces, são ricas em compostos fenólicos (tabela 1). O mesofilo é formado por 4 a 7 estratos parenquimáticos contendo idioblastos de conteúdo fenólico ou drusífero (tabela 1). Nele estão contidos feixes vasculares e cavidades secretoras de origem lisígena (Fig. 9b - e). Tais cavidades possuem conteúdo lipofílico (Fig. 9f, g; tabela 1) e, quando plenamente formadas, ocupam toda a espessura do mesofilo, posicionando-se entre a epiderme de ambas as faces. O número de estratos parenquimáticos diminui em direção ao bordo, constituído apenas por epiderme ou por epiderme e 1 a 2 estratos de parênquima. É comum a presença de cavidade secretora próxima ao bordo.

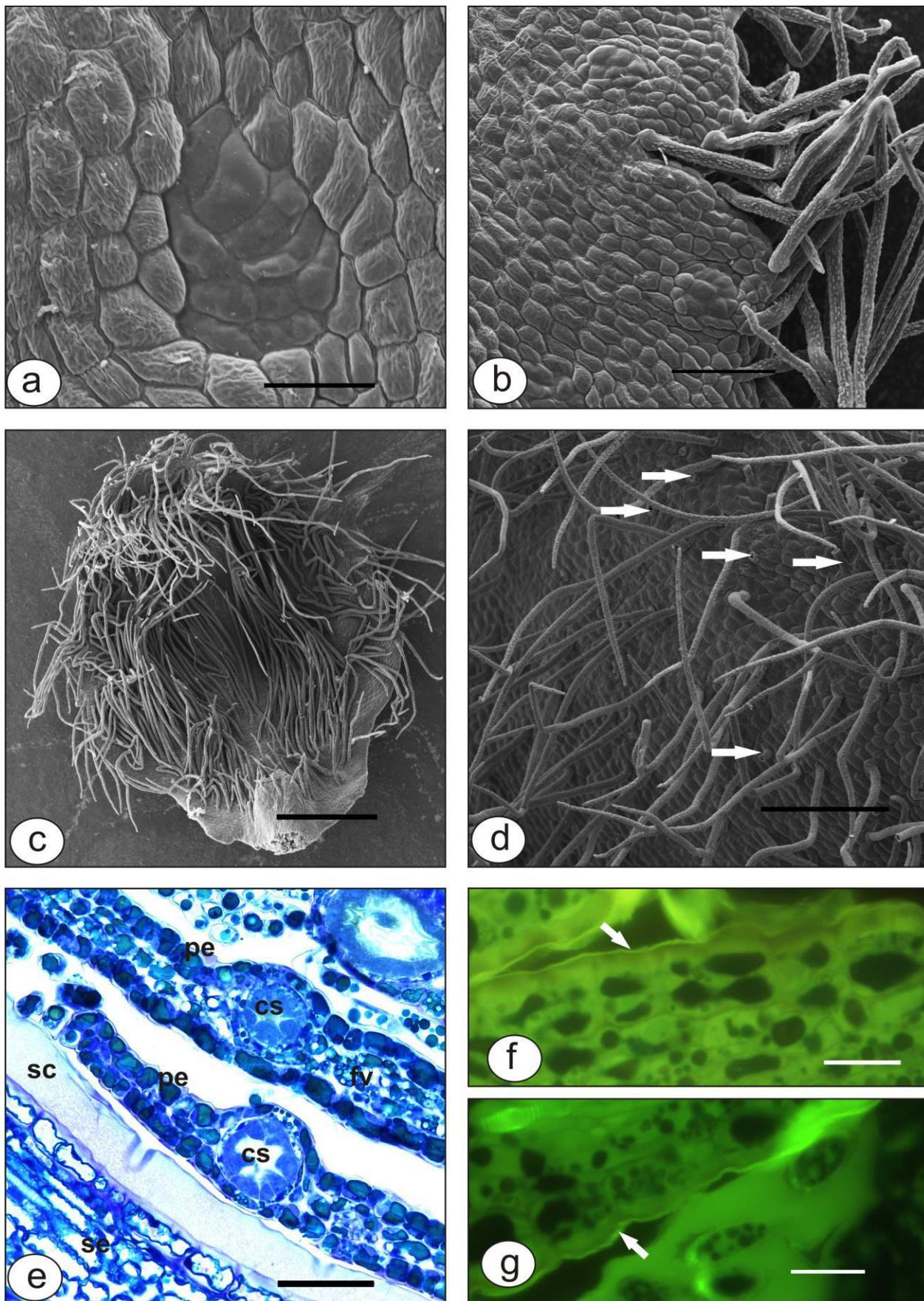


Figura 8: Pétala de *V. micrantha*, em vista superficial (MEV; a - d), em secção transversal (e) e em secção longitudinal (f, g): a, epiderme na face abaxial; b, detalhe do bordo; c, face adaxial em vista geral; d, detalhe da face adaxial. Note as cicatrizes deixadas por tricomas (setas); e, vista geral; f - g, cutícula (reação à Auramina O) na face adaxial (f, seta) e na face abaxial (g, seta). cs = cavidade secretora; fv = feixe vascular; pe = pétala; sc = secreção; se = sépala. Barra = 500µm em c; 250µm em d; 100µm em b; 50µm em a, e; 20µm em f, g.

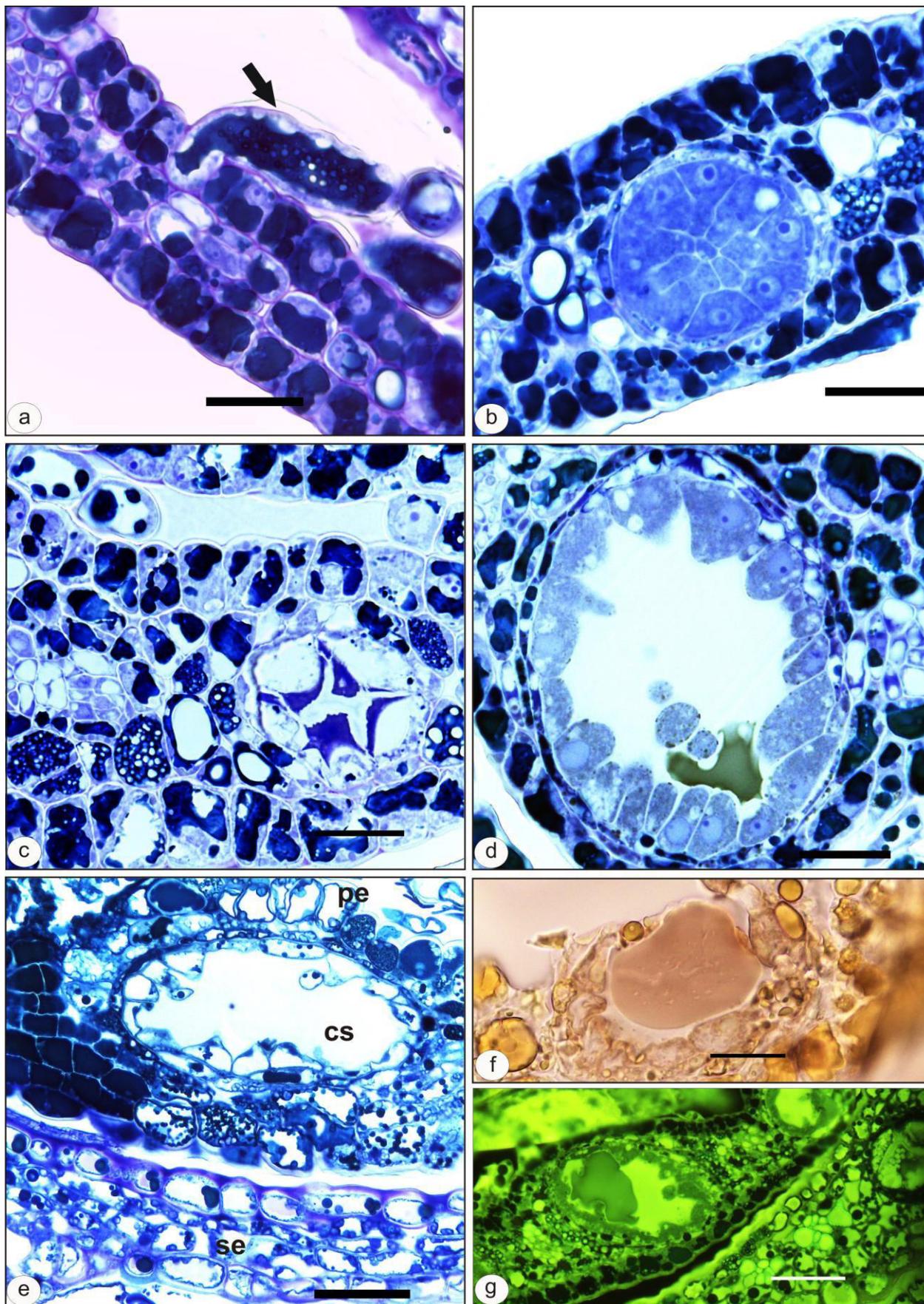


Figura 9: Pétala de *V. micrantha*, em secção transversal: a, detalhe de tricoma com conteúdo fenólico (seta); b - e, detalhes de cavidades secretoras em estádios de desenvolvimento sucessivos, desde o início da diferenciação (em b) até a fase pós-secretora (em e); f - g, conteúdo lipofílico de cavidades secretoras: reação ao Sudan IV (f) e à Auramina O (g). cs = cavidade secretora; pe = pétala; se = sépala. Barra = 50µm em e, g; 20µm em a - d, f.

3.1.3 Nectário

O nectário é composto por cinco glândulas alternipétalas (Fig. 10a). Cada uma das glândulas, em secção longitudinal, possui epiderme uniestratificada, com células de contorno quadrangular e longos tricomas tectores unicelulares (Fig. 10b). Células epidérmicas e tricomas apresentam conteúdo fenólico (Fig. 10c; tabela1). O parênquima nectarífero constitui-se de células com paredes delgadas, citoplasma denso, núcleo conspícuo e vacuoma composto por pequenos vacúolos (Fig. 10d). As células parenquimáticas reagiram positivamente para a presença de polissacarídeos (Fig. 10e; tabela 1). Na porção parenquimática ocorrem elementos de floema (Fig. 10f) e idioblastos contendo compostos fenólicos (Fig. 10c; tabela 1).

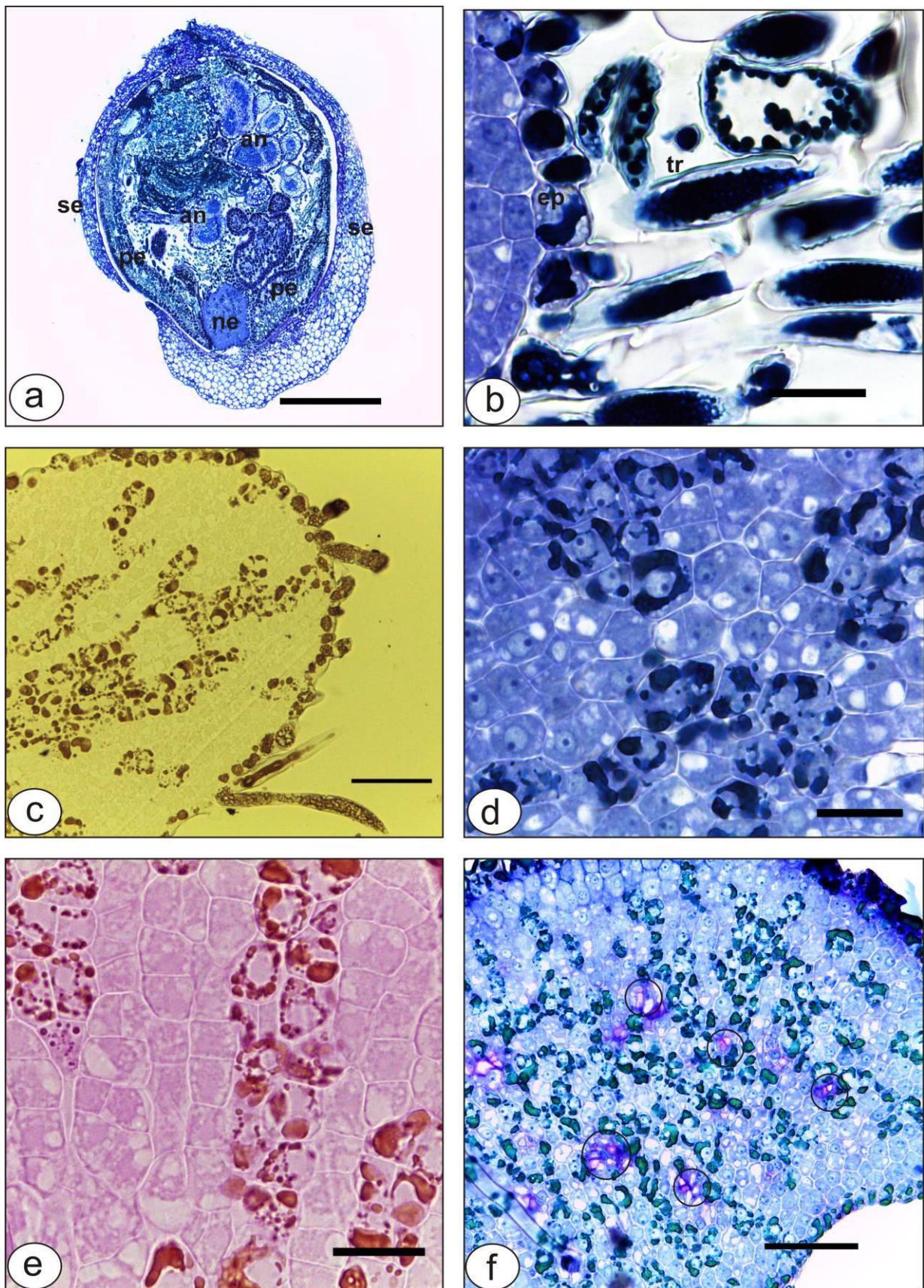


Figura 10: Nectário de *V. micrantha*, em seções oblíqua (a), longitudinais (b - e) e transversal (f): a, nectário posicionado entre pétalas, em botão floral; b, detalhe da epiderme e de tricomas tectores; c, presença de compostos fenólicos em células da epiderme, do parênquima e nos tricomas (reação ao dicromato de potássio); d, detalhe do parênquima nectarífero; e, detalhe da reação positiva (PAS) para polissacarídeos em células do parênquima nectarífero; f, elementos de floema (círculos). an = antera; ep = epiderme; ne = nectário; pe = pétala; se = sépala; tr = tricoma. Barra = 500µm em a; 50µm em c, f; 20µm em b, d, e.

3.1.4 Androceu

O androceu, em ambos os morfos, é formado por cinco fascículos estaminais, cada um deles com três estames, raramente dois ou quatro. Os estames são levemente deflexos e se projetam para fora do centro da flor. As anteras são dorsifixas, bitecas, tetraesporangiadas e rimosas. Em botões florais jovens (0,76 - 1,23 mm), nota-se a presença de secreção no entorno das anteras (Fig. 11a).

Em vista superficial, tanto a porção comum aos filetes quanto cada um deles individualmente, apresenta células epidérmicas de contorno retangular a poligonal, sendo alongadas axialmente e revestidas por cutícula estriada (Fig. 11b; tabela 1). Nas anteras, a epiderme apresenta células de contorno poligonal, com paredes periclinais externas convexas e revestidas por cutícula igualmente estriada (Fig. 11c; tabela 1). Raros tricomas, simples ou pluricelulares radiados, ocorrem ao longo destas estruturas.

Em secção transversal, a porção comum aos filetes (Fig. 11d) apresenta epiderme uniestratificada, com células de contorno quadrangular a retangular com conteúdo fenólico (tabela 1), especialmente aquelas voltadas para a face abaxial e tricomas. Seguem-se cerca de cinco estratos parenquimáticos contendo idioblastos drusíferos ou com conteúdo fenólico (tabela 1), além de três feixes vasculares localizados na porção mediana e separados por um a dois estratos parenquimáticos. Filetes individualizados possuem contorno circular, epiderme uniestratificada com células de contorno quadrangular e 7 a 10 estratos parenquimáticos onde se encontram idioblastos de conteúdo fenólico (tabela 1) e um feixe vascular centralmente posicionado. A parede da antera madura (Fig. 11e) possui epiderme uniestratificada, cujas células apresentam contorno elipsoide e conteúdo fenólico (tabela 1), sendo revestidas por cutícula estriada. Adjacente à epiderme, segue-se um estrato de endotécio com espessamento em barra e restos de tapete. Os grãos de pólen são triaperturados e liberados em mônades, na fase de micrósporos ou microgametófitos bicelularizados. No conectivo parenquimatoso encontram-se idioblastos drusíferos (tabela 1), feixe vascular e duas grandes cavidades secretoras subepidérmicas com conteúdo lipofílico (11f; tabela 1).

Em botões florais de 0,76mm, as lojas da antera (Fig. 12a) possuem epiderme uniestratificada e tecido arqueosporico. O septo interlocular é parenquimático e nota-se o início da formação de duas cavidades secretoras subepidérmicas na região do conectivo, feixe vascular posicionado entre as cavidades e idioblastos drusíferos e de conteúdo fenólico.

Em botões florais de 0,97 - 1,07 mm, as lojas da antera (Fig. 12b) apresentam, além de epiderme, dois estratos indiferenciados, tapete secretor binucleado e células mãe de

micrósporos com citoplasma denso, núcleo e nucléolo conspícuos e parede de calose evidente. No conectivo, as duas cavidades subepidérmicas encontram-se plenamente formadas, permanecem os idioblastos drusíferos e de conteúdo fenólico e o feixe vascular. Botões florais de 1,07mm apresentam células mãe de micrósporos e díades na mesma loja (Fig. 12c).

Em botões florais de 1,12mm as lojas da antera (Fig. 12d) apresentam epiderme, estrato subepidérmico íntegro, camada média colapsada, tapete secretor e tetrades tetraédricas, resultantes de microsporogênese simultânea. Botões florais de 1,23mm apresentam, simultaneamente, lojas com tetrades com parede formada entre os micrósporos e lojas sem a formação de parede entre os micrósporos (Fig. 12e).

Em botões florais de 1,28 - 1,44 mm as lojas da antera apresentam epiderme uniestratificada, estrato de endotécio com espessamento em barra, camada média colapsada, tapete secretor em processo de degeneração e micrósporos livres, ricos em grãos de amido (Fig. 12f; tabela 1).

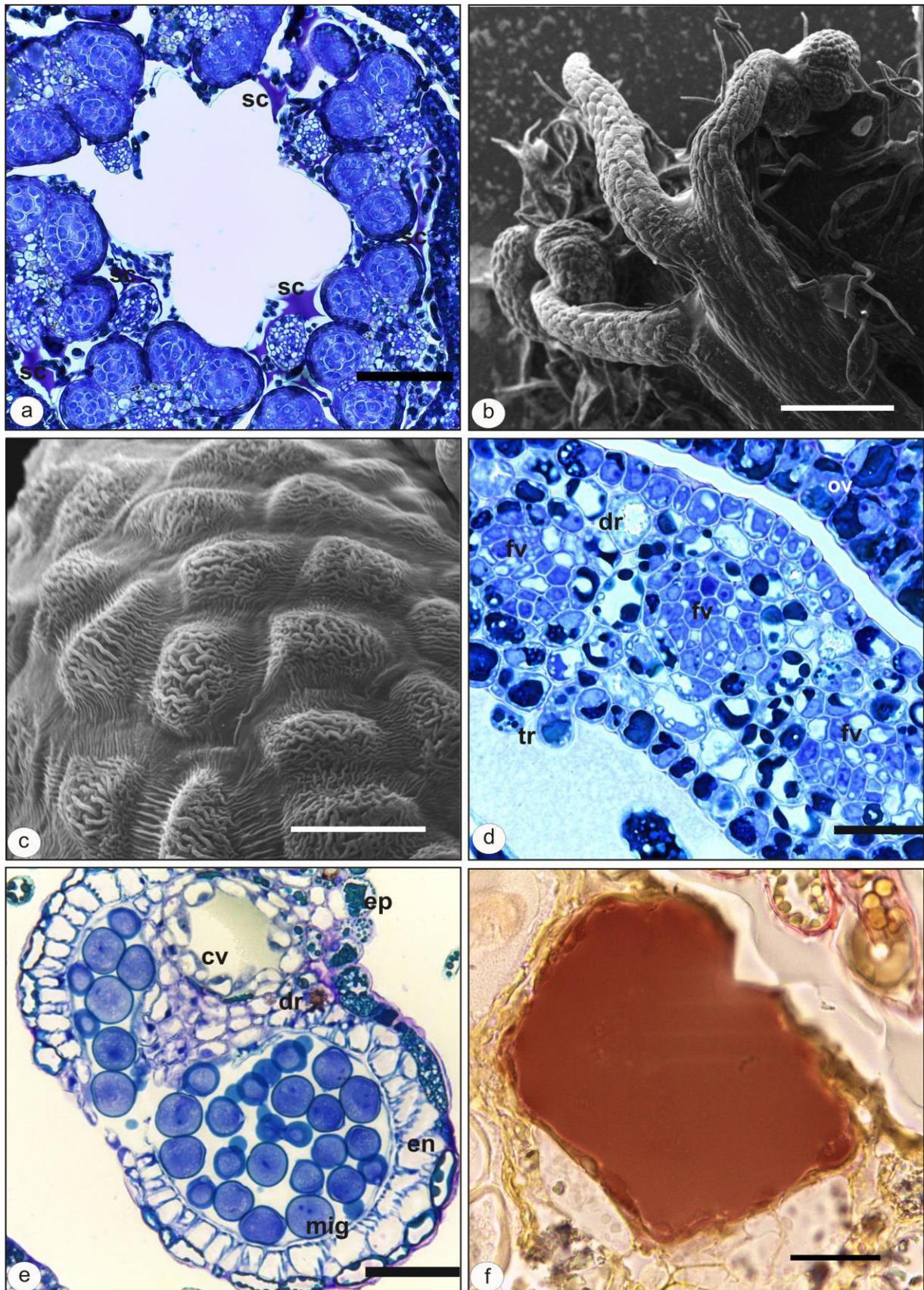


Figura 11: Androceu de *V. micrantha*, em vista superficial (MEV: b, c), em secções transversais (a, d, e) e oblíqua (f): a, detalhe de secreção no entorno de anteras jovens; b, detalhe da epiderme de fascículo estaminal; c, detalhe da epiderme da antera; d, porção comum aos filetes; e, detalhe da parede da antera madura; f, detalhe de cavidade secretora com conteúdo lipofílico (reação ao Sudan IV). dr = idioblasto drusífero; en = endotécio; fv = feixe vascular; mig = microgametófito; ov = ovário; sc = secreção; tr = tricoma. Barra = 250µm em b; 50µm em a, e; 20µm em c, d, f.

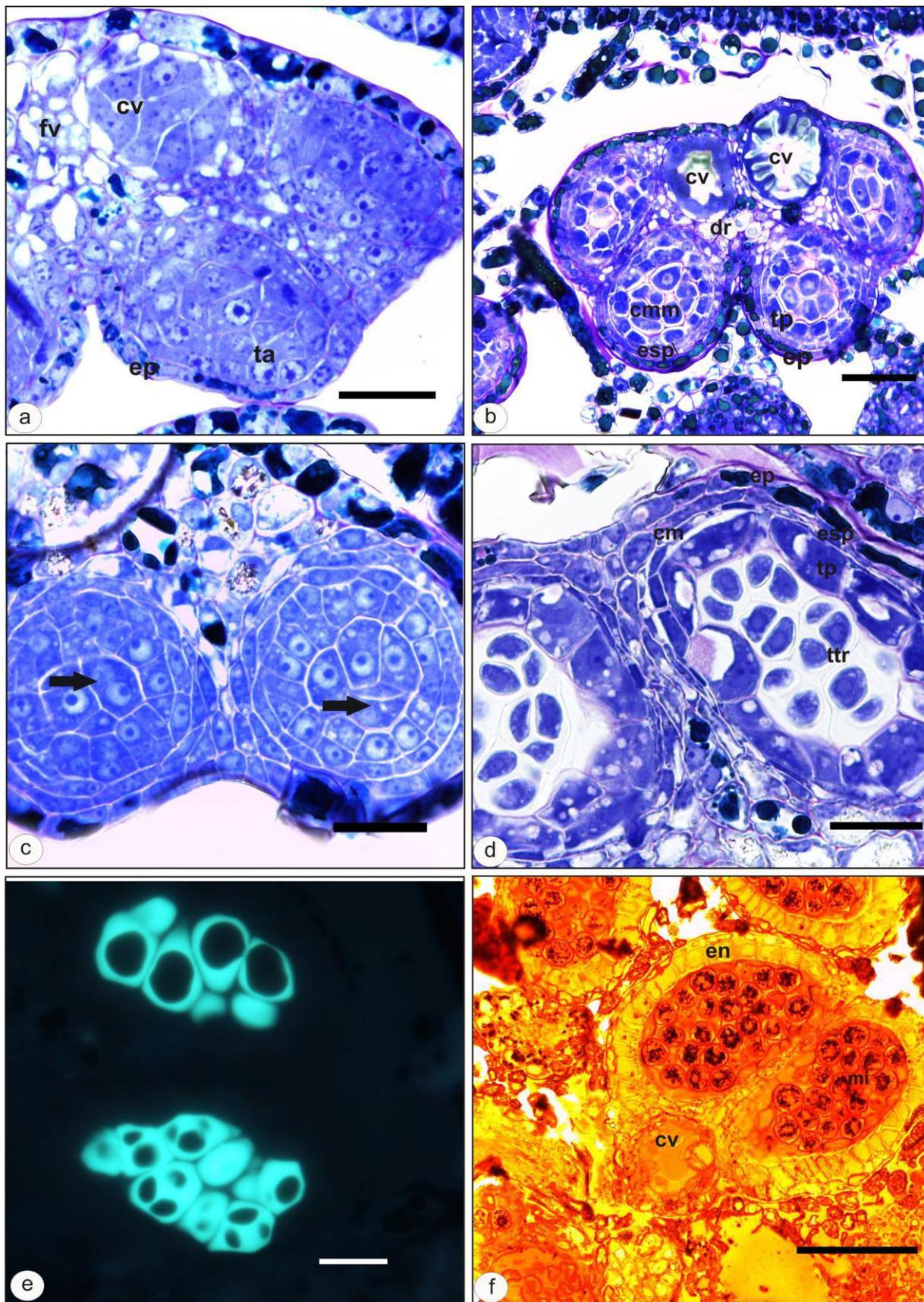


Figura 12: Antera de *V. micrantha*, em secções transversais (a-e) e oblíqua (f): a, em botão de 0,76mm; b, em botão de 0,97mm; c, em botão de 1,07mm. Note a presença de díades (setas); d, em botão de 1,12mm; e, em botão de 1,23mm, evidenciando parede de calose, vista sob luz UV; f, em botão de 1,44mm (reação ao Lugol). cm = camada média; cmm = célula-mãe de micrósporo; cv = cavidade secretora; dr = idioblasto drusífero; en = endotécio; ep = epiderme; esp = estrato subepidérmico; fv = feixe vascular; mi = micrósporo; ta = tecido arqueosporíco; tp = tapete; ttr = tétrede de micrósporos. Barra = 50µm em f; 20µm em b, c, d, e; 10µm em a.

3.1.5 Gineceu

O gineceu é súpero, sincárpico, pentacarpelar (raro hexacarpelar) em ambos os morfos. Em botões florais jovens, nota-se a presença de secreção no entorno do gineceu bem como nos lóculos ovarianos (Fig. 13a).

O ovário é pentalocular (raro hexalocular), uniovulado por lóculo. Em secção longitudinal, a parede do ovário (Fig. 13b) apresenta epiderme externa uniestratificada, com células de contorno retangular, alongadas axialmente, com paredes periclinais externas espessas revestidas por cutícula delgada (Fig. 13c; tabela 1), citoplasma denso e núcleo conspícuo e centralizado; apresenta estômatos e tricomas tectores com conteúdo fenólico esparsos. O mesofilo (Fig. 13d) é parenquimático e contém feixes vasculares, idioblastos drusíferos e de conteúdo fenólico e cavidades secretoras com conteúdo lipofílico (Fig. 13e; tabela 1), estas últimas voltadas para a face abaxial. A epiderme interna é uniestratificada, apresentando células semelhantes àquelas da epiderme externa, com menores dimensões. O compito (Fig. 13g) e os lóculos ovarianos encontram-se repletos de mucilagem (Fig. 13f; tabela 1). A placentação é axial (Fig. 14a). Os óvulos são anátropos, bitegmentados e com endotélio (Fig. 14b). O tegumento interno é mais curto e mais espesso que o externo e ambos os tegumentos formam a micrópila (Fig. 14c). As células da epiderme externa do tegumento externo apresentam conteúdo fenólico. Em botões florais com 1,16 - 1,28 mm observa-se a célula mãe do megásporo, envolta por parede de calose delgada, com citoplasma denso e núcleo e nucléolo conspícuos, posicionada imediatamente abaixo da epiderme nucelar, caracterizando o óvulo como tenuinucelado (Fig. 14d). Ainda em botões florais dentro deste intervalo (1,16 - 1,28 mm) podem ser observadas díades (Fig. 14e). O saco embrionário maduro é formado por duas sinérgides, oosfera e célula média (Fig. 14f). As antípodas não foram evidenciadas. Observa-se a polarização das duas sinérgides, com o vacúolo voltado para o polo calazal. A oosfera apresenta núcleo conspícuo e vacúolo voltado para o polo micropilar. No vacúolo da célula média nota-se a presença de mucilagem (Fig. 13f; tabela 1).

Os cinco estiletos, nas flores brevistilas, são deflexos, projetando-se para fora do centro da flor, em alternância com os fascículos estaminais (Fig. 15a). Nas flores longistilas eles são eretos e levemente retorcidos distalmente. Em vista superficial (Fig. 15b), apresentam epiderme com células de contorno retangular e alongadas axialmente, revestidas por cutícula estriada. Em secção longitudinal (Fig. 15c), a epiderme, em ambas as faces, mostra células de contorno quadrangular a retangular. O mesofilo é parenquimático, com feixes vasculares, idioblastos drusíferos e de conteúdo fenólico (tabela 1). O tecido transmissor ocupa a região

central, apresenta células alongadas, com citoplasma denso e é circundado por feixes vasculares.

Os estigmas, em vista superficial são papilosos (Fig. 15d) e se mostram recobertos por secreção. Na superfície estigmática podem ser observados grãos de pólen, alguns germinando (Fig. 15e). Em secção longitudinal, o estigma apresenta epiderme composta por papilas e mesofilo parenquimático, ambos com células de aspecto secretor (Fig. 15f).

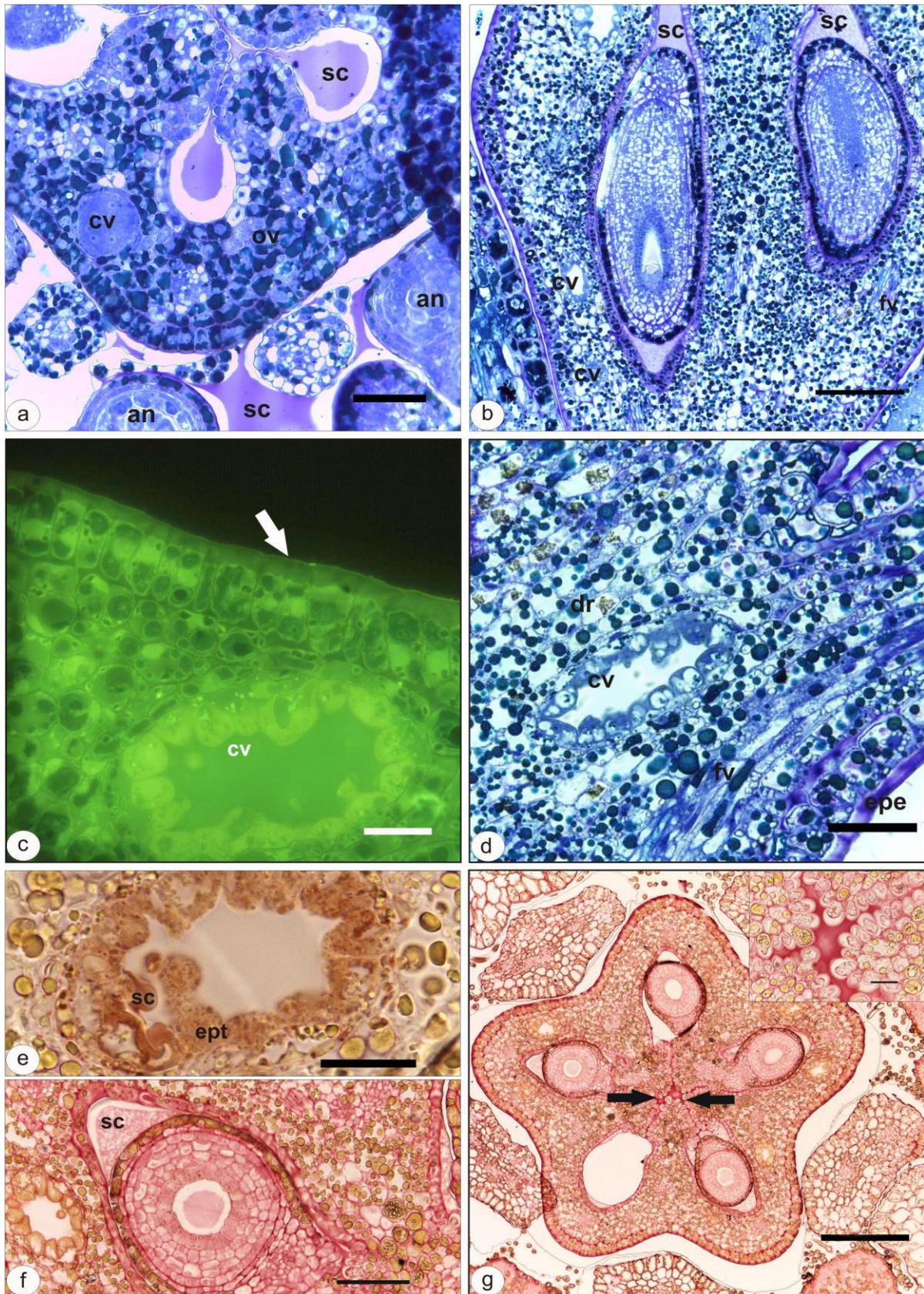


Figura 13: Gineceu de *V. micrantha*, em secções transversais (a, c, e - g) e oblíqua (b, d): a, ovário, em botão de 0,97mm, evidenciando a presença de secreção; b, d, detalhes da parede do ovário; c, detalhe da cutícula na superfície externa do ovário (seta; reação à Auramina O); e, detalhe de cavidade da parede ovariana (reação ao Sudam IV); f, detalhe de mucilagem no lóculo ovariano (reação ao Vermelho de rutênio); g, base do ovário mostrando o compito repleto de mucilagem (setas e detalhe). an = antera; cv = cavidade secretora; dr = idioblasto drusífero; epe = epiderme externa; ept = epitélio secretor; ov = ovário; fv = feixe vascular; sc = secreção. Barra = 200µm em g; 100µm em b; 50µm em d, f; 20µm em a, c, e, g.

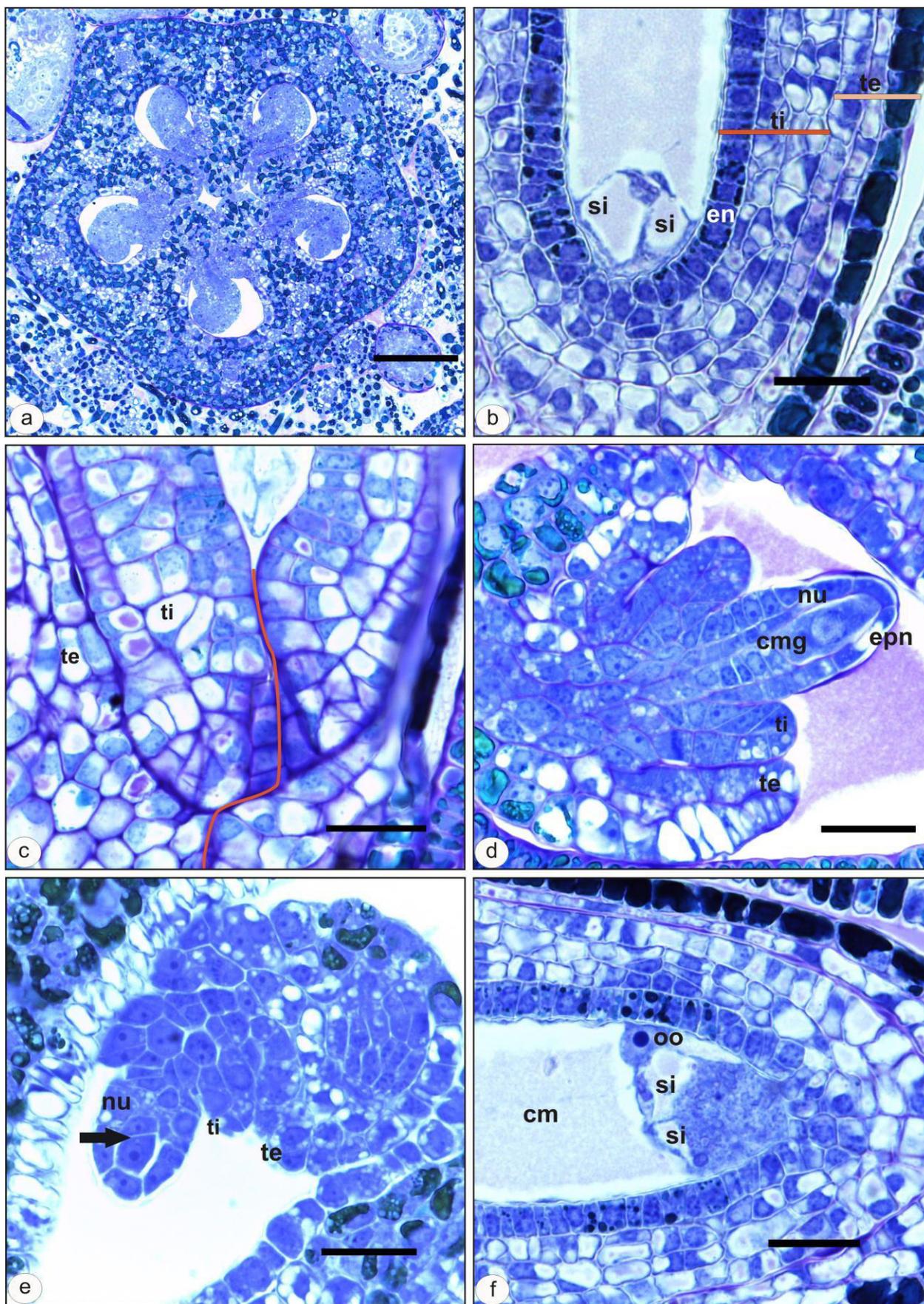


Figura 14: Gineceu de *V. micrantha*, em secções longitudinais (b - f) e transversal (a): a, detalhe da placentação em botão de 1,03mm; b, detalhe dos tegumentos do óvulo; c, detalhe da micrópila (destaque); d, detalhe de óvulo jovem evidenciando a célula mãe do megásporo; e, detalhe de óvulo jovem evidenciando díade (seta); f, detalhe do saco embrionário. cm = célula média; cmg = célula-mãe de megásporo; en = endotélio; epn = epiderme nucelar; nu = nucelo; oo = oosfera; si = sinérgide; te = tegumento externo; ti = tegumento interno. Barra = 50µm em a; 20µm em b - f.

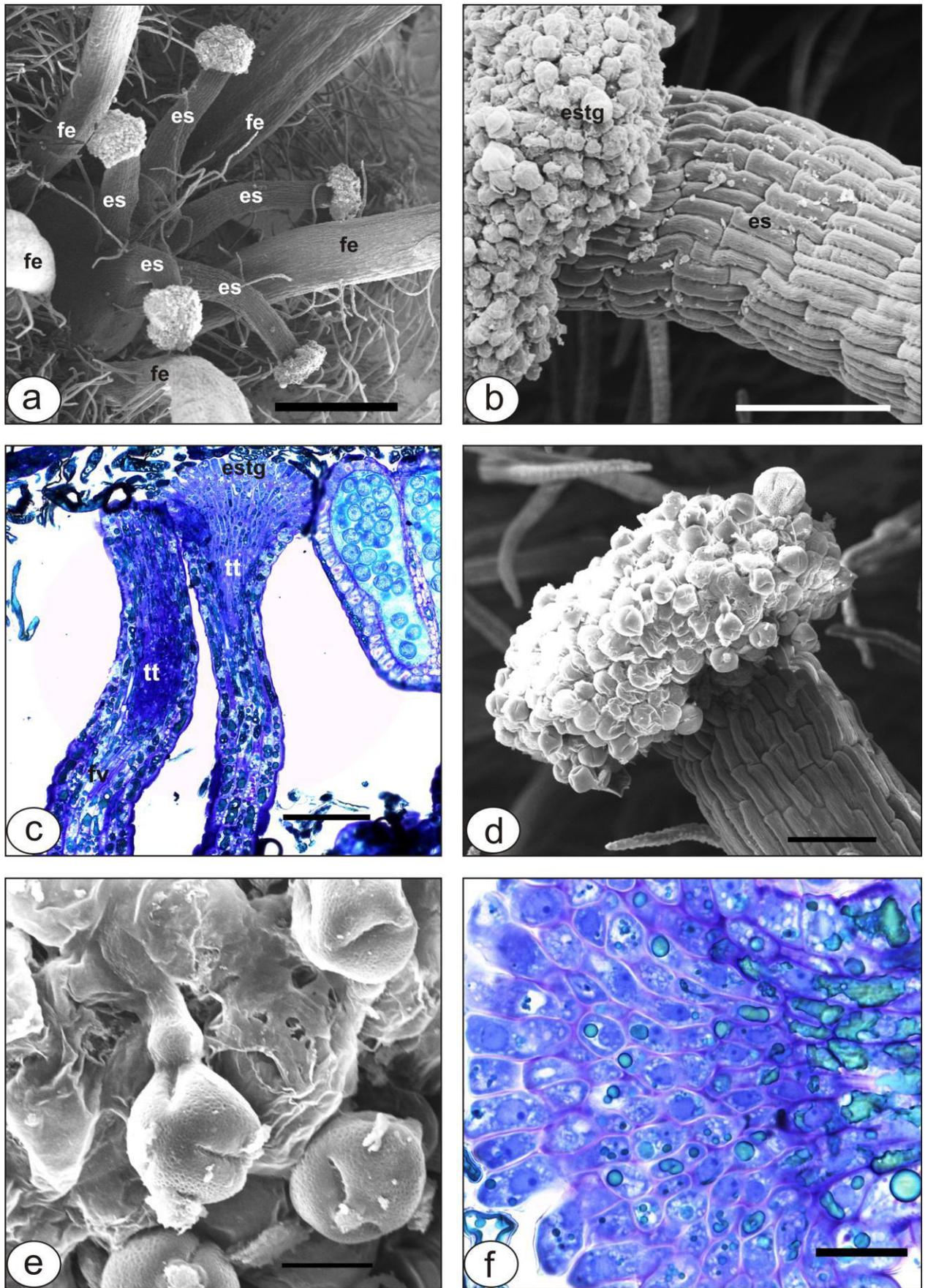


Figura 15: Gineceu de *V. micrantha*, em secções oblíquas (c, f) e em vista superficial (MEV, a, b, d, e): a, disposição dos estiletos em flor brevistila; b, detalhe da epiderme do estilete; c, estiletos; d, estigma; e, detalhe de d, evidenciando grão de pólen germinando e secreção estigmática; f, estigma. es = estilete; estg = estigma; fe = fascículo estaminal; fv = feixe vascular; tt = tecido transmissor. Barra = 500µm em a; 100µm em b, c; 50µm em d; 20µm em f; 10µm em e.

Tabela 1: Resultados dos testes histoquímicos realizados em botões florais e flores de *Vismia micrantha* (+ = positivo; - = negativo; * = não realizado)

| Reagente; substância; cor | Estrutura | | | | |
|---|---|---|--|---|---|
| | Sépala | Pétala | Nectário | Androceu | Gineceu |
| Sudan IV; compostos lipofílicos; castanho | +; cavidades secretoras no parênquima | +; cavidades secretoras no parênquima | - | +; cavidades secretoras no conectivo das anteras | +; cavidades secretoras no parênquima ovariano |
| Lugol; amido; violeta | - | - | - | +; micrósporos | - |
| Dicromato de potássio; compostos fenólicos; marrom | +; tricomas, epiderme e parênquima | +; tricomas, epiderme e parênquima | +; tricomas, epiderme e parênquima | +; epiderme e parênquima do filete; epiderme da antera e parênquima do conectivo | +; epiderme e parênquima do ovário e do estilete; parênquima do estigma |
| Reagente de Fehling; açúcares; marrom | * | * | - | * | * |
| Vermelho de rutênio; mucilagem; rosa a púrpura | +; epiderme na face adaxial | * | * | * | +; estigma, tecido transmissor, compito, lóculo ovariano e vacúolo da célula média. |
| Azul de anilina; calose; azul | * | * | * | +; célula mãe de micrósporos, díade e tétrade | +; célula mãe de megásporos e díade |
| Ácido periódico + reagente de Schiff (PAS); polissacarídeo; magenta | - | - | +; parênquima | * | +; epiderme externa do ovário |
| Solubilidade em ácido clorídrico; cristais de oxalato de cálcio | + | + | - | + | + |
| Auramina O; cutina; verde | + | + | * | + | +; epiderme externa do ovário |

4. Discussão

Vismia micrantha é uma espécie heterostílica do tipo distílica. Em sistemas heterostílicos distílicos, uma variação peculiar ocorre quando o gineceu e o androceu variam não apenas em altura, mas também na posição que ocupam lateralmente na flor, criando um sistema tridimensional (heterostilia 3D) (Rech *et al.* 2020). Ao estudarmos a morfologia floral em *V. micrantha*, observamos que, em flores brevistilas, os estiletes projetam-se para fora do centro da flor, alternando-se aos fascículos estaminais; do mesmo modo, em flores longistilas, os estames projetam-se para fora do centro da flor, alternando-se aos estiletes, o que nos leva a supor que a espécie apresente heterostilia 3D. Tal reciprocidade tridimensional, pensada em bases morfológicas, aumentaria a eficiência na polinização entre os morfos compatíveis, sendo idealmente adequada a espécies distílicas com flores abertas ou campanuladas (Armbruster *et al.* 2006). No entanto, estudos específicos se fazem necessários de modo a testar essa interpretação.

Ao analisarmos o grau de reciprocidade dos órgãos altos e baixos entre os distintos morfos florais de *V. micrantha*, observamos que a espécie apresenta uma maior inacurácia dos órgãos altos do que dos baixos. Embora a reciprocidade se baseie na noção de que os órgãos compatíveis dos distintos morfos estão na mesma altura, o presente estudo, somado a tantos outros, tem mostrado que espécies heterostílicas podem exibir desvios desse “alvo ideal” (Pailler & Thompson 1997; Thompson & Dommée 2000; Faivre & McDade 2001; Pérez *et al.* 2004; Ferrero *et al.* 2009, 2011a, b; Keller *et al.* 2012; Sá *et al.* 2016; Armbruster *et al.* 2017; Matias *et al.* 2020). Além disso, estudos recentes observaram maior imprecisão dos órgãos altos do que dos baixos (Armbruster *et al.* 2017; Jacquemyn *et al.* 2018; Brys & Jacquemyn 2019; Matias *et al.* 2020). Esse “desvio” faz com que os vegetais tenham uma menor taxa de polinização disassortativa, ou seja, quando o grão de pólen de um morfo é depositado sobre o estigma do seu morfo oposto compatível, e conseqüentemente, redução na produção de frutos e sementes o que pode levar a quebra do polimorfismo floral (Keller *et al.* 2014; Zhou *et al.* 2015; Jacquemyn *et al.* 2018; Wu *et al.* 2018; Brys & Jacquemyn 2019), principalmente se somado a inacurácia houver falhas no sistema de incompatibilidade heteromórfica (Barrett & Shore 2008). Estudos futuros que visem avaliar as taxas de polinização cruzada e o sistema de autoincompatibilidade na população serão importantes de modo a avaliar o quanto a imprecisão poderia estar afetando o sucesso reprodutivo da espécie.

Em ambos os morfos de *V. micrantha*, o estigma possui maior reciprocidade com as anteras compatíveis de níveis mais baixos (numericamente estão em dobro se comparado as mais altas). *Erythroxylum deciduum* A.St.-Hil. apresenta anteras de dois níveis (altas e baixas) apenas no morfo longistilo e, assim como em *V. micrantha*, o estigma tem maior acurácia com as anteras mais baixas (Matias *et al.* 2020). De acordo com Thompson *et al.* (2012), a comparação dos valores de imprecisão obtidos sem distinção entre os níveis de antera (altas e baixas) em um mesmo morfo, assim como aqueles estimados com distinção, podem ser úteis para se entender o papel dessa variação na transferência do pólen disassortativo. Levando se em consideração o exposto, estudos que visem avaliar a biologia floral de *V. micrantha* (interação planta X polinizador, se há uma baixa visitação, se a polinização é eficiente e se há uma limitação no pólen ofertado) são importantes para se entender qual seria a relevância dessa variação (anteras altas e baixas em um mesmo morfo) no sucesso reprodutivo da espécie.

Evolutivamente, o tempo necessário para alcançar o grau de igualdade entre os morfos (1:1) é maior nas populações tristílicas, quando comparadas às distílicas (Barrett 2019). Tal diferença temporal se deve aos diferentes padrões de herança (Barrett 2019) possíveis, tais quais deriva gênica (Husband & Barrett 1992), variação nos padrões de cruzamento entre morfos (Barrett *et al.* 2004; Ferrero *et al.* 2017), autofecundação e depressão por endogamia (Weber *et al.* 2013), fertilidade feminina (Brys *et al.* 2008) e fertilidade masculina (Barrett *et al.* 1983; Hodgins & Barrett 2008; Cunha & Barrett 2019). No Parque Estadual do Ibitipoca, a população distílica de *V. micrantha* possui proporções equivalentes (1:1) entre indivíduos longistilos e brevistilos. Populações em equilíbrio [i.e. com proporções iguais entre os morfos (1:1)] são esperadas quando há uma predominância do cruzamento disassortativo (Barrett 2019), ou seja, entre morfos compatíveis (Darwin 1877 *apud* Barret 2019, pg. 1052). Como a população investigada de *V. micrantha* apresenta proporções iguais (1:1), acreditamos que a espécie apresente predominância do cruzamento disassortativo no Parque Estadual do Ibitipoca.

As inflorescências de *V. micrantha* são cimeiras multifloras, comuns em Hypericaceae (Stevens 2007). As flores da espécie são actinomorfas, assim como em outras espécies de *Vismia* e *Hypericum* (Marinho *et al.* 2016; Marinho *et al.* 2018a; Mejía-Agudelo *et al.* 2019). Flores reunidas em inflorescências multifloras parecem ser um dos atrativos para as abelhas (Wilms *et al.* 1997) e a simetria floral está associada ao grau de especialização da polinização (Diller & Fenster 2014). Para os animais visitantes, as flores são fontes potenciais de

energia/alimento. Nesse contexto, a simetria pode ser entendida como um indicador da recompensa/alimento. A capacidade dos polinizadores de perceber a simetria e discriminar entre diferentes tipos estabelece a base para a seleção da forma floral mediada pelos polinizadores, além de apontar para o papel potencial da simetria na dinâmica das populações de plantas e diversificação de espécies (Citerne *et al.* 2010). As observações de campo mostraram abelhas e vespas visitando as flores actinomorfas, nectaríferas e odoríferas de *V. micrantha*. Tais características da flor nos levam a pensar que a espécie possua um sistema de polinização mais generalista.

Existem vários modos de polinização nas angiospermas (Rech *et al.* 2014). Quando a transferência do pólen é feita por animais, o polinizador é atraído até as flores pelo(s) recurso(s) floral(ais) oferecido(s) (Sargent & Ackerly 2008).

O nectário, estrutura que produz néctar, um dos tipos possíveis de recurso floral (Roy *et al.* 2017), é composto por cinco glândulas alaranjadas em *V. micrantha*. *Garcinia nervosa* Miq. e *Garcinia xanthochymus* Hook, espécies de Clusiaceae, família relacionado à Hypericaceae, possuem nectários florais de cor amarelo brilhante (Sweeney 2010). Horner *et al.* (2007) relacionam a coloração “viva” de um nectário a um possível atrativo visual. Na flor, essa estrutura pode ocupar diferentes posições (receptáculo floral, cálice, corola, filete, antera, ovário, estilete ou estigma) (Schmid 1988; Bernardello 2007) e apresentar diferentes origens (Erbar 2014). De acordo com Sweeney (2010), há evidências de que os nectários possuem origem estaminal em Hypericaceae. No presente estudo não foi possível identificar a origem do nectário floral de *V. micrantha*, ficando esta investigação como sugestão para futuras análises.

Sendo o nectário uma estrutura produtora e secretora de néctar, “insumos” são necessários para a fabricação deste “produto” (Heil 2011). A vascularização, uma das possíveis fontes de “insumos” (Roy *et al.* 2017), está representada apenas por elementos de floema, no nectário floral de *V. micrantha*. Da mesma forma, os nectários florais de *H. madagascariensis* (Decraene & Smets 1991) e de *S. globulifera* (Leal 2016), ambas espécies pertencentes à Clusiaceae, são vascularizados por elementos de floema.

As células parenquimáticas do nectário floral de *V. micrantha* apresentam citoplasma denso. Tal característica remete à atividade secretora (Elias 1983; Fahn 1988). A reação ao PAS indicou a presença polissacarídeos no citoplasma destas células, ou seja, presença de carboidrato. De acordo com Heil (2011), os carboidratos, classe dominante das substâncias que compõem o néctar, pode apresentar duas vias de origem na secreção, quais sejam: transporte direto do floema e hidrólise do amido acumulado em amiloplastos durante a formação do

nectário. A ausência de amido em células epidérmicas e parenquimáticas do nectário floral de *V. micrantha* sugere que, na espécie, os carboidratos presentes no néctar sejam provenientes do transporte direto do floema. A “matéria prima” (carboidratos) recebida é modificada em células do parênquima nectarífero, local em que outras substâncias (como proteínas) podem ainda ser agregadas, originando o “pré-néctar” (Roy *et al.* 2017). Esta secreção é transportada através da via apoplástica (passando pelo meio intercelular) ou da simplástica (passando pelo meio intracelular) (Heil 2011). Em *V. micrantha*, os polissacarídeos foram observados no citoplasma das células, sugerindo que o transporte se dê pela via simplástica. Ressalta-se que o néctar parece ser o recurso floral da espécie, uma vez que os visitantes observados em campo introduziam seus aparelhos bucais nas flores, parecendo alcançar o local ocupado pelo nectário.

Vismia micrantha, apresenta cavidades de origem lisígena contendo substâncias lipofílicas no androceu (conectivo das anteras), pedicelo, sépalas, pétalas e parede do ovário. Em *Hypericum perforatum* L., espécie de gênero relacionado, as cavidades da corola são descritas como de origem esquizógena e lisígena e o volume do seu produto (óleo) pode variar de acordo com as condições ambientais (Curtis & Lersten 1990).

A composição química de um óleo é diversa (Lange 2015), podendo apresentar componentes voláteis (Felipe & Bicas 2017) ou não (Lange 2015). Glândulas florais produtoras de óleo não volátil são chamadas de elaióforos (Vogel 1974; Endress 1994) e seu exsudado funciona como recompensa floral (Carvalho *et al.* 2005; Pansarin *et al.* 2009; Alves 2015; Possobom & Machado 2017). Glândulas florais que produzem óleos voláteis são denominadas osmóforos (Vogel 1990; Rehman *et al.* 2016) e seu exsudado funciona como atrativo. Osmóforos já foram descritos para espécies de diversas famílias botânicas (e.g. Passifloraceae, Solanaceae e Euphorbiaceae) (Vogel 1990; Evert 2006; Teixeira *et al.* 2014; Marinho *et al.* 2014, 2018b; Gagliardi *et al.* 2016; Demarco 2017). A interação flor-polinizador envolve vários canais sensoriais de comunicação, como por exemplo, o olfatório (Solís-Montero *et al.* 2018). Os osmóforos produzem odores que funcionam como pistas olfativas (Raguso 2008) e atraem os polinizadores (Schiestl 2010) que, por sua vez, associam o aroma à presença de uma possível recompensa (Solís-Montero *et al.* 2018), muitas das vezes, néctar (Vogel 1990; Endress 1994; Raguso 2008). Em Solanaceae, anteras de flores de algumas espécies emitem aromas muito provavelmente para atrair seus polinizadores (D’Arcy *et al.* 1990). Em *V. micrantha* a composição do óleo presente nas cavidades da flor, incluindo aquelas das anteras, não foi analisada, não sendo possível avaliar a presença de voláteis, apesar das flores serem odoríferas.

Deste modo, sugere-se investigações complementares, relacionadas à presença de óleos voláteis nas secreções presentes nestas cavidades, para que se estabeleça o papel ecológico destas glândulas.

O androceu tem um papel muito importante na reprodução das plantas, produzindo os gametas masculinos e, em algumas ocasiões, o recurso floral (grãos de pólen) (Rech *et al.* 2014). Em *V. micrantha* o androceu, em ambos os morfos, é composto por cinco fascículos, cada um dos fascículos, geralmente, reunindo três estames. Ornduff (1975), ao estudar *Hypericum aegypticum* L. observou que o androceu da espécie apresenta 3 fascículos, cada um deles com muitos estames. Segundo o autor (Ornduff 1975), a presença de muitos estames é uma característica incomum para flores heterostílicas e, talvez, a reunião deles em fascículos, simule um menor número de estames que, normalmente, caracteriza flores distílicas.

A epiderme nas anteras de *V. micrantha* apresenta células de contorno poligonal, com paredes periclinais externas convexas e revestidas por cutícula estriada. Voguelmann (1993), através de análises ópticas, associou os formatos celulares papiloso e convexo a um mecanismo para aumentar a absorção de luz. Epiderme papilosa (Silva *et al.* 2016) e cutícula delgada (Pacini & Hesse 2004) favorecem a desidratação da antera, promovendo sua abertura e apresentação do pólen (Pacini & Hesse 2004; Silva *et al.* 2016). Outros mecanismos que levam ao mesmo resultado (desidratação e abertura) seriam a migração da água contida na antera para outras partes da flor (Heslop-Harrison *et al.* 1987; Pacini 1990) e a presença de estômatos ao longo da linha da deiscência da antera (Clément *et al.* 1997; Azevedo 2016). Epiderme papilosa e estômatos, não são características presentes nas anteras de *V. micrantha*, todavia, considerando o postulado por Voguelmann (1993), as células epidérmicas com paredes periclinais externas convexas de *V. micrantha* poderiam ser interpretadas como uma característica que favoreceria a abertura da antera e apresentação do pólen. Adjacente à epiderme, a parede da antera madura de *V. micrantha* possui um estrato de endotécio com espessamento em barra e restos de tapete. O endotécio tem relação direta com a abertura da antera. O tapete, estrato mais interno da parede da antera, está em contato direto com os micrósporos, fornecendo nutrientes e outras moléculas importantes para a formação e desenvolvimento dos grãos de pólen (Levings 1990; Furness & Rudall 2001) e degenerando gradualmente durante a microesporogênese (Furness & Rudall 2001; Azevedo 2016; Mejía-Agudelo *et al.* 2019).

Em *V. micrantha* os grãos de pólen são liberados em mônades, na fase de micrósporos ou microgametófitos bicelularizados. Em apenas em 30% das angiospermas, a segunda divisão

mitótica ocorre no grão de pólen ainda dentro da antera (García 2009). Grãos de pólen bicelularizados têm uma maior longevidade quando comparados aos tricelularizados, porém são mais lentos no processo de germinação e crescimento em direção à micrópila dos óvulos (Hanna & Towil 1995; Dafni & Firmage 2000). Os grãos de pólen de *V. micrantha* são ricos em grãos de amido. De acordo com Ganders (1979) o dimorfismo floral em espécies heterostílicas pode ser detectado até mesmo na quantidade de grãos de amido dos grãos de pólen. Silva *et al.* (2016) ao estudarem espécies heterostílicas de *Erythroxylum* (Erythroxylaceae), observaram que em flores brevistilas poucos eram os grãos de pólen que tinham amido armazenado, o contrário ocorrendo em flores longistilas. Pacini *et al.* (2006) ressaltam que o amido presente em grãos de pólen pode torná-los mais resistente a ambientes hostis (altas temperaturas e baixa umidade relativa) através da regulação da quantidade de água, influenciando no metabolismo dos mesmos. A presença de amido nos grãos de pólen em *V. micrantha* deve estar relacionada ao fornecimento de energia para manutenção da sua vitalidade bem como para o crescimento do tubo polínico, além de torná-los mais resistentes ao ambiente (Speranza *et al.* 1997; Pacini *et al.* 2006).

Vismia micrantha apresenta microsporogênese do tipo simultânea. Esse padrão é o mais comum nas eudicotiledôneas, sendo de grande utilidade para a caracterização do grupo (Furnes *et al.* 2002). Em Hypericaceae bem como no gênero *Vismia*, não se sabe qual o padrão predominante, sendo necessárias investigações com maior número de espécies de modo a melhor elucidar esta característica evolutiva. A formação da parede dos grãos de pólen começa a partir da microsporogênese, com a degradação da parede de calose que envolve os micrósporos (Shi *et al.* 2015). A parede do grão de pólen, além de conferir ao gametófito masculino resistência contra estresses bióticos e abióticos, é também responsável por reações de reconhecimento e interação entre grão de pólen e estigma (Jiang *et al.* 2013).

O gineceu em *V. micrantha* é súpero e sincárpico. O ovário é completamente septado, pentalocular. A parede ovariana contém cavidades de origem lisígena e conteúdo lipofílico. Em *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy os espaços secretores da mesma região são de origem esquizógena (Mourão & Beltrati 2001). Deste modo, sugere-se que espécies de *Vismia* apresentem diferentes modos de desenvolvimento dos espaços secretores presentes em suas flores. Os óvulos em *V. micrantha* são anátropos. Em angiospermas, óvulos com esta curvatura são comuns; o posicionamento da micrópila direcionada para a região da placenta, local por onde chega o tubo polínico (Endress 2011), parece ser vantajoso. Além disso, os óvulos da espécie são bitegmentados, tenuinucelados e com endotélio. O mesmo padrão morfológico e

de desenvolvimento do megasporócito é observado para os óvulos de *V. guianensis* (Mourão & Beltrati 2001) e se assemelha ao dos óvulos de outras espécies relacionadas (Corner 1976), dentre elas, espécies do gênero *Hypericum* (Nagaraja Rao 1957). A observação das características do óvulo em *V. micrantha* contribui e reforça o padrão descrito por Stevens (2007) para Hypericaceae, visto que em seu trabalho a interpretação se deu levando em consideração apenas uma espécie.

Para a megaesporogênese em flores de *V. micrantha* apenas as díades foram observadas. A megagametogênese em *V. micrantha* resulta, ao final do processo, em um saco embrionário unimodular (com 4 células), no qual as antípodas não são observadas. Levando em consideração que caracteres embriológicos são de grande valor taxonômico (Moço & Mariath 2003), sugere-se, como aprofundamento do presente estudo, o acompanhamento detalhado da megaesporogênese e da megagametogênese.

Os estiletos em *V. micrantha* são deflexos nas flores brevistilas, e eretos, retorcidos distalmente nas flores longistilas. Os estigmas são papilosos, recobertos por secreção mucilaginosa. O exsudado estigmático pode apresentar composição química variada e, em casos bem raros, ser o recurso floral em determinadas espécies (Dafni 2005). Os danos que podem ocorrer na superfície receptiva pela sua exposição, tendem a favorecer o surgimento de estruturas produtoras de recurso em outras partes da flor (Simpson e Neff 1983). Em espécies de *Amyema* polinizadas por pássaros, o estigma deve resistir aos repetidos contatos com a cabeça destes animais (Bernhardt & Knox 1983). Papilas cutinizadas, como as observadas em certos estigmas de Boraginaceae (Heslop-Harrison 1981), são interpretadas como proteção contra danos promovidos pela colisão de polinizadores de maior porte (e.g. aves e abelhas do gênero *Bombus*) (Heslop-Harrison 1981; Bernhardt & Knox 1983). *Vismia micrantha* não apresenta papilas estigmáticas cutinizadas, o que faz total sentido, uma vez que provavelmente a espécie seja polinizada por animais de pequeno porte, como as abelhas e vespas que foram observadas visitando as flores.

As flores de *V. micrantha* possuem, em todos os verticilos, cutícula, tricomas tectores, idioblastos drusíferos e de conteúdo fenólico. Além disso, mucilagem foi evidenciada em botões florais e na flor em antese. Em um ambiente repleto de adversidades, sobreviver não é tarefa fácil. *Vismia micrantha* apresenta vários caracteres que auxiliam sua sobrevivência.

A cutícula recobre a parte aérea das plantas vasculares (Nawrath 2002). É sintetizada pelas células epidérmicas durante o período de crescimento dos diferentes órgãos aéreos do vegetal (Kolattukudy 1970; Bowen & Walton 1988; Hoffman-Benning & Kende 1994). Por estar

sobre a parede celular das células epidérmicas, constitui a zona de contato entre a planta e o meio ambiente (Nawrath 2002). A cutícula é formada por cutina (principal constituinte), ceras e polissacarídeos (Jeffree 1996) e desempenha diversas funções, tais quais, proteção contra danos mecânicos, proteção contra ataques de herbívoros e patógenos, prevenção da desidratação provocada pela irradiação (Grace & Gardingen 1996; Kerstiens 1996*a, b*), além de regular a troca gasosa quando os estômatos estão fechados ou ausentes (Kerstiens 1996*b*). Com base no exposto sugere-se que a cutícula observada nas peças florais de *V. micrantha* tem como funções evitar a desidratação (servindo como barreira física) e proteger contra choques mecânicos.

Tricomas são estruturas de origem epidérmica (Levin 1973) e estão presentes em um grande número de famílias botânicas (Gonçalves & Lorenzi 2011). Por apresentarem variação morfológica, são de valor taxonômico e servem como característica diagnóstica e de distinção (Gonçalves & Lorenzi 2011). Os tricomas, assim como os idioblastos de conteúdo fenólico, estão associados à proteção contra herbívoros (Levin 1973; Gonçalves & Lorenzi 2011). Além disso, podem desempenhar outros papéis importantes, tais quais, limitação da perda hídrica (Gonçalves & Lorenzi 2011) ou, no caso de tricomas glandulares, secreção de substâncias que atuam como atrativo para polinizadores ou repelente de florívoros (Levin 1973; Gonçalves & Lorenzi 2011; Kessler *et al.* 2015). Sugere-se aqui que os tricomas tectores presentes nas flores de *V. micrantha* tenham como função oferecer resistência física contra herbívoros, dificultando a predação.

De acordo com Mithöfer & Boland (2012) pelo fato das plantas serem fixas ao substrato, não têm a capacidade de escapar de ataques de predadores. Evolutivamente, estes organismos adquiriram estratégias de defesa baseadas na síntese de metabólitos secundários. Estes compostos pertencem a várias classes químicas, tais como compostos fenólicos (Mithöfer & Boland 2012; Franceschi & Nakata 2005), que servem como repelentes gustativos, uma vez que deixam um gosto desagradável para o herbívoro (Levin 1973). Estudos fitoquímicos são abundantes em Hypericaceae (partes aéreas), sendo a presença de compostos fenólicos, já relatada para espécies de *Vismia* (Correia Osório 2019) e *Hypericum* (Valentão *et al.* 2003). O oxalato de cálcio tem sido observado em tecidos de diversos vegetais (Franceschi & Nakata 2005). Para estruturas reprodutivas de espécies de *Vismia*, a presença de cristais de oxalato de cálcio é descrita nas flores de *V. micrantha* e de *V. brasiliensis* (Leal 2016) e nas sementes de *V. guianensis* (Mourão & Beltrati 2001). Os cristais de oxalato de cálcio em plantas são formados a partir de ácido oxálico sintetizado endogenamente e cálcio oriundo do meio ambiente. Os

cristais podem apresentar várias formas tridimensionais, como a de drusa (cristais conglomerados multifacetados). Algumas funções são atribuídas a esses cristais. As mais bem suportadas pelo acúmulo de evidências são: proteção, regulação do cálcio e desintoxicação de metais. A intoxicação por metais traz danos ao vegetal (atrofia da raiz e/ou má absorção de nutrientes) (Franceschi & Nakata 2005). Em mecanismo de exclusão, uma das formas de se desintoxicar, a planta elimina no ambiente cristais em resposta ao estresse externo causado pelo metal (Ma *et al.* 1997). Tais funções (proteção, regulação do cálcio e desintoxicação de metais), entretanto, vão depender da quantidade de cristais, sua distribuição e morfologia, bem como de características das células que os produzem (Franceschi & Nakata 2005). Os cristais presentes nas flores de *V. micrantha* parecem estar relacionados à proteção. Todavia, não é possível generalizar a função para todos os verticilos nos quais se fazem presentes.

Indivíduos de *V. micrantha* apresentam mucilagem em botões florais (entre cálice e corola e ao redor de anteras) e nas flores (compito, lóculo ovariano e vacúolo da célula média). Quimicamente, esta secreção é constituída de polissacarídeos derivados da galactose e manose. É um composto viscoso que apresenta propriedades de absorção e retenção de água (Pandey & Chadha 1993). Desta forma, a presença de mucilagem em ambientes secos é vantajosa. A população de *V. micrantha* que foi estudada ocorre no Parque Estadual do Ibitipoca (MG), em altitudes entre 1.200 e 1.460m acima do nível do mar. O local apresenta verões amenos e invernos secos (Koeppen 1948), com temperatura média de 18,9°C (Cetec 1983). Pelo fato da população estudada ocorrer em ambiente de relativa secura, visto as baixas temperaturas e por estar em grandes altitudes, o que a expõe a uma maior incidência de radiação solar, sugere-se que a mucilagem presente entre sépalas e pétalas e ao redor das anteras previna contra a desidratação do botão floral e atue ainda como um lubrificante (Fahn 1988), amenizando o atrito durante o desenvolvimento destes órgãos. Já aquela evidenciada no estigma, tecido transmissor, compito e lóculos ovarianos pode estar relacionada à hidratação, reconhecimento, orientação e nutrição do tubo polínico (Miki-Hirosige *et al.* 1987; Lennon *et al.* 1998).

5. Conclusão

Considerando as perguntas formuladas durante a elaboração desta dissertação, podemos concluir que:

- (i) A população estudada de *V. micrantha* é distílica e, apesar das diferenças relativas à acurácia nos órgãos altos e baixos de suas flores, a proporção 1:1 observada indica que a heterostilia estaria promovendo de forma eficiente a transferência do pólen disassortativo, uma vez que a porcentagem “igual” de indivíduos brevistilo X longistilo é um sinal de prevalência da polinização cruzada;
- (ii) O recurso floral é néctar, comprovado pela presença e funcionalidade do nectário e sugerido pelo comportamento dos visitantes florais;
- (iii) As cavidades localizadas no conectivo das anteras produzem e secretam substâncias lipofílicas;
- (iv) A secreção produzida nas cavidades presentes no pedicelo, sépalas, pétalas e parede do ovário é composta por substância lipofílicas tal qual a secreção presente nas cavidades localizadas no conectivo das anteras;
- (v) A microsporogênese é simultânea;
- (vi) O ovário é septado, pentalocular e a placentação é axial;
- (vii) Os óvulos são bitegmentados, tenuinucelados e com endotélio;
- (viii) O saco embrionário maduro é unimodular, apresentando 4 células.

6. Referências Bibliográficas

- Alves ACA. 2015. Anatomia ecológica de Orchidaceae Juss. do Parque Estadual do Ibitipoca. Tese de doutorado, Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, Brasil.
- Alves RJV; Kolbek JCAN. 2010. Campo rupestre vegetation is floristically delimited based on vascular plant genera?. *Plant Ecology* 207: 67-79.
- Andrade PM; Souza HC. 1995. Contribuição ao conhecimento da vegetação do Parque Estadual do Ibitipoca, Lima Duarte, Minas Gerais. *Revista Árvore* 19: 249-261.
- Armbruster WS; Pérez-Barrales R; Arroyo J; Edwards ME; Vargas P. 2006. Three-dimensional reciprocity of floral morphs in wild flax (*Linum suffruticosum*): a new twist on heterostyly. *New Phytologist* 171(3): 581–590.
- Armbruster WS; Bolstad GH; Hansen TF; Keller B; Conti E; Pélabon C. 2017. The measure and mismeasure of reciprocity in heterostylous flowers. *New Phytologist* 215(2): 906-917.
- Azevedo VM. 2016. Morfo-anatomia das flores zigomorfas e unissexuadas de *Paullinia coriacea* CASAR. Monografia. Universidade Castelo Branco, RJ, Brasil.
- Azevedo VM. 2018. Estrutura floral em *Hypericum perforatum* e *Vismia micrantha* (Hypericaceae). Relatório Técnico-Científico PIBIC/CNPq. Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Barrett SCH; Price SD; Shore JS. 1983. Male fertility and anisoplethic population structure in tristylous *Pontederia cordata* (Pontederiaceae). *Evolution* 37: 745–759.
- Barrett SCH. 1992. Evolution and function of heterostyly. Springer-Verlag, Berlin.
- Barrett SCH; Harder LD; Cole WW. 2004. Correlated evolution of floral morphology and mating-type frequencies in a sexually polymorphic plant. *Evolution* 58(5): 964–975.
- Barrett SCH; Shore JS. 2008. New insights on heterostyly: comparative biology, ecology and genetics. In: Franklin-Tong VE. (ed.). Self-incompatibility in flowering plants. Springer-Verlag. p.3-32.
- Barrett SCH. 2019. “A most complex marriage arrangement”: recent advances on heterostyly and unresolved questions. *New Phytologist* 224(3): 1051-1067.
- Bernardello G. 2007. A systematic survey of floral nectaries. In: Nicolson SW; Nepi M; Pacini E. (eds). Nectaries and nectar. Springer. p.129–166.
- Bernhardt P; Knox RB. 1983. The stigmatic papillae of *Amyema* (Loranthaceae): developmental responses to protandry and surface adaptations for bird pollination. *American journal of botany* 70(9): 1313-1319.

Bowen DJ; Walton TJ. 1988. Cutin monomer composition and biosynthesis during gibberellic acid-induced stem extension of *Pisum sativum* var. Meteor. *Plant Science* 55(2): 115-127.

Brys R; Jacquemyn H; Beeckman T. 2008. Morph-ratio variation, population size and female reproductive success in distylous *Pulmonaria officinalis*. *Journal of Evolutionary Biology* 21(5): 1281–1289.

Brys R; Jacquemyn H. 2019. The impact of individual inaccuracy of reciprocal herkogamy on legitimate pollen deposition and seed set in a distylous self-incompatible herb. *Journal of Ecology* 108(1): 81–93.

Carvalho PDD; Borba EL; Lucchese AM. 2005. Variação no número de glândulas e produção de óleo em flores de *Stigmaphyllon paralias* A. Juss. (Malpighiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 19(2): 209-214.

CETEC. 1983. Diagnóstico ambiental de Minas Gerais. CETEC, Belo Horizonte.

Clément C; Mischler P; Burrus M; Audran JC. 1997. Characteristics of the photosynthetic apparatus and CO₂-fixation in the flower bud of *Lilium*. II. Anther. *International Journal of Plant Sciences* 158(6): 801-810.

Citerne H; Jabbour F; Nadot S; Damerval C. 2010. The evolution of floral symmetry. *Advances in botanical research* 54: 85-137.

Corner E.J.H. 1976. The seeds of dicotyledones. Cambridge University Press, London.

Correia Osorio MI. 2019. Estudo químico e biológico dos ramos de espécies do gênero *Vismia* vand. (Hypericaceae). Dissertação de mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Amazonas, Brasil.

Cunha NL; Barrett SCH. 2019. Architectural constraints, male fertility variation and biased floral morph ratios in tristylous populations. *Heredity* 123(5): 694-706.

Curtis JD; Lersten NR. 1990. Internal secretory structures in *Hypericum* (Clusiaceae): *H. perforatum* L. and *H. balearicum* L. *New Phytologist* 114(4): 571-580.

Dafni A; Firmage D. 2000. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Pollen and pollination*: 113-132.

Dafni A. 2005. Rewards in flowers: introduction. In: Dafni A; Kevan PG; Husband BC (eds). *Practical pollination biology*. Enviroquest. p.233–236.

D’Arcy WG; D’Arcy NS; Keating RC. 1990. Scented anthers in the Solanaceae. *Rhodora* 92: 50–53.

Darwin C. 1877. The different forms of flowers on plants of the same species. John Murray. Reprinted 1986.

- Decraene LPR; Smets E. 1991. Androecium and floral nectaries of *Harungana madagascariensis* (Clusiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 178(3-4): 179-194.
- Demarco D. 2017. Floral glands in asclepiads: structure, diversity and evolution. *Acta Botanica Brasilica* 31: 477–502.
- Diller C; Fenster CB. 2014. Corolla chirality in *Hypericum irazuense* and *Hypericum costaricense* (Hypericaceae): parallels with monomorphic enantiostyly. *The Journal of the Torrey Botanical Society* 141(2): 109-114.
- Dulberger R. 1992. Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome. *In*: Barrett SCH. (ed). *Evolution and function of heterostyly*. Springer-Verlag. p.41–84.
- Elias TS. 1983. Extrafloral nectaries: their structure and distribution. *In*: Bentley B; Elias TS. (eds). *The Biology of Nectaries*. University Press. p.174–203.
- Endress PK. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press, London.
- Endress PK. 2011. Angiosperm ovules: diversity, development, evolution. *Annals of Botany* 107(9): 1465-1489.
- Endress PK; Davis CC; Matthews ML. 2013. Advances in the floral structural characterization of the major subclades of Malpighiales, one of the largest orders of flowering plants. *Annals of Botany* 111(5): 969-985.
- Erbar C. 2014. Nectar secretion and nectaries in basal angiosperms, magnoliids and non-core eudicots and a comparison with core eudicots. *Plant Diversity and Evolution* 131(2): 63-143.
- Ernst E. 2003. *Hypericum: The genus Hypericum*. CRC Press, New York.
- Evert RF. 2006. *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Fahn A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New phytologist* 108(3): 229-257.
- Faivre AE; McDade LA. 2001. Population-level variation in the expression of heterostyly in three species of Rubiaceae: does reciprocal placement of anthers and stigmas characterize heterostyly?. *American Journal of Botany* 88(5): 841–853.
- Feder N; O'Brien TP. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* 55: 123–142.
- Felipe LO; Bicas JL. 2017. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. *Química Nova na Escola* 39(2): 120-130.

Ferrero V; Arroyo J; Vargas P; Thompson JD; Navarro L. 2009. Evolutionary transitions of style polymorphisms in *Lithodora* (Boraginaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 11: 111–125.

Ferrero V; Chapela I; Arroyo J; Navarro L. 2011a. Reciprocal style polymorphisms are not easily categorised: the case of heterostyly in *Lithodora* and *Glandora* (Boraginaceae). *Plant Biology* 13: 7–18.

Ferrero V; Castro S; Sánchez JM; Navarro L. 2011b. Stigma-anther reciprocity, pollinators, and pollen transfer efficiency in populations of heterostylous species of *Lithodora* and *Glandora* (Boraginaceae). *Plant Systematics and Evolution* 291(3): 267–276.

Ferrero V; Barrett SCH; Rojas D; Arroyo J; Navarro L. 2017. Associations between sex-organ deployment and morph bias in related heterostylous taxa with different stylar polymorphisms. *American Journal of Botany* 104(1): 50–61.

Filardi FLR; Ribeiro RD; Pinto RB; Mansano V. 2014. Leguminosae no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. *Bol. Bot. Univ. São Paulo* 32(1): 9-42.

Franceschi VR; Nakata PA. 2005. Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annual Review of Plant Biology* 56: 41-71.

Furness CA. 2012. Pollen evolution in the clusioid clade (Malpighiales). *International Journal of Plant Sciences* 173(9): 1055-1082.

Gagliardi KB; Cordeiro I; Demarco D. 2016. Protection and attraction: bracts and secretory structures in reduced inflorescences of Malpighiales. *Flora* 220: 52–62.

Gahan PB. 1984. *Plant histochemistry and cytochemistry - an introduction*. Academic Press Inc., London.

Ganders FR. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17(4): 607-635.

García EC. 2009. La esterilidad masculina en plantas, una perspectiva embriológica. *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias* 11(1): 79-86.

Giulietti AM; Pirani JR. 1998. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. *In: Proceeding of a workshop on Neotropical distribution patterns*. Academia Brasileira de Ciências. p.39-69.

Gonçalves EG; Lorenzi H. 2011. *Morfologia vegetal, organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares* 2ª ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo.

Grace J; van Gardingen PR. 1996. Plant cuticles under challenge. *In: Kerstiens G. (ed). Plant cuticles: an integrated functional approach*. BIOS Scientific Publishers Limited. p.319-330.

Greeson J; Sanford B; Monti DA. 2001. St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology* 153(4): 402-414.

Hanna WW; Towil LE. 2010. Long-term pollen storage. *Plant breeding reviews* 13: 179-207.

Heil M. 2011. Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends in plant science* 16(4): 191-200.

Heslop-Harrison Y. 1981. Stigma characteristics and angiosperm taxonomy. *Nordic Journal of Botany*: 1(3): 401-420.

Heslop-Harrison JS; Heslop-Harrison Y; Reger BJ. 1987. Anther-filament extension in *Lilium*: potassium ion movement and some anatomical features. *Annals of Botany* 59(5): 505-515.

Hodgins KA; Barrett SCH. 2008. Asymmetrical mating patterns and the evolution of biased style-morph ratios in a sexually polymorphic daffodil. *Genetics Research* 90(1): 3–15.

Hoffmann-Benning S; Kende H. 1994. Cuticle biosynthesis in rapidly growing internodes of deepwater rice. *Plant Physiology* 104(2): 719-723.

Horner HT; Healy RA; Ren G; Fritz D; Klyne A; Seames C; Thornburg RW. 2007. Amyloplast to chromoplast conversion in developing ornamental tobacco floral nectaries provides sugar for nectar and antioxidants for protection. *American Journal of Botany* 91(1):12–24.

Husband BC; Barrett SCH. 1992. Genetic drift and the maintenance of the style length polymorphism in tristylous populations of *Eichhornia paniculata*. *Heredity* 69(5): 440–449.

Jacquemyn H; Gielen M; Brys R. 2018. Is sexual organ reciprocity related to legitimate pollen deposition in distylous *Pulmonaria* (Boraginaceae)? *Oikos* 127(8): 1216-1224.

Jeffree CE. 1996. Structure and ontogeny of plant cuticles. *In*: Kerstiens G. (ed). *Plant cuticles: an integrated functional approach*. BIOS Scientific Publishers Limited. p.33-82.

Jensen WA. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W. H. Freeman & Co., San Francisco.

Jiang J; Zhang Z; Cao J. 2013. Pollen wall development: the associated enzymes and metabolic pathways. *Plant biology* 15(2): 249-263.

Keller B; de Vos JM; Conti E. 2012. Decrease of sexual organ reciprocity between heterostylous primrose species, with possible functional and evolutionary implications. *Annals of Botany* 110(6): 1233–1244.

Keller B; Thomson JD; Conti E. 2014. Heterostyly promotes disassortative pollination and reduces sexual interference in Darwin's primroses: evidence from experimental studies. *Functional Ecology* 28(6): 1413–1425.

Kerstiens G. 1996a. Plant Cuticles: an integrated functional Approach. BIOS Scientific Publishers Limited, United kingdom.

Kerstiens G. 1996b. Diffusion of water vapour and gases across cuticles and through stomatal pores presumed closed. *In*: Kerstiens G. (ed). Plant cuticles: an integrated functional approach. BIOS Scientific Publishers Limited. p.121-134.

Kessler D; Kallenbach M; Diezel C; Rothe E; Murdock M; Baldwin IT. 2015. How scent and nectar influence floral antagonists and mutualists. *Elife* 4: 1-16.

Koeppen W. 1948. Climatologia: com um stúdio de los climas de La tierra. Version Henfrichs PR. Fondo de Cultura Econômica, México.

Kolattukudy PE. 1970. Cutin biosynthesis in *Vicia faba* leaves: effects of age. *Plant Physiology* 46(5): 759-760.

Langeron M. 1949. Précis de microscopie. Masson et Cie. Ed., Paris.

Lange BM. 2015. The evolution of plant secretory structures and emergence of terpenoid chemical diversity. *Annual Review of Plant Biology* 66: 139-159.

Leal DO. 2016. Estrutura floral em representantes do clado clusioid: uma abordagem evolutiva. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Lennon KA; Roy S; Hepler PK; Lord EM. 1998. The structure of the transmitting tissue of *Arabidopsis thaliana* (L.) and the path of pollen tube growth. *Sexual Plant Reproduction* 11(1): 49-59.

Levin DA. 1973. The role of trichomes in plant defense. *Chicago Journals* 48(1): 3-15.

Levings CS. 1990. The Texas cytoplasm of maize: cytoplasmic male sterility and disease susceptibility. *Science* 250(4983): 942-947.

Ma JF; Hiradate S; Nomoto K; Iwashita T; Matsumoto H. 1997. Internal detoxification mechanism of Al in hydrangea (identification of Al form in the leaves). *Plant Physiology* 113(4): 1033-1039.

Maclean RC; Ivimey-Cook WR. 1952. Textbook of practical botany. Longmans Greenands Co., London.

Marinho CR; Souza CD; Barros TC; Teixeira SP. 2014. Scent glands in legume flowers. *Plant Biology* 16: 215–226.

Marinho LC; Martins MV; Amorim AM; Bittrich V. 2016. *Vismia atlantica* (Hypericaceae), a new species previously thought to be well-known from the Brazilian Atlantic Forest. *The Journal of the Torrey Botanical Society* 143(3): 330-337.

- Marinho LC; Shimizu GH; Martins MV; Amaral MCE; Amorim AM. 2018a. *Vismia* (Hypericaceae) from the Brazilian Atlantic Forest. *Fieldguides - Fieldmuseum* 1066: 1-3.
- Marinho CR; Martucci MEP; Gobbo-Neto L; Teixeira SP. 2018b. Chemical composition and secretion biology of the floral bouquet in legume trees (Fabaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 187: 5–25.
- Martin FW. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 34(3): 125-128.
- Martins MV; Shimizu GH; Marinho LC; Ely CV. 2017. Flora do Espírito Santo: Hypericaceae. *Rodriguésia* 68(5): 1595-1605.
- Martins MV; Shimizu GH; Bittrich V; Amaral MCE. 2018. *Vismia conduplicata* (Hypericaceae), a new species from Mato Grosso, Brazil. *Phytotaxa* 338(1): 125–129.
- Matias R; Pérez-Barrales R; Consolaro H. 2020. Patterns of variation in distylous traits and reproductive consequences in *Erythroxyllum* species and populations. *American Journal of Botany* 107(6): 910-922.
- Mejía-Agudelo L-A; Marín-Loaiza J-C; Marquínez-Casas X. 2019. Morfoanatomía e histoquímica de *Hypericum juniperinum* (Hypericaceae). *Revista de Biología Tropical* 67(6): 1160-1169.
- Miki-Hirosige H; Hoek IHS; Nakamura S. 1987. Secretions from the pistil of *Lilium longiflorum*. *American journal of botany* 74(11): 1709-1715.
- Mithöfer A; Boland W. 2012. Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Annual Review of Plant Biology* 63: 431-450.
- Moço MC; Mariath JE. 2003. Ovule ontogenesis and megasporogenesis in *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog.(Leguminosae-Papilionoideae). *Brazilian Journal of Botany* 26: 495-502.
- Mourão KSM; Beltrati CM. 2001. Morphology and anatomy of developing fruits and seeds of *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy (Clusiaceae). *Revista Brasileira de Biologia* 61: 147-158.
- Nagaraja Rao A. 1957. The embryology of *Hypericum patulum* Thunb. and *H. mysorensis* Heyne. *Phytomorphology* 7: 36-45.
- Nawrath C. 2002. The biopolymers cutin and suberin. *The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists* 1: 1-14.
- Nicolson SW; Thornburg RW. 2007. Nectar chemistry. *In: Nicolson SW; Nepi M; Pacini E. (Eds). Nectaries and nectar. Springer. p.215–264.*
- Ornduff R. 1975. Heterostyly and pollen flow in *Hypericum aegypticum* (Guttiferae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 71(1): 51-57.
- Ornduff R. 1979. The genetics of heterostyly in *Hypericum aegypticum*. *Heredity* 42(2): 271-272.

- Pacini E. 1990. Harmomegathic characters of Pteridophyta spores and Spermatophyta pollen. *Plant Systematics and Evolution* 5: 53-69.
- Pacini E; Hesse M. 2004. Cytophysiology of pollen presentation and dispersal. *Flora* 199(4): 273-285.
- Pacini E; Guarnieri M; Nepi N. 2006. Pollen carbohydrates and water content during development, presentation, and dispersal: a short review. *Protoplasma* 228(1): 73-77.
- Pandey SN; Chadha A. 1993. A textbook of botany: plant anatomy and economic botany. 1° ed. Vikas Publishing House Pvt Ltd, New Delhi.
- Pansarin LM; De Moraes Castro M; Sazima M. 2009. Osmophore and elaiophores of *Grobya amherstiae* (Catasetinae, Orchidaceae) and their relation to pollination. *Botanical Journal of the Linnean Society* 159(3): 408-415.
- Pailler T; Thompson JD. 1997. Distyly and variation in heteromorphic incompatibility in *Gaertnera vaginata* (Rubiaceae) endemic to La Reunion Island. *American Journal of Botany* 84(3): 315–327.
- Pérez R; Vargas P; Arroyo J. 2004. Convergent evolution of flower polymorphism in *Narcissus* (Amaryllidaceae). *New Phytologist* 161(1): 235-252.
- Possobom CCF; Machado SR. 2017. Elaiophores: their taxonomic distribution, morphology and functions. *Acta Botanica Brasilica* 31(3): 503-524.
- Raguso RA. 2008. Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 39: 549-569.
- R Development Core Team. 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, Available from <http://www.Rproject.org/>.
- Rech AR; Avila Jr RS; Schindwein C. 2014. Síndromes de polinização: especialização e generalização. In: Rech AR; Agostini K; Oliveira PE; Machado IC (Eds). *Biologia da polinização*. Projeto cultural. p.172-180.
- Rech AR; Achkar MT; Jorge LR; Armbruster WS; Almeida OJ. 2020. The functional roles of 3D heterostyly and floral visitors in the reproductive biology of *Turnera subulata* (Turneroideae: Passifloraceae). *Flora* 264: 1-8.
- Rehman R; Hanif MA; Mushtaq Z; Al-Sadi AM. 2016. Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. *Food Reviews International* 32(2): 117-160.
- Robson NKB. 2012. Studies in the genus *Hypericum* L. (Hypericaceae) 9. Addenda, corrigenda, keys, lists and general discussion. *Phytotaxa* 72(1): 1-111.

Roy R; Schmitt AJ; Thomas JB; Carter CJ. 2017. Review: Nectar biology: From molecules to ecosystems. *Plant Science* 262: 148-164.

Ruhfel BR; Stevens PF; Davis CC. 2013. Combined morphological and molecular phylogeny of the clusioid clade (Malpighiales) and the placement of the ancient rosid macrofossil *Paleoclusia*. *International Journal of Plant Science* 174: 910-936.

Sá T; Furtado MT; Ferrero V; Pérez-Barrales R; Rodrigues EB; Dos Santos IG; Consolaro H. 2016. Floral biology, reciprocal herkogamy and breeding system in four *Psychotria* species (Rubiaceae) in Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society* 182(3): 689-707.

Saddiqe Z; Naeem I; Maimoona A. 2010. A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology* 531(3): 511-521.

Santos MJL; Machado IC. 1999. Biologia floral e heterostilia em *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy (Clusiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 12(3): 451-464.

Sargent RD; Ackerly DD. 2008. Plant–pollinator interactions and the assembly of plant communities. *Trends in Ecology & Evolution* 23(3): 123-130.

Schiestl FP. 2010. The evolution of floral scent and insect chemical communication. *Ecology Letters* 13(5): 643-656.

Schmid R. 1988. Reproductive versus extra-reproductive nectaries—historical perspective and terminological recommendations. *The Botanical Review* 54: 179–227.

Shi J; Cui M; Yang L; Kim YJ; Zhang D. 2015. Genetic and biochemical mechanisms of pollen wall development. *Trends in Plant Science* 20(11): 741-753.

Silva L; Fernandes CL; Simão E; Nakamura AT. 2016. Development of anthers and pollen in brazilian heterostylic species of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae): an ecological approach. *Pak. J. Bot.* 48(5): 2047-2055.

Silveira FA; Negreiros D; Barbosa NP; Buisson E; Carmo FF; Carstensen DW; Lambers H. 2016. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant and Soil* 403(1-2): 129-152.

Simpson BB; Neff JL. 1983. Evolution of diversity of floral rewards. *In*: Jones CE; Little RJ (eds). *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold. p.142–159.

Solís-Montero L; Cáceres-García S; Alavez-Rosas D; García-Crisóstomo JF; Vega-Polanco M; Grajales-Conesa J; Cruz-López L. 2018. Pollinator preferences for floral volatiles emitted by dimorphic anthers of a buzz-pollinated herb. *Journal of chemical ecology* 44(11): 1058-1067.

Speranza A; Calzoni GL; Pacini E. 1997. Occurrence of mono-or disaccharides and polysaccharide reserves in mature pollen grains. *Sexual Plant Reproduction* 10(2): 110-115.

Stevens PF. 2007. Hypericaceae. *In*: Kubitzki K. (ed). The families and genera of vascular plants. Springer. p.194-201.

Stojanovic G; Dordevic A; Smelcerovic A. 2013. Do other *Hypericum* species have medical potencial as St. John's wort (*Hypericum perforatum*)?. *Current Medicinal Chemistry* 20(18): 2273-2295.

Sweeney PW. 2010. Floral anatomy in *Garcinia nervosa* and *Garcinia xanthochymus* (Clusiaceae): A first step toward understanding the nature of nectaries in *Garcinia*. *Bulletin of the Peabody Museum of Natural History* 51(2): 157-168.

Taboga SR; Vilamaior PSL. 2013. Citoquímica. *In*: Carvalho HF; Recco-Pimentel SM (eds). A célula. Manole. p.60-68.

Teixeira SP; Marinho CR; Paulino JV. 2014. A flor: aspectos morfofuncionais e evolutivos. *In*: Rech AR; Agostini K; Oliveira PE; Machado IC (eds). *Biologia da Polinização*. Projeto Cultural. p. 45-69.

Thompson JD; Dommée B. 2000. Morph-specific patterns of variation in stigma height in natural populations of distylous *Jasminum fruticans*. *New Phytologist* 148(2): 303-314.

Thompson JD; Cesaro AC; Arroyo J. 2012. Morph ratio variation and sex organ reciprocity in style-dimorphic *Narcissus assoanus*. *International Journal of Plant Sciences* 173(8): 885-893.

Valentão P; Dias A; Ferreira M; Silva B; Andrade PB; Bastos ML; Seabra RM. 2003. Variability in phenolic composition of *Hypericum androsaemum*. *Natural Product Research* 17(2): 135-140.

Vogel S. 1974. Ölblumen und ölsammelnde Bienen. *Pflanzenwelt* 7: 285-547.

Vogel S. 1990. The role of scent glands in pollination. Amerind Publishing, New Delhi.

Vogel Ely C; Shimizu GH; Martins MV; Marinho LC. Hypericaceae *In*: **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB133>>. Acesso em: 23 set. 2020.

Voguelmann TC. 1993. Plant tissue optics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 231-251.

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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109(43): 17519-17524.

Webb CJ; Lloyd DG. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany* 24(1):163-178.

Weber JJ; Weller SG; Sakai AK; Tsyusko OV; Glenn TC; Domínguez CA; Molina FFE; Fornoni J; Tran M; Nguyen K. 2013. The role of inbreeding depression and mating system in the evolution of heterostyly. *Evolution* 67(8): 2309– 2322.

Wu LY; Chang FF; Liu SJ; Scott Armbruster W; Huang SQ. 2018. Heterostyly promotes compatible pollination in buckwheats: Comparisons of intraflower, intraplant, and interplant pollen flow in distylous and homostylous *Fagopyrum*. *American journal of botany* 105(1): 108-116.

Wilms W; Ramalho M; Wendel L. 1997. Stingless bees and africanized honey bees in the Mata Atlântica rainforest of Brazil. *In: XXXth International Apicultural Congress of Apimondia*. p.167-170.

Zhou W; Barrett SCH; Wang H; Li DZ. 2015. Reciprocal herkogamy promotes disassortative mating in a distylous species with intramorph compatibility. *New Phytologist* 206(4): 1503–1512.