



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - RIO CLARO



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BIOLOGIA VEGETAL

Anatomia floral e aspectos reprodutivos de espécies de Poales (Monocotiledôneas)

ALINE ORIANI

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lucia Scatena

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal).

Maio - 2011

ÍNDICE

	Página
1. RESUMO	01
2. ABSTRACT	02
3. INTRODUÇÃO GERAL	03
4. LITERATURA CITADA	06
CAPÍTULO 1. <i>Anatomia floral de Rapateaceae brasileiras (Poales): um enfoque taxonômico</i>.....	11
Resumo	12
Abstract	13
Introdução.....	14
Material e métodos	15
Resultados	17
Tabela	23
Discussão	24
Referências	31
Legendas.....	37
Ilustrações	39
CAPÍTULO 2. <i>Anatomia floral de Juncus e Luzula (Juncaceae - Poales): inferência taxonômica e reprodutiva</i>.....	44
Resumo	45
Abstract	46
Introdução.....	47
Material e métodos	48
Resultados	49
Discussão	52
Referências	57
Legendas.....	62
Ilustrações	63

CAPÍTULO 3. Anatomia floral de xyrídeas (Poales): contribuição à biologia reprodutiva, taxonomia e filogenia	65
Resumo	66
Abstract	67
Introdução	68
Material e métodos	70
Resultados	71
Discussão	75
Referências	81
Tabela	86
Legendas	87
Ilustrações	89
CAPÍTULO 4. Biologia reprodutiva de <i>Abolboda pulchella</i> e <i>A. poarchon</i> (Xyridaceae: Poales).....	94
Abstract	95
Introdução	96
Material e métodos	97
Resultados	101
Discussão	105
Referências	109
Tabelas	114
Legendas	116
Ilustrações	117
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	119

1. RESUMO

A anatomia floral de espécies de Poales incluídas em Rapateaceae, Juncaceae, Xyridaceae, Eriocaulaceae e Mayacaceae e a biologia reprodutiva de espécies de *Abolboda* (Xyridaceae) foram estudadas visando contribuir com a taxonomia do grupo e elucidar relações inter e intrafamiliares. Em Rapateaceae, tricomas secretores de mucilagem presentes na base de todas as peças florais; sépalas, pétalas, anteras e estilete recobertos por cera de ornamentação estriada; pétalas com células epidérmicas curtas, de paredes sinuosas na face abaxial; anteras tetrasporangiadas, com células epidérmicas contendo compostos fenólicos; endotécio com espessamento em espiral; ovário tricarpelar, com septos incompletos; óvulos anátropos e bitegmentados; e o mesmo padrão de vascularização floral caracterizam a família. *Cephalostemon* e *Rapatea* apresentam grande similaridade, corroborando análises filogenéticas que os apontam como grupos-irmãos. *Stegolepis* apresenta muitas características distintivas, refletindo maior diversidade do gênero. Juncaceae caracteriza-se por apresentar tépalas com epiderme abaxial formada por células alongadas, de paredes sinuosas, e margens formadas pelo prolongamento da epiderme; endotécio com espessamento em espiral; grãos de pólen em tetrade; epiderme externa do ovário com invaginações nas regiões dos feixes dorsais dos carpelos; e presença de ginóforo. *Juncus* distingue-se por apresentar estômatos na face abaxial das tépalas e vários óvulos com placentação parietal, enquanto *Luzula* diferencia-se pela presença de compostos fenólicos nas tépalas, intumescimento da base das tépalas e dos filetes, androceu diplostêmone e presença de obturador no ovário, além de apresentar três óvulos com placentação basal. Nas xyrídeas, apêndices nectaríferos do estilete estão presentes em Xyridaceae e Eriocaulaceae e são estruturas homólogas. Essas famílias compartilham também células epidérmicas alongadas, com paredes retas nas pétalas; estames epipétalos; estaminódios; anteras com deiscência longitudinal; endotécio com espessamento em banda; e estigmas vascularizados apenas pelos feixes dorsais dos carpelos, corroborando sua estreita relação indicada nas análises filogenéticas. Mayacaceae distingue-se por apresentar células epidérmicas papilosas nas pétalas; redução do verticilo interno de estames; anteras poricidas; endotécio sem espessamento; estilete e estigma vascularizados pelos feixes dorsais e ventrais dos carpelos; e presença de obturador no ovário. A produção de néctar em Xyridaceae foi demonstrada pela primeira vez, em *Abolboda pulchella* e *A. poarchon*, sendo este o principal recurso floral utilizado pelos polinizadores, que são abelhas Apidae, Megachilidae e Halictidae.

2. ABSTRACT

The floral anatomy of Rapateaceae, Juncaceae, Xyridaceae, Eriocaulaceae and Mayacaceae, and the reproductive biology of Xyridaceae species were investigated in order to contribute to the taxonomy and to the better understanding of inter and infrafamilial relationships. In Rapateaceae, mucilage-secreting trichomes between the floral parts; sepals, petals, anthers and style covered by an ornamented cuticle; short epidermal cells, with sinuous walls in the abaxial surface of the petals; tetrasporangiate anthers with phenolic idioblasts in the epidermis; endothecium with spiral thickenings; tricarpelar ovary, with incomplete septa; anatropous, bitegmic ovules; and the same floral vascularization pattern characterize the family. *Cephalostemon* and *Rapatea* show a great number of similarities, corroborating the phylogenetic analyses that identify these genera as closely related. *Stegolepis* shows several distinctive characters, probably related to the greater diversity found in the genera. Juncaceae is characterized by tepals with sinuous-walled cells in the abaxial surface and with margins composed only of epidermis; endothecium with spiral thickenings; pollen in tetrad; invaginations in the ovary epidermis facing the carpel dorsal bundles; and gynophore. *Juncus* is distinguished by the presence of stomata in the abaxial epidermis of the tepals, and several ovules with parietal placentation, while *Luzula* differs by the occurrence of phenolic compounds in the tepals; intumescence of the basal region of tepals and filaments; diplostemonous androecium; ovarian obturator; and three ovules with basal placentation. In the xyrid clade, the stylar appendages of Xyridaceae and Eriocaulaceae are homologous structures, supporting the phylogenetic proximity of these two families. Eriocaulaceae and Xyridaceae also share the presence of elongate epidermal cells with straight walls in the petals; epipetalous stamens; staminodes; anthers with longitudinal dehiscence; endothecium with band-like thickenings; and stigma vascularized by the carpel dorsal bundles. Mayacaceae is distinguished by the presence of papillose epidermal cells in the petals; inner whorl of stamens reduced; poricidal anthers; endothecium lacking thickenings; style and stigma vascularized by the dorsal and ventral carpel bundles; and obturator in the ovary. This is the first demonstration of nectar production in Xyridaceae, in *Abolboda pulchella* and *A. poarchon*, being the nectar the main floral resource used by Apidae, Megachilidae and Halictidae pollinating bees.

3. INTRODUÇÃO GERAL

Poales é a segunda maior ordem de monocotiledôneas e, juntamente com Arecales, Commelinales, Zingiberales e Dasypogonaceae, forma o clado das commelinídeas (APG III 2009). Agrupa 16 famílias e cerca de 19000 espécies herbáceas (Soltis et al. 2005; APG III 2009), com grande importância econômica e ecológica, principalmente nos ecossistemas campestres.

Vários estudos filogenéticos vêm sendo realizados com Poales desde a década de 1990 (p. ex. Kellogg & Linder 1995; Chase et al. 2000, 2006; Bremer 2002; Michelangeli et al. 2003; Davis et al. 2004; Givnish et al. 1999, 2005, 2006, 2010), porém as posições de algumas famílias dentro da ordem ainda não estão bem esclarecidas. Bromeliaceae, Typhaceae e Rapateaceae são consideradas famílias menos derivadas, seguidas do clado das cyperídeas, composto por Thurniaceae, Juncaceae e Cyperaceae (Linder & Rudall 2005; Givnish et al. 2010). O próximo grupo divergente é o das xyrídeas, que inclui Mayacaceae, Eriocaulaceae e Xyridaceae, seguido das restídeas (Anarthriaceae, Centrolepidaceae e Restionaceae), e das demais Poales, que formam o clado das graminídeas (Flagellariaceae, Joinvilleaceae, Ecdeiocoleaceae e Poaceae) (Linder & Rudall 2005; Givnish et al. 2010).

Dentre esses clados, o das xyrídeas é o que apresenta menos suporte (Linder & Rudall 2005; Givnish et al. 2010). Eriocaulaceae e Xyridaceae aparecem como grupos-irmãos na maioria das análises (Givnish et al. 1999, 2005, 2006; Chase et al. 2000, 2006; Bremer 2002), mas a posição de Mayacaceae ainda é incerta.

Bromeliaceae, Typhaceae e Rapateaceae aparecem como linhagens sucessivas, seguidas das demais Poales (Chase et al. 2000, 2006; Givnish et al. 2010). No entanto, Rapateaceae já foi apontada como menos derivada e grupo-irmão das demais Poales (Bremer 2002; Davis et al. 2004), ou ainda, Bromeliaceae e Typhaceae aparecem como menos derivadas, com Rapateaceae sendo o próximo grupo divergente e irmão das demais Poales (Givnish et al. 2005, 2006).

Além dessas incertezas quanto às relações interfamiliares, muitas famílias de Poales apresentam também problemas em nível infrafamiliar. Um exemplo é Juncaceae, na qual o gênero com maior número de espécies, *Juncus*, é parafilético (Drábková et al. 2003, 2006; Roalson 2005; Drábková 2010).

Nesse contexto, estudos sobre morfologia e anatomia floral mostram-se úteis, levantando caracteres que aproximam ou distanciam as famílias ou os gêneros entre si. No entanto, em Poales, estudos envolvendo dados de anatomia floral foram realizados apenas com representantes de Bromeliaceae (Sajo et al. 2004), Mayacaceae (Carvalho et al. 2009), Xyridaceae (Sajo et al. 1997; Rudall & Sajo 1999), Eriocaulaceae (Rosa & Scatena 2003, 2007), Centrolepidaceae (Sokoloff et al. 2009), Restionaceae (Linder 1992), Ecdeiocoleaceae (Rudall et al. 2005) e Poaceae (Sajo et al. 2007).

Uma característica floral importante é a presença de estruturas nectaríferas, relatada apenas para Bromeliaceae (Sajo et al. 2004), Rapateaceae (Givnish et al. 2000, 2004) e Eriocaulaceae (Rosa & Scatena 2003, 2007). As duas primeiras famílias apresentam nectários septais (apesar de sua estrutura anatômica ainda não ter sido demonstrada para Rapateaceae), enquanto que em Eriocaulaceae o néctar é produzido por apêndices do estilete e pistilódios (Rosa & Scatena 2003, 2007). Nectários septais são comuns nas monocotiledôneas, mas raros em Poales, tendo sido perdidos durante a evolução do grupo (Smets et al. 2000). Sua ocorrência em Bromeliaceae e Rapateaceae não só aproxima essas famílias, como também suporta sua posição basal na ordem.

A ausência de néctar na maioria das Poales e a presença de flores reduzidas, muitas vezes inconspícuas, foram consideradas por muitos anos evidências de que a polinização pelo vento era predominante na ordem (Linder & Rudall 2005). No entanto, o mais recente estudo de filogenia de Poales trata dos aspectos reprodutivos e levanta a hipótese de que a polinização por animais seja predominante na ordem, com várias origens independentes para a polinização pelo vento (Givnish et al. 2010).

Estudos sobre biologia da polinização em Poales foram realizados com representantes de Bromeliaceae (p. ex. Sazima et al. 1989; Wendt et al. 2001; Canela & Sazima 2005; Kaheler et al. 2005; Vosgueritchian & Buzato 2006), Eriocaulaceae (Ramos et al. 2005; Oriani et al. 2009), Cyperaceae (Leppik 1955), Restionaceae (Honig et al. 1992) e Poaceae (Soderstrom & Calderón 1971; Adams et al. 1981; Koshy et al. 2001) e a maioria deles relata a ocorrência de polinização por animais.

Neste contexto, esta tese teve como objetivo estudar a morfologia e anatomia floral de espécies de Rapateaceae, Juncaceae, Mayacaceae e Xyridaceae, bem como aspectos da biologia reprodutiva de espécies de *Abolboda* (Xyridaceae). Pretendeu-se levantar características aplicáveis à taxonomia e filogenia dessas famílias e também de Poales, bem como contribuir para o entendimento dos mecanismos de reprodução das espécies estudadas.

4. LITERATURA CITADA

- Adams DE, Perkins WE, Estes JR. 1981. Pollination systems in *Paspalum dilatatum* Poir. (Poaceae): an example of insect pollination in a temperate grass. *Amer J Bot* 68: 389-394.
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot J Linn Soc* 161: 105-121.
- Bremer K. 2002. Gondwanan evolution of the grass alliance of families (Poales). *Evolution* 56: 1374-1387.
- Canela MBF, Sazima M. 2005. The pollination of *Bromelia antiacantha* (Bromeliaceae) in the southeastern Brazil: ornithophilous versus melittophilous features. *Plant Biol* 7: 411-416.
- Carvalho MLS, Nakamura AT, Sajo MG. 2009. Floral anatomy of Neotropical species of Mayacaceae. *Flora* 204: 220-227.
- Chase MW, Soltis DE, Soltis PS, Rudall PJ, Fay MF, Hahn WH, Sullivan S, Joseph J, Molvray M, Kores PJ, Givnish TJ, Sytsma KJ, Pires JC. 2000. Higher-level systematics of the monocotyledons: an assessment of current knowledge and a new classification. In: Wilson KL, Morrison DA (eds). *Monocots: systematics and evolution*. CSIRO, Melbourne, p.3-16.
- Chase MW, Fay MF, Devey DS, Maurin O, Rønsted N, Davies TJ, Pillon Y, Petersen G, Seberg O, Tamura MN, Asmussen CB, Hilu K, Borsch T, Davis JI, Stevenson DW, Pires JC, Givnish TJ, Sytsma KJ, McPherson MA, Graham SW, Rai HS. 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. *Aliso* 23: 62-74.
- Davis JI, Stevenson DW, Petersen G, Seberg O, Campbell LM, Freudenstein JV, Goldman DH, Hardy CR, Michelangeli FA, Simmons MP, Specht CD, Vergara-Silva F, Gandolfo M. 2004. A phylogeny of the monocots, as inferred from *rbcL* and *atpA* sequence variation, and a comparison of methods for calculating jackknife and bootstrap values. *Syst Bot* 29: 467-510.

- Drábková L. 2010. Phylogenetic relationships within Juncaceae: evidence from five regions of plastid, mitochondrial and nuclear ribosomal DNA, with notes on morphology. In: Seberg O, Petersen G, Barford AS, Davis JI (eds). Diversity, phylogeny, and evolution in the monocotyledons. Arrhus University Press, Denmark, p.389-416.
- Drábková L, Kirschner J, Seberg O, Petersen G, Vlček Č. 2003. Phylogeny of the Juncaceae based on *rbcL* sequences, with special emphasis on *Luzula* DC. and *Juncus* L. Plant Syst Evol 240: 133-147.
- Drábková L, Kirschner J, Vlček Č. 2006. Phylogenetic relationships within *Luzula* DC. and *Juncus* L. (Juncaceae): a comparison of phylogenetic signals of *trnL-trnF* intergenic spacer, *trnL* intron and *rbcL* plastome sequence data. Cladistics 22: 132-143.
- Givnish TJ, Evans TM, Pires JC, Sytsma KJ. 1999. Polyphyly and convergent morphological evolution in Commelinales and Commelinidae: evidence from *rbcL* sequence data. Mol Phyl Evol 12: 60-385.
- Givnish TJ, Evans TM, Zjhra ML, Patterson TB, Berry PE, Sytsma KJ. 2000. Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: evidence from *ndhF* sequences and morphology. Evolution 54: 1915-1937.
- Givnish TJ, Millam KC, Evans TM, Hall JC, Pires JC, Berry PE, Sytsma KJ. 2004. Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American-African disjunctions in Rapateaceae and Bromeliaceae based on *ndhF* sequence data. Int J Plant Sci 165(4 Suppl): 35-54.
- Givnish TJ, Pires JC, Graham SW, McPherson MA, Prince LM, Patterson TB, Rai HS, Roalson EH, Evans TM, Hahn WJ, Millam KC, Meerow AW, Molvray M, Kores PJ, O'Brien HE, Hall JC, Kress WJ, Sytsma KJ. 2005. Repeated evolution of net venation and fleshy fruits among monocots in shaded habitats confirms *a priori* predictions: evidence from an *ndhF* phylogeny. Proc R Soc B 272: 1481-1490.

- Givnish TJ, Pires JC, Graham SW, McPherson MA, Prince LM, Patterson TB, Rai HS, Roalson EH, Evans TM, Hahn WJ, Millam KC, Meerow AW, Molvray M, Kores PJ, O'Brien HE, Hall JC, Kress WJ, Sytsma KJ. 2006. Phylogenetic relationships of monocots based on the highly informative plastid gene *ndhF*: evidence for widespread concerted convergence. *Aliso* 22: 28-51.
- Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, dePamphilis CW, Graham SW, Pires JC, Stevenson DW, Zomlefer WB, Briggs BG, Duvall MR, Moore MJ, Heaney JM, Soltis DE, Soltis PS, Thiele K, Leebens-Mack JH. 2010. Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. *Ann Missouri Bot Gard* 97: 584-616.
- Honig MA, Linder HP, Bond WJ. 1992. Efficacy of wind pollination: pollen load size and natural microgametophyte populations in wind-pollinated *Staberoha banksii* (Restionaceae). *Amer J Bot* 79: 443-448.
- Kaheler M, Varassin IG, Goldenberg R. 2005. Polinização em uma comunidade de bromélias em Floresta Atlântica Alto-montana no Estado do Paraná, Brasil. *Rev Bras Bot* 28: 219-228.
- Kellogg EA, Linder HP. 1995. Phylogeny of Poales. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ (eds). *Monocotyledons: systematics and evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, p.511-542.
- Koshy KC, Harikumar D, Narendran TC. 2001. Insect visits to some bamboos of the Western Ghats, India. *Curr Sci* 81: 833-838.
- Leppik EE. 1955. *Dichromena ciliata*, a noteworthy entomophilous plant among Cyperaceae. *Amer J Bot* 42: 455-458.
- Linder HP. 1992. The gynoecia of Australian Restionaceae: morphology, anatomy and systematic implications. *Aust Syst Bot* 5: 227-245.

- Linder HP, Rudall PJ. 2005. Evolutionary history of Poales. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 36: 107-124.
- Michelangeli FA, Davis JI, Stevenson DW. 2003. Phylogenetic relationships among Poaceae and related families as inferred from morphology, inversions in the plastid genome, and sequence data from the mitochondrial and plastid genomes. *Amer J Bot* 90: 93-106.
- Oriani A, Sano PT, Scatena VL. 2009. Pollination biology of *Syngonanthus elegans* (Eriocaulaceae-Poales). *Aust J Bot* 57: 94-105.
- Ramos COC, Borba EL, Funch LS. 2005. Pollination in Brazilian *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) species: evidence for entomophily instead of anemophily. *Ann Bot* 96: 387-397.
- Roalson EH. 2005. Phylogenetic relationships in the Juncaceae inferred from nuclear ribosomal DNA internal transcribed sequence data. *Int J Plant Sci* 166: 397-413.
- Rosa MM, Scatena VL. 2003. Floral anatomy of *Eriocaulon elichrysoides* and *Syngonanthus caulescens* (Eriocaulaceae). *Flora* 198: 188-199.
- Rosa MM, Scatena VL. 2007. Floral anatomy of Paepalanthoideae (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures. *Ann Bot* 99: 131-139.
- Rudall PJ, Sajo MG. 1999. Systematic position of *Xyris*: flower and seed anatomy. *Int J Plant Sci* 160: 795-808.
- Rudall PJ, Stuppy W, Cunniff J, Kellogg EA, Briggs BG. 2005. Evolution of reproductive structures in grasses (Poaceae) inferred by sister-group comparison with their putative closest living relatives, Ecdiocoleaceae. *Amer J Bot* 92: 1432-1443.
- Sajo MG, Wanderley MGL, Menezes NL. 1997. Observações anatômicas sobre a vascularização floral em *Xyris* L. (Xyridaceae). *Bol Bot Univ São Paulo* 16: 15-20.
- Sajo MG, Rudall PJ, Prychid CJ. 2004. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. *Plant Syst Evol* 247: 215-231.

- Sajo MG, Longhi-Wagner H, Rudall PJ. 2007. Floral development and embryology in the early-divergent grass *Pharus*. *Int J Plant Sci* 168: 181-191.
- Sazima I, Vogel S, Sazima M. 1989. Bat pollination of *Encholirium glaziovii*, a terrestrial bromeliad. *Plant Syst Evol* 168: 167-179.
- Smets EF, Ronse Decraene LP, Caris P, Rudall PJ. 2000. Floral nectaries in monocotyledons: distribution and evolution. In: Wilson KL, Morrison DA (eds). *Monocots: systematics and evolution*. CSIRO, Melbourne, p.230-240.
- Soderstrom TR, Calderón CE. 1971. Insect pollination in tropical rain forest grasses. *Biotropica* 3: 1-16.
- Sokoloff DD, Remizowa MV, Linder HP, Rudall PJ. 2009. Morphology and development of gynoecium in Centrolepidaceae: the most remarkable range of variation in Poales. *Amer J Bot* 96: 1925-1940.
- Soltis DE, Soltis PS, Endress PK, Chase MW. 2005. *Phylogeny and evolution of angiosperms*. Sinauer Associates Inc, Sunderland.
- Vosgueritchian SB, Buzato S. 2006. Reprodução sexuada de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) e interação planta-animal. *Rev Bras Bot* 29: 433-442.
- Wendt T, Canela MBF, Faria APG, Rios RI. 2001. Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bomeliaceae). *Amer J Bot* 88: 1760-1767.

CAPÍTULO 1

Anatomia floral de Rapateaceae brasileiras (Poales): um enfoque taxonômico

(Segundo normas *Plant Systematics and Evolution*)

Anatomia floral de Rapateaceae brasileiras (Poales): um enfoque taxonômico

Aline Oriani - Vera Lucia Scatena

Resumo Estudou-se a anatomia floral de nove espécies brasileiras de Rapateaceae incluídas em: *Cephalostemon* (1 sp.), *Monotrema* (3 spp.), *Rapatea* (2 spp.), *Spathanthus* (2 spp.) e *Stegolepis* (1 sp.), buscando subsídios à taxonomia. São características compartilhadas pelas espécies: tricomas secretores de mucilagem na base de todas as peças florais; sépalas, pétalas, anteras e estilete recobertos por cera de ornamentação estriada; pétalas com células epidérmicas curtas, de paredes sinuosas na face abaxial; anteras tetrasporangiadadas, com células epidérmicas contendo compostos fenólicos; endotécio com espessamento em espiral; ovário tricarpelar, com septos incompletos; óvulos anátropos e bitegmentados; e o mesmo padrão de vascularização das peças florais. Além de caracterizar a família, a anatomia floral também se mostrou útil na delimitação de subfamílias e gêneros. Sépalas com células epidérmicas contendo cristais de sílica; parede da antera madura formada por epiderme, endotécio e camada mediana; ausência de compostos fenólicos na sépala, filete, conectivo e ovário; e células epidérmicas do ápice do estilete com parede periclinal externa espessada suportam Rapateoideae. *Cephalostemon* e *Rapatea* apresentam grande similaridade, corroborando análises filogenéticas que os apontam como grupos-irmãos. *Stegolepis* apresenta muitas características distintas, refletindo maior diversidade do gênero.

Palavras-chave Flor - Monocotiledôneas - Monotremoideae - Rapateoideae

Abstract The floral anatomy of Brazilian species of *Cephalostemon*, *Monotrema*, *Rapatea*, *Spathanthus* and *Stegolepis* was studied with taxonomic purpose. All species studied share mucilage-secreting trichomes between the floral parts; sepals, petals, anthers and style covered by an ornamented cuticle; short epidermal cells, with sinuous walls in the abaxial surface of the petals; tetrasporangiate anthers with phenolic idioblasts in the epidermis; endothecium with spiral thickenings; tricarpelar ovary, with incomplete septa; anatropous, bitegmic ovules; and the same floral vascularization pattern. The floral anatomy is useful not only for characterizing the family, but also in delimiting the subfamilies and genera. Sepals with silica bodies in the epidermal cells; mature anther wall composed of epidermis, endothecium, and middle layer; absence of phenolic idioblasts in the sepals, filaments and ovary; and stylar epidermal cells with thickened external periclinal wall support Rapateoideae. *Cephalostemon* and *Rapatea* show a great number of similarities, corroborating their close relationship indicated in the phylogenetic analyses of the family. *Stegolepis* shows several distinctive characters, probably related to the greater diversity found in the genera.

Keywords Flower - Monocotyledons - Monotremoideae - Rapateoideae

Introdução

Poales compreende 16 famílias, com cerca de 19000 espécies herbáceo-arbustivas (Soltis et al. 2005; APG III 2009). Devido à sua representatividade dentre as monocotiledôneas, a ordem vem sendo amplamente estudada, especialmente sob o ponto de vista filogenético (Linder & Rudall 2005). No entanto, a anatomia floral de seus representantes ainda não foi bem explorada, sendo os estudos restritos a Restionaceae (Linder 1992), Xyridaceae (Rudall & Sajo 1999; Sajo et al. 1997), Eriocaulaceae (Rosa & Scatena 2003, 2007), Bromeliaceae (Sajo et al. 2004), Ecdeiocoleaceae (Rudall et al. 2005), Poaceae (Sajo et al. 2007), Mayacaceae (Carvalho et al. 2009) e Centrolepidaceae (Sokoloff et al. 2009).

Rapateaceae é apontada como basal dentro de Poales (Givnish et al. 2004, 2005, 2006, 2010; Linder & Rudall 2005; Chase et al. 2006) e inclui 16 gêneros e cerca de 80 espécies herbáceas (Maguire 1958; Stevenson et al. 1998). *Stegolepis* é o maior gênero da família, com mais de 30 espécies, seguido de *Rapatea*, com cerca de 20 espécies. Os demais gêneros incluem um número reduzido de espécies, ou são monotípicos (Stevenson et al. 1998).

O centro de diversidade da família encontra-se no Planalto das Guianas. Seus representantes ocorrem exclusivamente na América do Sul, com exceção de *Maschalocephalus* (1 espécie), que é restrito à África Ocidental (Maguire 1958; Stevenson et al. 1998; Givnish et al. 2000). No Brasil, ocorrem sete gêneros e cerca de 20 espécies, distribuídas principalmente na Amazônia (Givnish et al. 2000; Souza & Lorenzi 2005).

Os trabalhos clássicos de taxonomia de Rapateaceae, baseados apenas em caracteres morfológicos como número de óvulos, tipo de placentação e forma da semente, reconhecem duas subfamílias, Rapateoideae e Saxofridericioideae (Maguire 1958; Stevenson et al. 1998). No entanto, de acordo com análises filogenéticas baseadas em dados moleculares, Rapateoideae, que concentra as espécies brasileiras, é parafilética, incluindo as tribos Rapateae e Monotremeae, que são monofiléticas. Rapateae é grupo-irmão das demais Rapateaceae e Monotremeae é grupo-irmão da subfamília Saxofridericioideae (Givnish et al. 2000, 2004,

2007). Frente a isso, Givnish et al. (2004) propuseram a subfamília Monotremoideae, incluindo a tribo Monotremeae e tornando Rapateoideae monofilética. Além desta, outras modificações foram feitas em nível infrafamiliar visando uma classificação mais natural do grupo (Givnish et al. 2004).

Estudos realizados com espécies de Rapateaceae são escassos e, além da taxonomia (Maguire 1958, 1965; Stevenson et al. 1998) e filogenia (Givnish et al. 2000, 2004, 2007), abrangem anatomia de órgãos vegetativos (Carlquist 1966; Tomlinson 1969), embriologia (Tiemann 1985; Venturelli & Bouman 1988) e morfologia polínica (Carlquist 1961). As características anatômicas, embriológicas e palinológicas levantadas nestes trabalhos mostraram-se úteis taxonomicamente, podendo ser usadas na delimitação de tribos e subfamílias.

Assim, esse trabalho teve como objetivo estudar a anatomia floral de espécies de Rapateaceae brasileiras. Procurou-se relacionar a morfoanatomia das flores com a taxonomia do grupo, levantando caracteres florais que poderão ser utilizados em futuras análises filogenéticas da família, bem como de Poales.

Material e métodos

As espécies estudadas foram:

Subfamília Rapateoideae

Tribo Rapateae

Spathanthus bicolor Ducke (Lombardi et al. 7580; HRCB 50718)

Spathanthus unilateralis Desv. (Lombardi et al. 7618; HRCB 50756)

Rapatea paludosa Aubl. (Lombardi et al. 7176; HRCB 49219)

Rapatea ulei Pilg. (Lombardi et al. 7611, 7619; HRCB 50749, 50757)

Cephalostemon squarrosus Körn. (Lombardi et al. 7579; HRCB 50717)

Subfamília Monotremoideae

Tribo Monotremeae

Monotrema affine Maguire (Lombardi et al. 7551, 7591; HRCB 50689, 50729)

Monotrema bracteatum Maguire (Lombardi et al. 7562; HRCB 50700)

Monotrema xyridoides Gleason (Lombardi et al. 7530; HRCB 50668)

Subfamília Saxofridericioideae

Tribo Stegolepidieae

Stegolepis guianensis Klotzsch ex Körn. (Lombardi et al. 7656; HRCB 51996)

Stegolepis guianensis foi coletada nos tepuis do Parque Nacional do Monte Roraima (Roraima). *Rapatea paludosa* foi coletada no sul da Bahia, em área de Mata Atlântica. *Rapatea ulei* e *Spathanthus unilateralis* foram coletadas na Reserva Florestal Adolpho Ducke (Amazonas), no sub-bosque de fragmentos da Floresta Amazônica. As demais espécies foram coletadas no Parque Nacional do Viruá (Roraima), em áreas de campinarana. A coleta das espécies foi baseada na sua ocorrência em território nacional e na disponibilidade de flores em antese. Parte do material coletado foi herborizada, identificada e depositada no Herbarium Rioclarense do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (HRCB), e parte foi fixada para o estudo morfológico e anatômico das flores. Foram estudados no mínimo três indivíduos de cada espécie. A identificação das espécies baseou-se nas chaves diagnósticas de Maguire (1958, 1965) e Berry (2004).

Para a realização do estudo anatômico sob microscopia de luz, flores e/ou inflorescências fixadas em FAA 50 (formaldeído 37%, ácido acético glacial, etanol 50%, 1:1:18 v/v) (Johansen 1940) e estocadas em etanol 70% foram submetidas a um processo de desidratação em série butílica (55%, 70%, 85%, 100%) e transferidas para uma mistura de n-butanol e resina líquida (1:1) por um período de 24 horas (pré-infiltração). Posteriormente, este material foi imerso em solução de infiltração, onde permaneceu por 24 horas, e incluído em historresina Leica (Feder &

O'Brien 1968). O material incluído foi seccionado em micrótomo rotativo (Leica, Reichert-Jung 2040), com 6-8 µm de espessura. As secções anatômicas foram submetidas à coloração com ácido periódico - reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina (Feder & O'Brien 1968) e montadas em lâminas permanentes com Entellan (Merck). Os resultados foram documentados com fotomicrografias obtidas com o programa de digitalização de imagem LAS (Leica Application Suite V3.3.0), utilizando-se capturador de imagens (Leica, DFC 290) acoplado ao microscópio (Leica, DMLB).

Para o estudo ao microscópio eletrônico de varredura (Zeiss, DSM 950), flores fixadas em FAA 50 foram desidratadas em etanol 70% e imersas em FDA (formaldeído-dimetilacetato) por 24 horas (Gerstberger & Leins 1978). Posteriormente, foram submetidas ao ponto crítico em CO₂ líquido (Balzers, CPD 030) e metalizadas em ouro (Bal-Tec, SCD 050). Eletromicrografias foram obtidas a partir do sistema de digitalização de imagens DIPS - Leipzig (Digital Image Processing Software 2.2).

Resultados

Cálice

As espécies estudadas são trímeras, diclamídeas, heteroclamídeas (Figs. 1-2; 4; 7), gamossépalas em *Spathanthus* e *Rapatea* (Fig. 2), e diassépalas nas demais espécies (Fig. 9). As sépalas são lanceoladas em todas as espécies estudadas (Figs. 1-2; 9). Em vista frontal, apresentam células epidérmicas alongadas longitudinalmente, com paredes retas em ambas as faces (Fig. 14), recobertas por cera com ornamentação estriada (Fig. 15).

Em secção transversal, as células da face adaxial da epiderme das sépalas são arredondadas, de paredes celulósicas pouco espessadas, e apresentam lume maior em relação às da face abaxial (Figs. 17-19; 21-22). As células epidérmicas da face abaxial são arredondadas a papilosas, com espessamento de lignina em 'U' (Figs. 17-19; 21-22). Em *Stegolepis* e *Monotrema* ocorrem células com compostos fenólicos em ambas as faces da epiderme (Figs. 18-

19). As sépalas apresentam idioblastos com cristais de sílica em ambas as faces da epiderme em *Spathanthus* e *Rapatea* (Figs. 20-21 - cabeças-de-seta), e apenas na face abaxial em *Cephalostemon* (Fig. 22 - cabeça-de-seta). Tricomas pluricelulares e unisseriados (Fig. 16) ocorrem em ambas as faces da epiderme em *Rapatea* e *Spathanthus* e na face adaxial em *Monotrema*.

O mesofilo é formado por parênquima voltado à face adaxial e tecido de sustentação voltado à face abaxial em *Spathanthus*, *Stegolepis* e *Monotrema* (Figs. 17-19), ou pode apresentar tecido de sustentação logo abaixo da epiderme em ambas as faces, como ocorre em *Rapatea* e *Cephalostemon* (Figs. 21-22). As células do tecido de sustentação podem apresentar paredes muito espessadas, como em *Stegolepis guianensis* (Fig. 18), ou pouco espessadas, como em *Cephalostemon squarrosus* (Fig. 22). O grau de espessamento da parede aumenta da base para o ápice da sépala e com o envelhecimento da flor. Os feixes vasculares são colaterais e em número variado (Figs. 17-19; 21-22).

Corola

A corola é dialipétala em *Monotrema* (Fig. 9) e gamopétala nos demais gêneros (Figs. 1-2; 4-5). A fusão das pétalas ocorre da região basal até a região mediana em *Spathanthus* e *Rapatea* (Fig. 2), e apenas na região basal nas demais espécies gamopétalas (Fig. 5). As pétalas são amarelas, com lâminas lanceoladas em *Monotrema* (Fig. 9) e ovadas a suborbiculares nos demais gêneros (Figs. 1-2; 4-5). Em vista frontal, apresentam células epidérmicas alongadas longitudinalmente, de paredes retas na face adaxial (Fig. 23), e células curtas, de paredes sinuosas na face abaxial (Fig. 26), ambas recobertas por cera com ornamentação estriada.

Em secção transversal, a epiderme da pétala apresenta células arredondadas, de paredes finas e celulósicas em ambas as faces, sendo as da face adaxial com lume maior (Figs. 24-25; 27-28). Apresenta também idioblastos com compostos fenólicos em ambas as faces em *Cephalostemon*, *Stegolepis* e *Monotrema* (Figs. 24-25; 27), distribuídos em toda a extensão da

pétala em *Stegolepis* e *Monotrema*, e apenas na porção apical em *Cephalostemon*. Tricomas pluricelulares e unisseriados ocorrem em ambas as faces da epiderme em *Rapatea* e *Monotrema*, apenas na face abaxial em *Stegolepis* (Fig. 25), e apenas na face adaxial em *Spathanthus* (Fig. 28).

O mesofilo apresenta parênquima (Figs. 24-25; 27-28) e é mais amplo na base das pétalas (Fig. 24) em comparação ao ápice (Fig. 25). Ocorrem idioblastos com compostos fenólicos em *Stegolepis* (Fig. 24). Os feixes vasculares são colaterais e de número variado (Figs. 24-25; 27-28).

Androceu

As flores são monoclinas, com androceu composto por seis estames livres em *Monotrema* (Figs. 7-9) e epipétalos nas demais espécies (Figs. 2-3; 5). A fusão dos filetes às pétalas se dá apenas na base em *Cephalostemon* e *Stegolepis* (Fig. 5), e até a porção apical em *Spathanthus* e *Rapatea* (Fig. 2), formando um tubo juntamente com as pétalas.

Em secção transversal, os filetes apresentam epiderme com células de paredes finas, córtex parenquimático e feixe vascular (Fig. 33). As células epidérmicas apresentam compostos fenólicos na região apical do filete em *Monotrema* (Figs. 8 - seta; 33) e em toda a extensão do filete em *Stegolepis* (Fig. 5). Ocorrem tricomas na região apical do filete em *Rapatea* (Fig. 35).

As anteras são basifixas, com deiscência poricida (Figs. 3; 5-9; 29-30; 36) e tetrasporangiadas (Fig. 37). Diferenciam-se em *Stegolepis* por apresentar aspecto enrugado (Figs. 6; 29) e, em *Rapatea*, por apresentar apêndice na porção apical (Figs. 3; 30-31). Esses apêndices são formados por células epidérmicas papilosas, com compostos fenólicos, e células com espessamento em 'U' logo abaixo da epiderme (Fig. 32). A parede da antera madura é formada por epiderme e endotécio em *Monotrema* e *Stegolepis* (Figs. 39-41); e por epiderme, endotécio e camada mediana nas demais espécies (Figs. 37; 42-44). A epiderme apresenta células arredondadas ou papilosas, de paredes finas (Figs. 40-42; 44), recobertas por cera com

ornamentação estriada (Fig. 34). Essas células apresentam compostos fenólicos, cuja distribuição é diferente entre os gêneros: não ocorre nas margens das anteras em *Monotrema* (Figs. 8; 39); é restrita à face dorsal, na porção apical das anteras em *Rapatea* (Figs. 3 - seta; 43); ocorre em todas as células nos demais gêneros (Figs. 6; 37; 40; 42). Tricomas estão presentes na região basal das anteras de *Monotrema affine* (Fig. 36 - seta). O endotécio apresenta células alongadas tangencialmente, com espessamento em espiral (Figs. 41; 44). A camada mediana é formada por 2-3 camadas de células de paredes finas nas anteras jovens (Fig. 38) e, quando persistentes na antera madura, como ocorre em *Cephalostemon*, *Spathanthus* e *Rapatea* (Figs. 37; 42-43), suas células também apresentam espessamento em espiral (Fig. 44). O tapete é formado por uma camada de células de conteúdo citoplasmático denso, multinucleadas, nas anteras jovens (Fig. 38). Ocorrem idioblastos com compostos fenólicos no tecido conectivo de *Monotrema* e *Stegolepis* (Figs. 39-40).

Gineceu

O ovário é súpero (Figs. 2; 5; 8-12), tricarpelar, sincárpico e trisseptado (Figs. 50-51; 54). Os septos do ovário são incompletos, pois não se fundem na região central do ovário (Figs. 50-51; 54), delimitando um espaço contínuo ao do estilete, que é oco (Fig. 61).

O estilete é simples (Figs. 3 e 6 - cabeça-de-seta; 9). Apresenta um intumescimento na região apical em *Rapatea* (Fig. 3 - cabeça-de-seta). Em *Spathanthus*, apresenta uma contorção na região basal (Fig. 10). Em secção transversal, o estilete apresenta epiderme externa com células alongadas radialmente (Figs. 45-47), com cutícula ornamentada (Fig. 52). Essas células apresentam paredes finas em *Stegolepis* (Fig. 45), paredes periclinais externa e interna espessadas em *Monotrema* (Fig. 46) e apenas parede periclinal externa espessada em *Spathanthus*, *Rapatea* e *Cephalostemon* (Fig. 47), na região apical do estilete. Apresentam também compostos fenólicos (Figs. 45-47), cuja distribuição varia entre os gêneros: é restrita à região apical e intumescida do estilete em *Rapatea* (Fig. 3 - cabeça-de-seta); ocorre nas regiões

apical e mediana do estilete em *Cephalostemon* e *Spathanthus*; e em toda a extensão do estilete em *Stegolepis* (Figs. 5-6) e *Monotrema* (Fig. 8), sendo que neste último a quantidade de células epidérmicas com compostos fenólicos diminui do ápice para a base. O córtex do estilete é formado por parênquima em todas as espécies estudadas (Figs. 45-47), com idioblastos contendo compostos fenólicos com padrão de distribuição igual ao da epiderme. O tecido transmissor é formado por células pequenas, de coloração intensa (Figs. 46-47).

O ovário é arredondado em *Cephalostemon*, *Rapatea* e *Stegolepis* (Figs. 2; 11), piriforme em *Monotrema* (Figs. 8-9) e trilobado em *Spathanthus* (Fig. 10), onde apresenta profundas fendas nas regiões septais (Figs. 54; 56). Em secção transversal, é formado pela epiderme e pelo mesofilo, com duas a três camadas de parênquima (Figs. 48; 50; 53). A epiderme externa apresenta células alongadas radialmente, de paredes anticlinais espessadas em *Cephalostemon* e *Rapatea* (Fig. 49), e de paredes finas nos demais gêneros (Figs. 48; 50; 53). Apresenta cristais na porção apical do ovário em *Cephalostemon* e *Rapatea* (Fig. 49), e tricomas pluricelulares, unisseriados em *Spathanthus unilateralis* (Fig. 55). A epiderme interna apresenta células de paredes finas (Figs. 48; 50; 53). Em *Spathanthus* e *Monotrema*, tricomas secretores unicelulares ocorrem na região central do ovário, no espaço delimitado pelos septos, caracterizando o obturador (Figs. 54; 56-57; 59). Esses tricomas ocorrem também na região onde os óvulos se inserem, ao redor do funículo e próximos à micrópila (Figs. 53 e 59 - seta). Em *Stegolepis*, tricomas secretores de mucilagem estão presentes no interior dos lóculos (Fig. 58). O mesofilo do ovário é formado por parênquima em todas as espécies estudadas (Figs. 48; 50; 53), com idioblastos de compostos fenólicos em *Stegolepis* e *Monotrema* (Figs. 48; 51; 60). Os óvulos são anátropos e bitegmentados (Figs. 59-61), em número de três, com placentação basal em *Rapatea* (Figs. 11; 50), *Monotrema* (Fig. 60) e *Cephalostemon* (Fig. 61); em número de seis, com placentação basal em *Spathanthus* (Figs. 54; 59); e em número variado, com placentação parietal intrusiva em *Stegolepis* (Fig. 51).

Ocorrem tricomas secretores de mucilagem na base de todas as peças florais (Figs. 12 e 62 - setas), que formam camadas de depósito mucilagem entre os verticilos (Figs. 12-13).

Vascularização

Na região basal do receptáculo floral, pode-se observar a presença de dois cilindros vasculares, o externo e o interno (Fig. 63). Do cilindro externo ramificam-se os traços dos feixes laterais das sépalas e pétalas e do cilindro interno ramificam-se traços dos feixes centrais das sépalas e pétalas e traços dos feixes que irão vascularizar o androceu e o gineceu.

O cilindro interno organiza-se em seis complexos vasculares: três sépalo-estamino-carpelar (asteriscos) e três pétalo-estamino-carpelar (cabeças-de-seta) (Figs. 63-64). Do complexo sépalo-estamino-carpelar ramificam-se o traço do feixe central da sépala, o traço do feixe do estame oposto à sépala e o traço do feixe dorsal do carpelo. Do complexo pétalo-estamino-carpelar ramificam-se o traço do feixe central da pétala, o traço do feixe do estame oposto à pétala e o traço do feixe ventral do carpelo (Figs. 64-65).

Os feixes ventrais dos carpelos vascularizam os óvulos (Figs. 53; 60), enquanto os feixes dorsais dos carpelos vascularizam o ovário (Figs. 50; 53) e o estigma (Figs. 45-47). Em *Monotrema* e *Spathanthus*, os feixes ventrais dos carpelos se ramificam e, além de vascularizarem os óvulos, ascendem até a região mediana do ovário, vascularizando a região onde se encontram os tricomas secretores (obturador) (Figs. 56-57).

A Tabela 1 é comparativa e apresenta as características variáveis entre os gêneros.

A Figura 66 apresenta o número de características compartilhadas entre os gêneros, quando comparados dois a dois, excluídas aquelas que são comuns a todas as espécies estudadas.

Tabela 1. Caracteres anatômicos e morfológicos de flores de Rapateaceae com variação intergenérica. **1** – *Spathanthus*, **2** – *Rapatea*, **3** – *Cephalostemon*, **4** – *Stegolepis*, **5** – *Monotrema*. As linhas em vermelho indicam características exclusivas.

Caracteres e estados de caráter		1	2	3	4	5
C Á L I C E	Dialissépala (0); gamossépala (1)	1	1	0	0	0
	Idioblastos com compostos fenólicos em ambas as faces da epiderme: ausente (0); presente (1)	0	0	0	1	1
	Tricomas: ausente (0); em ambas as faces da epiderme (1); apenas na face adaxial (2)	1	1	0	0	2
	Cristais de sílica: ausente (0); em ambas as faces da epiderme (1); apenas na face abaxial (2)	1	1	2	0	0
	Mesofilo dorsiventral (0); isobilateral (1)	0	1	1	0	0
C O R O L A	Pétalas unidas até a região mediana (0); apenas na região basal (1); livres entre si (2)	0	0	1	1	2
	Idioblastos com compostos fenólicos em ambas as faces da epiderme: ausente (0); presente (1)	0	0	1	1	1
	Tricomas: ausente (0); em ambas as faces da epiderme (1); apenas na face adaxial (2); apenas na face abaxial (3)	2	1	0	3	1
	Idioblastos com compostos fenólicos no mesofilo: ausente (0); presente (1)	0	0	0	1	0
	Forma ovada a suborbicular (0); forma lanceolada (1)	0	0	0	0	1
A N D R O C E U	Estames unidos às pétalas (0); estames livres (1)	0	0	0	0	1
	Anteras lisas (0); anteras com aspecto enrugado (1)	0	0	0	1	0
	Apêndice na região apical das anteras: ausente (0); presente (1)	0	1	0	0	0
	Compostos fenólicos em todas as células epidérmicas da antera (0); com distribuição restrita (1)	0	1	0	0	1
	Camada mediana da parede da antera persistente na maturidade (0); efêmera (1)	0	0	0	1	1
	Idioblastos com compostos fenólicos no conectivo: ausente (0); presente (1)	0	0	0	1	1
	Compostos fenólicos nas células epidérmicas do filete: ausente (0); presente (1)	0	0	0	1	1
	Tricomas no filete: ausente (0); presente (1)	0	1	0	0	0
G I N E C E U	Contorção do estilete na região basal: ausente (0); presente (1)	1	0	0	0	0
	Epiderme do estilete com células de paredes periclinais externa e interna espessadas (0); apenas parede periclinal externa espessada (1); paredes finas (2)	1	1	1	2	0
	Idioblastos com compostos fenólicos em toda a extensão do estilete (0); com distribuição restrita (1)	1	1	1	0	0
	Ovário com formato arredondado (0); piriforme (1); trilobado (2)	2	0	0	0	1
	Epiderme externa do ovário com células de paredes finas (0); com células de paredes anticlinais espessadas (1)	0	1	1	0	0
	Cristais na epiderme externa do ovário: ausente (0); presente (1)	0	1	1	0	0
	Compostos fenólicos no mesofilo do ovário: ausente (0); presente (1)	0	0	0	1	1
	Tricomas secretores de mucilagem no interior do lóculo do ovário: ausente (0); presente (1)	0	0	0	1	0
	Obturador: ausente (0); presente (1)	1	0	0	0	1
Lóculos uniovulados (0); biovulados (1); pluriiovulados (2)	1	0	0	2	0	
Placentação basal (0); placentação parietal (1)	0	0	0	1	0	

Discussão

As flores de Rapateaceae caracterizam-se por serem trímeras; diclamídeas; heteroclamídeas; diplostêmones, com anteras basifixas e poricidas; ovário súpero, tricarpelar e estilete simples.

Os resultados da anatomia floral de Rapateaceae mostram que há uniformidade na família, estabelecendo um padrão no qual várias características são compartilhadas pelos gêneros: tricomas secretores de mucilagem na base de todas as peças florais; sépalas, pétalas, anteras e estilete recobertos por cera de ornamentação estriada; pétalas com células epidérmicas curtas, de paredes sinuosas na face abaxial; anteras tetrasporangiadas, com células epidérmicas contendo compostos fenólicos; endotécio com espessamento em espiral; ovário tricarpelar, com septos incompletos; óvulos anátropos, bitegmentados; e vascularização semelhante.

A presença de tricomas secretores de mucilagem na base das peças florais é relatada pela primeira vez em Poales e provavelmente representa uma apomorfia de Rapateaceae. Essa característica pode estar relacionada com o ambiente, uma vez que a família tem seu centro de origem e irradiação no Planalto das Guianas, região com condições ambientais peculiares e com muitos endemismos (Givnish et al. 2004).

A presença de mucilagem recobrimdo as peças florais provavelmente exerce função de proteção frente à intensa radiação solar a que estas flores estão expostas, visto que a maioria dos representantes da família apresenta distribuição restrita a regiões de altitude (Givnish et al. 2004). Devido à sua natureza hidrofílica, a mucilagem retém umidade do ambiente, protegendo os botões florais contra a desidratação. Acredita-se que ela mantém o balanço hídrico das flores, reduzindo a transpiração e permitindo, com isso, que suas células fiquem túrgidas e suas peças tornem-se mais atrativas aos polinizadores (Chapotin et al. 2003). A mucilagem pode ainda conter substâncias tóxicas a insetos, servindo de defesa química contra herbivoria (Trigo & Santos 2000). A ocorrência de mucilagem foi relatada também em flores de Bromeliaceae, porém produzida em canais secretores do receptáculo floral (Sajo et al. 2004). Bromeliaceae e

Rapateaceae tiveram o mesmo centro de origem, no Planalto das Guianas (Givnish et al. 2004), corroborando a interpretação desse caráter como adaptativo ao ambiente.

A presença de cera com ornamentação estriada nas sépalas, pétalas, anteras e estilete também pode corresponder a uma adaptação de Rapateaceae contra a luminosidade excessiva, aumentando a reflexão dos raios solares. Sua presença nestas peças florais talvez esteja ainda associada à polinização, servindo, juntamente com as cores, de atrativo visual aos polinizadores.

Além da coloração amarelada das pétalas conferida pelos cromoplastos, sépalas, filetes, anteras, estilete e ovário podem apresentar coloração alaranjada devido à presença de compostos fenólicos. A distribuição das células com compostos fenólicos nessas peças varia entre os gêneros e, portanto, tem valor taxonômico para a família. Em Poales, idioblastos contendo compostos fenólicos também foram observados nas peças florais de Juncaceae (Oriani et al., dados não publicados), Cyperaceae (Coan et al. 2010) e Restionaceae (Linder et al. 1998) e, como os representantes dessas três famílias crescem em locais de condições adversas, pobres em nutrientes (Balslev 1996; Goetghebeur 1998; Linder et al. 1998; Stevenson et al. 1998), sua presença provavelmente corresponde a uma proteção contra herbivoria. Dentre as funções que os compostos fenólicos podem desempenhar está a atração visual de insetos que podem atuar como polinizadores e a proteção contra estresses abióticos e bióticos, como por exemplo radiações ultravioletas e herbivoria (Harborne 1993).

O fato dos septos dos carpelos não serem fundidos na região mediana do ovário em Rapateaceae é importante para a filogenia do grupo, pois embora o ovário seja trisseptado, resultando no aspecto trilocular, nossos dados demonstram que anatomicamente ele é unilocular em todas as espécies estudadas. Assim, em Poales, acredita-se que em outras famílias cujo ovário é considerado trilocular o mesmo possa ocorrer, sendo o estado de caráter unilocular comum aos representantes do grupo. Ovário tricarpelar e unilocular ocorre também em

Cyperaceae (Goetghebeur 1998), Juncaceae, Mayacaceae e Xyridaceae (Oriani & Scatena, dados não publicados) dentro da ordem.

A ocorrência de obturador em Rapateaceae foi observada apenas em *Spathanthus* e *Monotrema*. O obturador geralmente é um tecido secretor e varia muito morfológica e anatomicamente (Tilton & Horner 1980). Corresponde a uma modificação do tecido transmissor do ovário, com origem na placenta e/ou no funículo, com a provável função de direcionar física e/ou quimicamente o crescimento do tubo polínico à micrópila (Maheshwari 1950; Tilton & Horner 1980; Arbeloa & Herrero 1987; Herrero 2000). Em Rapateaceae, sua ocorrência em gêneros não intimamente relacionados (Givnish et al. 2004) mostra ser esta uma característica provavelmente homoplástica, com pelo menos duas origens independentes dentro da família. Segundo Venturelli e Bouman (1988), obturador ocorre também em *Cephalostemon riedelianus* e corresponde a uma protuberância ao redor do funículo. No entanto, tal estrutura não foi observada em *Cephalostemon squarrosus*, espécie aqui estudada. Em Poales, a ocorrência de obturador foi relatada também para Juncaceae (Oriani et al., dados não publicados), Cyperaceae (Goetghebeur 1998; Coan et al. 2008) e Mayacaceae (Oriani & Scatena, dados não publicados), porém com origens diferentes.

O estudo da anatomia floral de Rapateaceae, de forma geral, não revelou características exclusivas em nível específico, mas mostrou-se útil na delimitação de gêneros e subfamílias. São características exclusivas das espécies a presença de tricomas no ápice do ovário de *Spathanthus unilateralis* e na base das anteras de *Monotrema affine*. São características diagnósticas dos gêneros: *Spathanthus* - tricomas na face adaxial da epiderme nas pétalas; estilete contorcido na região basal; ovário trilobado, com fendas nas regiões septais; e lóculos biovulados. *Rapatea* - apêndice na região apical das anteras; tricomas nos filetes; e células com compostos fenólicos apenas na região apical do estilete. *Cephalostemon* - cristais apenas na face abaxial da epiderme das sépalas. *Stegolepis* - tricomas na face abaxial da epiderme e idioblastos contendo compostos fenólicos no mesofilo das pétalas; anteras com aspecto

enrugado; epiderme do estilete com células de paredes finas; tricomas secretores de mucilagem no interior dos lóculos do ovário; e lóculos pluriovulados, com placentação parietal intrusiva. *Monotrema* - tricomas apenas na face adaxial da epiderme das sépalas; pétalas livres entre si, com forma lanceolada; estames livres; e epiderme do estilete com células de paredes periclinais externa e interna espessadas.

Nas chaves de identificação da família e nas análises filogenéticas que usam dados morfológicos, *Spathanthus* é considerado gênero com lóculos uniovulados, sendo casual a ocorrência de dois óvulos por lóculo (Maguire 1958, 1965; Givnish et al. 2000, 2004; Berry 2004). No entanto, em todos os indivíduos de *Spathanthus* analisados neste trabalho e no trabalho de Venturelli & Boumann (1988), os lóculos apresentaram-se biovulados, característica diagnóstica do gênero. Em Rapateaceae, lóculos uniovulados, com placentação basal ocorrem em grupos menos derivados, como Rapateoideae, enquanto lóculos pluriovulados, com placentação parietal intrusiva ocorrem nos gêneros mais derivados, como *Stegolepis* (Givnish et al. 2004).

A presença de ovário trilobado, com fendas nas regiões septais em *Spathanthus* também é uma característica que merece atenção, visto que estas fendas foram interpretadas por Venturelli & Boumann (1988) como nectários septais abertos. No entanto, de acordo com os dados obtidos neste trabalho, essas fendas não correspondem a nectários septais, uma vez que não apresentam características anatômicas de nectários, como vascularização abundante e células epidérmicas com características de secretoras.

A ocorrência de nectários septais é um dos caracteres florais usados nas análises filogenéticas de Rapateaceae, bem como de Poales. Esses nectários são comuns em monocotiledôneas (Daumann 1970; Fahn 1979), mas foram perdidos durante a evolução de Poales, sendo relatados apenas para Bromeliaceae e Rapateaceae, dando suporte à posição basal dessas famílias na ordem (Linder & Rudall 2005).

Em Bromeliaceae, os nectários septais ocorrem em todos os seus representantes (Böhme 1988; Bernardello et al. 1991; Sajo et al. 2004). Em Rapateaceae, embora sua ocorrência já tivesse sido relatada para *Spathanthus unilateralis* (Venturelli & Bouman, 1988), nas análises filogenéticas que usam dados morfológicos a presença de nectários septais é considerada apenas para os gêneros da tribo Schoenocephalideae: *Guacamaya*, *Kunhardtia* e *Schoenocephalium* (Givnish et al. 2000, 2004), na qual aparece como sinapomorfia. Os dados obtidos neste trabalho corroboram as análises filogenéticas da família, embora estudos com representantes de Schoenocephalideae sejam necessários a fim de se caracterizar anatomicamente os nectários septais de Rapateaceae. Segundo Givnish et al. (2000), a ocorrência de nectários septais e corola tubular para acúmulo do néctar são algumas das adaptações à polinização por beija-flores que sugeriram em Schoenocephalideae. Para as espécies estudadas neste trabalho, frente às suas características florais, acredita-se que a polinização seja realizada por abelhas, que utilizam o pólen como recompensa floral. Abelhas foram observadas visitando flores de *Stegolepis guianensis* durante nosso trabalho de campo e, além disso, Renner (1989) relatou polinização por abelhas em espécies de *Saxofridericia* e *Stegolepis*.

Dentre os gêneros estudados neste trabalho, *Stegolepis* foi o que mais se diferenciou. A ocorrência de maior número de características diagnósticas provavelmente reflete a maior diversidade encontrada no gênero, que é o mais rico em número de espécies da família (Stevenson et al. 1998). A irradiação de *Stegolepis* nos tepuis foi um dos fatores que facilitou seu isolamento e rápida especiação (Givnish et al. 2000). Uma de suas características distintivas é a ocorrência de tricomas secretores de mucilagem no interior dos lóculos do ovário, que além de ter significado taxonômico apresenta valor adaptativo.

Tricomas secretores de mucilagem intraovarianos foram relatados para representantes de diversas famílias de monocotiledôneas como Araceae (French 1987), Musaceae (Kirchoff 1992), Hydrocharitaceae, Pandanaceae (Buzgó 1994) e Hanguanaceae (Rudall et al. 1999), mas para Rapateaceae, bem como para Poales, sua ocorrência é inédita. Eles foram relacionados ao

hábito aquático e à presença de óvulos ortótopos, com placentação laminar (Endress 1994, 1995; Rudall et al. 1998), características ausentes em Rapateaceae. No entanto, atribui-se a esses tricomas a mesma função que provavelmente exercem nas demais monocotiledôneas, que é preencher os lóculos do ovário com mucilagem, criando meio propício para o crescimento do tubo polínico do canal estilar até a micrópila (Dalmer 1880; Rudall et al. 1998). A ausência de tricomas intraovarianos nos demais gêneros de Rapateaceae estudados pode estar relacionada à ocorrência de lóculos uniovulados, com óvulos grandes que preenchem todo o espaço locular. O mesmo ocorre em Araceae, na qual somente os gêneros que possuem lóculos pluriovulados, com óvulos pequenos, apresentam tricomas secretores de mucilagem intraovarianos (French 1987). A ocorrência desses tricomas em Musaceae (Zingiberales), em Hanguanaceae (Commelinales) e agora em Rapateaceae (Poales) também indica ser esta uma característica homoplástica nas commelinídeas, com várias origens independentes.

Comparando-se os gêneros de Rapateaceae, *Rapatea* e *Cephalostemon* são os que compartilham maior número de características (13 caracteres), seguidos de *Stegolepis*-*Monotrema* (12 caracteres), *Spathanthus*-*Rapatea* (12 caracteres) e *Spathanthus*-*Cephalostemon* (8 caracteres). O compartilhamento de características entre *Stegolepis* e *Monotrema* não reflete as análises filogenéticas baseadas em dados moleculares, nem a taxonomia do grupo, visto que estes dois gêneros pertencem a clados diferentes, não apontados como grupos-irmãos (Givnish et al. 2000; 2004).

Já a similaridade de *Rapatea* e *Cephalostemon* corrobora diferentes análises filogenéticas da família baseadas em dados moleculares e morfológicos, nas quais os dois gêneros sempre aparecem como grupos-irmãos (Givnish et al. 2000, 2004, 2007). *Spathanthus* também é apontado como grupo-irmão do clado formado por *Rapatea* e *Cephalostemon*, gêneros que juntos formam a tribo Rapateae e a subfamília Rapateoidea (Givnish et al. 2004, 2007). Os dados anatômicos também se mostraram úteis para caracterizar essa subfamília, sendo caracteres compartilhados pelos três gêneros: células epidérmicas contendo cristais de sílica nas

sépalas; ausência de compostos fenólicos nas sépalas, filete, conectivo e ovário; parede da antera madura formada por epiderme, endotécio e camada mediana; e células epidérmicas com parede periclinal externa espessada no estilete, que apresenta células com compostos fenólicos com distribuição restrita.

Carlquist (1966), que estudou a anatomia de raízes e caules de várias espécies de Rapateaceae, também aponta a ocorrência de cristais de sílica nos caules como característica de Rapateaceae. Em commelinídeas, corpos silicosos ocorrem em todos os representantes de Arecales, Dasypogonaceae e Zingiberales e em alguns representantes de Commelinales e Poales, correspondendo provavelmente a uma sinapomorfia do grupo (Prychid et al. 2003).

A ocorrência de camada mediana persistente na antera madura nas espécies de Rapateoideae e efêmera em *Monotrema* e *Stegolepis* também merece atenção, visto que, segundo Venturelli e Bouman (1988), camada mediana persistente é característica diagnóstica da família.

O fato das espécies de *Monotrema* compartilharem poucos caracteres com as espécies de Rapateoideae também é importante, pois suporta a subfamília Monotremoideae, antes considerada uma tribo de Rapateoideae.

Em um contexto mais amplo, o estudo da anatomia floral de espécies de Rapateaceae pode contribuir ainda para o esclarecimento das relações interfamiliares em Poales. Características como flores trímeras, diclamídeas, heteroclamídeas, monoclinas, diplostêmones, com anteras tetrasporangiadas, ovário tricarpelar e óvulos anátropos, bitegumentados são compartilhadas por Rapateaceae e Bromeliaceae, consolidando a estreita relação dessas famílias apontada nas análises filogenéticas e sua posição basal em relação às demais Poales (Linder & Rudall 2005; Givnish et al. 2010).

Agradecimentos As autoras agradecem ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processos: 141582/2007-3, 302105/2007-7 e 471202/2008-8) pelo auxílio financeiro, ao Dr. Julio Antonio Lombardi pelo auxílio na coleta e identificação das espécies e ao Dr. Thomas Stützel pelo uso do microscópio eletrônico de varredura do Lehrstuhl für Evolution und Biodiversität der Pflanzen, Ruhr-Universität Bochum.

Referências

- Arbeloa A, Herrero M (1987) The significance of the obturator in the control of pollen tube entry into the ovary in peach (*Prunus persica*). *Ann Bot* 60:681-685
- APG III (2009) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot J Linn Soc* 161:105-121
- Balslev H (1996) Juncaceae. *Fl Neotrop Monogr* 68:1-167
- Bernardello LM, Galetto L, Juliani HR (1991) Floral nectar, nectary structure and pollinators in some Argentinean Bromeliaceae. *Ann Bot* 67:401-411
- Berry PE (2004) Rapateaceae. In: Berry PE, Yatskievych K, Holst BK (eds). *Flora of the Venezuelan Guayana*, vol 8: Poaceae-Rubiaceae, Missouri Botanical Garden Press, St Louis. pp 413-472
- Böhme S (1988) Bromelienstudien III. Vergleichende Untersuchungen zu Bau, Lage und Systematischer Verwertbarkeit der Septalnektarien von Bromeliaceen. *Trop. Subtrop. Pflanzenwelt* 62:119-274
- Buzgó M (1994) Inflorescence development of *Pistia stratiotes* (Araceae). *Bot Jahrb Syst* 115:557-570
- Carlquist S (1961) Pollen morphology of Rapateaceae. *Aliso* 5:39-66
- Carlquist S (1966) Anatomy of Rapateaceae - roots and stems. *Phytomorphology* 16:17-38
- Carvalho MLS, Nakamura AT, Sajo MG (2009) Floral anatomy of Neotropical species of Mayacaceae. *Flora* 204:220-227

- Chapotin SM, Holbrook NM, Morse SR, Gutiérrez MV (2003) Water relations of tropical dry forest flowers: pathways for water entry and the role of extracellular polysaccharides. *Plant Cell Environ* 26:623-630.
- Chase MW, Fay MF, Devey DS, Maurin O, Rønsted N, Davies TJ, Pillon Y, Petersen G, Seberg O, Tamura MN, Asmussen CB, Hilu K, Borsch T, Davis JI, Stevenson DW, Pires JC, Givnish TJ, Sytsma KJ, McPherson MA, Graham SW, Rai HS (2006) Multigene analyses of monocot relationships: a summary. *Aliso* 23:62-74
- Coan AI, Alves MV, Scatena VL (2008) Comparative study of ovule and fruit development in species of *Hypolytrum* and *Rhynchospora* (Cyperaceae, Poales). *Plant Syst Evol* 272:181-195
- Coan AI, Alves MV, Scatena VL (2010) Evidence of pseudomonad pollen formation in *Hypolytrum* (Mapanioideae, Cyperaceae). *Aust J Bot* 58:663-672
- Dalmer M (1880) Ueber die Leitung der Pollenschläuche bei den Angiospermen. *Jena Z Naturwiss* 14:530-566.
- Daumann E (1970) Das Blütennektarium de Monocotyledonen unter besonderer Berücksichtigung seiner systematischen und phylogenetischen Bedeutung. *Feddes Repert* 80:463-590
- Endress PK (1994) Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances. *Plant Syst Evol* 192:79-97
- Endress PK (1995) Major evolutionary traits of monocot flowers. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ (eds). *Monocotyledons: systematics and evolution*, Royal Botanic Garden, Kew. pp 43-79
- Fahn A (1979) *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London
- Feder N, O'Brien TP (1968) Plant microtechnique: some principles and new methods. *Amer J Bot* 55:123-142
- French JC (1987) Structure of ovular and placental trichomes of Araceae. *Bot Gaz* 148:198-208

- Gerstberger P, Leins P (1978) Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae) - Anwendung einer neuen Präparationsmethode. *Ber Deut Bot Ges* 91:381-387
- Givnish TJ, Evans TM, Zjhra ML, Patterson TB, Berry PE, Sytsma KJ (2000) Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: evidence from *ndhF* sequences and morphology. *Evolution* 54:1915-1937
- Givnish TJ, Millam KC, Evans TM, Hall JC, Pires JC, Berry PE, Sytsma KJ (2004) Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American-African disjunctions in Rapateaceae and Bromeliaceae based on *ndhF* sequence data. *Int J Plant Sci* 165(4 Suppl):35-54
- Givnish TJ, Pires JC, Graham SW, McPherson MA, Prince LM, Patterson TB, Rai HS, Roalson EH, Evans TM, Hahn WJ, Millam KC, Meerow AW, Molvray M, Kores PJ, O'Brien HE, Hall JC, Kress WJ, Sytsma KJ (2005) Repeated evolution of net venation and fleshy fruits among monocots in shaded habitats confirms *a priori* predictions: evidence from an *ndhF* phylogeny. *Proc R Soc B* 272:1481-1490
- Givnish TJ, Pires JC, Graham SW, McPherson MA, Prince LM, Patterson TB, Rai HS, Roalson EH, Evans TM, Hahn WJ, Millam KC, Meerow AW, Molvray M, Kores PJ, O'Brien HE, Hall JC, Kress WJ, Sytsma KJ (2006). Phylogenetic relationships of monocots based on the highly informative plastid gene *ndhF*: evidence for widespread concerted convergence. *Aliso* 22:28-51
- Givnish TJ, Millam KC, Berry PE, Sytsma KJ (2007) Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso* 23:3-26
- Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, dePamphilis CW, Graham SW, Pires JC, Stevenson DW, Zomlefer WB, Briggs BG, Duvall MR, Moore MJ, Heaney JM, Soltis DE, Soltis PS, Thiele K, Leebens-Mack JH (2010) Assembling the tree of the

- monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. *Ann Missouri Bot Gard* 97:584-616
- Goetghebeur P (1998) Cyperaceae. In: Kubitzki K (ed). *The families and genera of vascular plants - IV Monocotyledons*, Springer Verlag, Berlin. pp 141-190
- Harborne J (1993) *Introduction to ecological biochemistry*. Academic Press, London
- Herrero M (2000) Changes in the ovary related to pollen tube guidance. *Ann Bot* 85:79-85
- Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. Mc Graw-Hill Book Co, New York
- Kirchoff BK (1992) Ovary structure and anatomy in the Heliconiaceae and Musaceae (Zingiberales). *Can J Bot* 70:2490-2508
- Linder HP (1992) The gynoecia of Australian Restionaceae: morphology, anatomy and systematic implications. *Aust Syst Bot* 5:227-245
- Linder HP, Rudall PJ (2005) Evolutionary history of Poales. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 36:107-124
- Linder HP, Briggs BG, Johnson LAS (1998) Restionaceae. In: Kubitzki K (ed). *The families and genera of vascular plants - IV Monocotyledons*, Springer Verlag, Berlin. pp 425-445
- Maguire B (1958) Rapateaceae. *The botany of the Guayana Highland*. Part III. *Mem N Y Bot Gard* 10:19-49
- Maguire B (1965) Rapateaceae. *The botany of the Guayana Highland*. Part VI. *Mem N Y Bot Gard* 12:69-102
- Maheshwari P (1950) *An introduction to the embryology of angiosperms*. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York
- Prychid CJ, Rudall PJ, Gregory M (2003) Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. *Bot Rev* 69:377-440
- Renner S (1989) Floral biological observations on *Heliamphora tatei* (Sarraceniaceae) and other plants from Cerro de la Neblina in Venezuela. *Plant Syst Evol* 163:21-30

- Rosa MM, Scatena VL (2003) Floral anatomy of *Eriocaulon elichrysoides* and *Syngonanthus caulescens* (Eriocaulaceae). *Flora* 198:188-199
- Rosa MM Scatena VL (2007) Floral anatomy of Paepalanthoideae (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures. *Ann Bot* 99:131-139
- Rudall PJ, Sajo MG (1999) Systematic position of *Xyris*: Flower and seed anatomy. *Int J Plant Sci* 160:795-808
- Rudall PJ, Prychid CJ, Jones C (1998) Intra-ovarian trichomes, mucilage secretion and hollow styles in monocotyledons. In: Owens SJ, Rudall PJ (eds). *Reproductive biology*, Royal Botanic Garden, Kew. pp 219-230
- Rudall PJ, Stevenson DW, Linder HP (1999) Structure and systematics of *Hanguana*, a monocotyledon of uncertain affinity. *Aust Syst Bot* 12:311-330
- Rudall PJ, Stuppy W, Cunniff J, Kellogg EA, Briggs BG (2005) Evolution of reproductive structures in grasses (Poaceae) inferred by sister-group comparison with their putative closest living relatives, Ecdeiocoleaceae. *Amer J Bot* 92:1432-1443
- Sajo MG, Wanderley MGL, Menezes NL (1997) Observações anatômicas sobre a vascularização floral em *Xyris* L. (Xyridaceae). *Bol Bot Univ São Paulo* 16:15-20
- Sajo MG, Rudall PJ, Prychid CJ (2004) Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. *Plant Syst Evol* 247:215-231
- Sajo MG, Longhi-Wagner H, Rudall PJ (2007) Floral development and embryology in the early-divergent grass *Pharus*. *Int J Plant Sci* 168:181-191
- Sokoloff DD, Remizowa MV, Linder HP, Rudall PJ (2009) Morphology and development of gynoecium in Centrolepidaceae: the most remarkable range of variation in Poales. *Amer J Bot* 96:1925-1940
- Soltis DE, Soltis PS, Endress PK, Chase MW (2005) *Phylogeny and evolution of angiosperms*. Sinauer Associates Inc, Sunderland

- Souza VC, Lorenzi H (2005) Botânica sistemática. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- Stevenson DW, Colella M, Boom B (1998) Rapateaceae. In: Kubitzki K (ed). The families and genera of vascular plants - IV Monocotyledons, Springer Verlag, Berlin. pp 415-424
- Tiemann A (1985) Untersuchungen zur Embryologie, Blütenmorphologie und Systematik der Rapateaceen und der Xyridaceen-Gattung *Abolboda* (Monocotyledoneae). Diss Bot 82:1-201
- Tilton VR, Horner HTJr (1980) Stigma, style, and obturator of *Ornithogalum caudatum* (Liliaceae) and their function in the reproductive process. Amer J Bot 67:1113-1131
- Tomlinson S (1969) Commelinales-Zingiberales. In: Metcalfe CR (ed). Anatomy of the monocotyledons, Oxford University Press, London. pp 130-145
- Trigo JR, Santos WF (2000) Insect mortality in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae) flowers. Braz J Biol 60: 537-538
- Venturelli M, Bouman F (1988) Development of ovule and seed in Rapateaceae. Bot J Linn Soc 97:267-294.

Legendas

Figs. 1-13 Aspectos morfológicos de flores de Rapateaceae. **Figs. 1-3** *Rapatea ulei*: inflorescência (**Fig. 1**) e detalhe da flor (**Fig. 2**), do estilete (*cabeça-de-seta*) e das anteras, com apêndices e idioblastos com compostos fenólicos no ápice (*seta*) (**Fig. 3**). **Figs. 4-6** *Stegolepis guianensis*: inflorescência (**Fig. 4**) e detalhe da flor (**Fig. 5**), das anteras e do estilete (*cabeça-de-seta*) (**Fig. 6**). **Fig. 7** Inflorescência de *Monotrema xyridoides*. **Fig. 8** Detalhe da flor de *Monotrema affine*, mostrando idioblastos com compostos fenólicos no ápice do filete (*seta*). **Fig. 9** Eletromicrografia da flor de *Monotrema bracteatum*. **Fig. 10** Detalhe do gineceu de *Spathanthus unilateralis*, mostrando contorção do estilete na região basal. **Fig. 11** Detalhe do ovário de *Rapatea ulei*, mostrando placentação basal dos óvulos. **Figs. 12-13** Eletromicrografia da flor de *Monotrema bracteatum*, com mucilagem (*setas*) entre os verticilos (**Fig. 12**), e detalhe da mucilagem entre os tricomas, em vista frontal (**Fig. 13**). Símbolos: *Ap* apêndice, *P* pétala, *S* sépala. **Fig. 1, Fig. 4, Fig. 7** = 6 mm; **Fig. 2, Fig. 5** = 4 mm; **Fig. 3** = 800 µm; **Fig. 6** = 1.5 mm; **Figs. 8-9** = 500 µm; **Fig. 10** = 400 µm; **Fig. 11** = 1 mm; **Fig. 12** = 200 µm; **Fig. 13** = 20 µm.

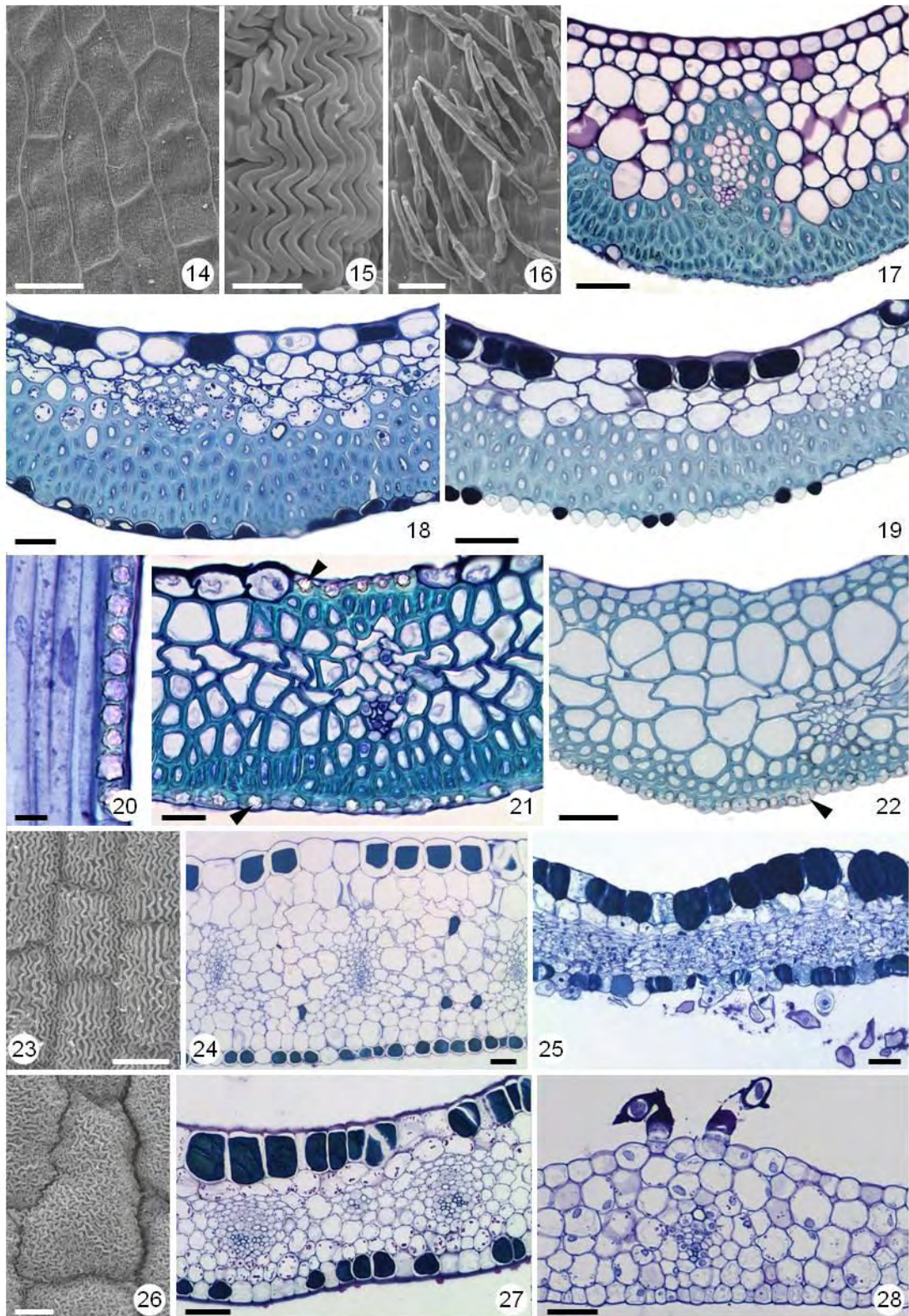
Figs. 14-28 Aspectos anatômicos de cálice e corola de flores de Rapateaceae. **Figs. 14-15** *Rapatea ulei*: eletromicrografia da epiderme adaxial da sépala (**Fig. 14**), com detalhe da cutícula ornamentada (**Fig. 15**). **Fig. 16** Detalhe da epiderme abaxial da sépala de *Spathanthus unilateralis*, com tricomas pluricelulares, unisseriados. **Figs. 17-19** Secções transversais da sépala de: *Spathanthus unilateralis* (**Fig. 17**), *Stegolepis guianensis* (**Fig. 18**) e *Monotrema bracteatum* (**Fig. 19**). **Fig. 20** Detalhe da sépala de *Rapatea ulei* em secção longitudinal, com cristais de sílica na epiderme. **Figs. 21-22** Secções transversais da sépala de: *Rapatea ulei*, com cristais de sílica (*cabeças-de-seta*) em ambas as faces da epiderme (**Fig. 21**), e *Cephalostemon squarrosus*, com cristais de sílica (*cabeça-de-seta*) apenas na face abaxial da epiderme (**Fig. 22**). **Fig. 23** Eletromicrografia da epiderme adaxial da pétala de *Monotrema bracteatum*. **Figs. 24-25** Secções transversais da pétala de *Stegolepis guianensis* na região basal e apical, respectivamente. **Fig. 26** Eletromicrografia da epiderme abaxial da pétala de *Stegolepis guianensis*. **Figs. 27-28** Secções transversais da pétala de: *Monotrema affine* (**Fig. 27**) e *Spathanthus bicolor* (**Fig. 28**). **Fig. 14, Figs. 17-19, Fig. 22, Fig. 25, Figs. 27-28** = 40 µm; **Fig. 15** = 5 µm; **Fig. 16, Fig. 24** = 100 µm; **Fig. 20, Fig. 23, Fig. 26** = 10 µm; **Fig. 21** = 20 µm.

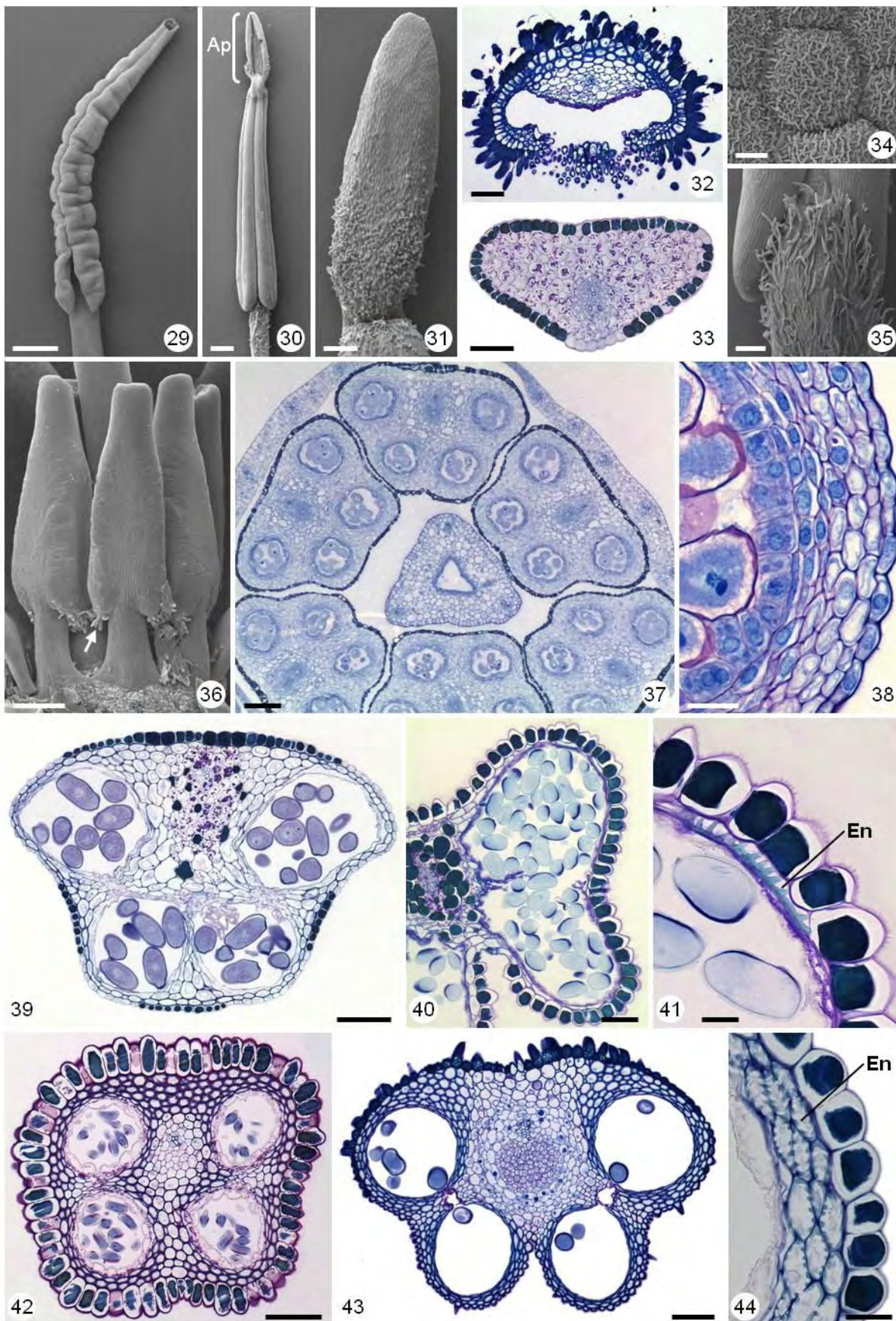
Figs. 29-44 Aspectos anatômicos de androceu de flores de Rapateaceae. **Figs. 29-31** Eletromicrografias das anteras de: *Stegolepis guianensis* (**Fig. 29**) e *Rapatea ulei* (**Fig. 30**), com detalhe do apêndice (**Fig. 31**). **Figs. 32-33** Secções transversais de: apêndice da antera de

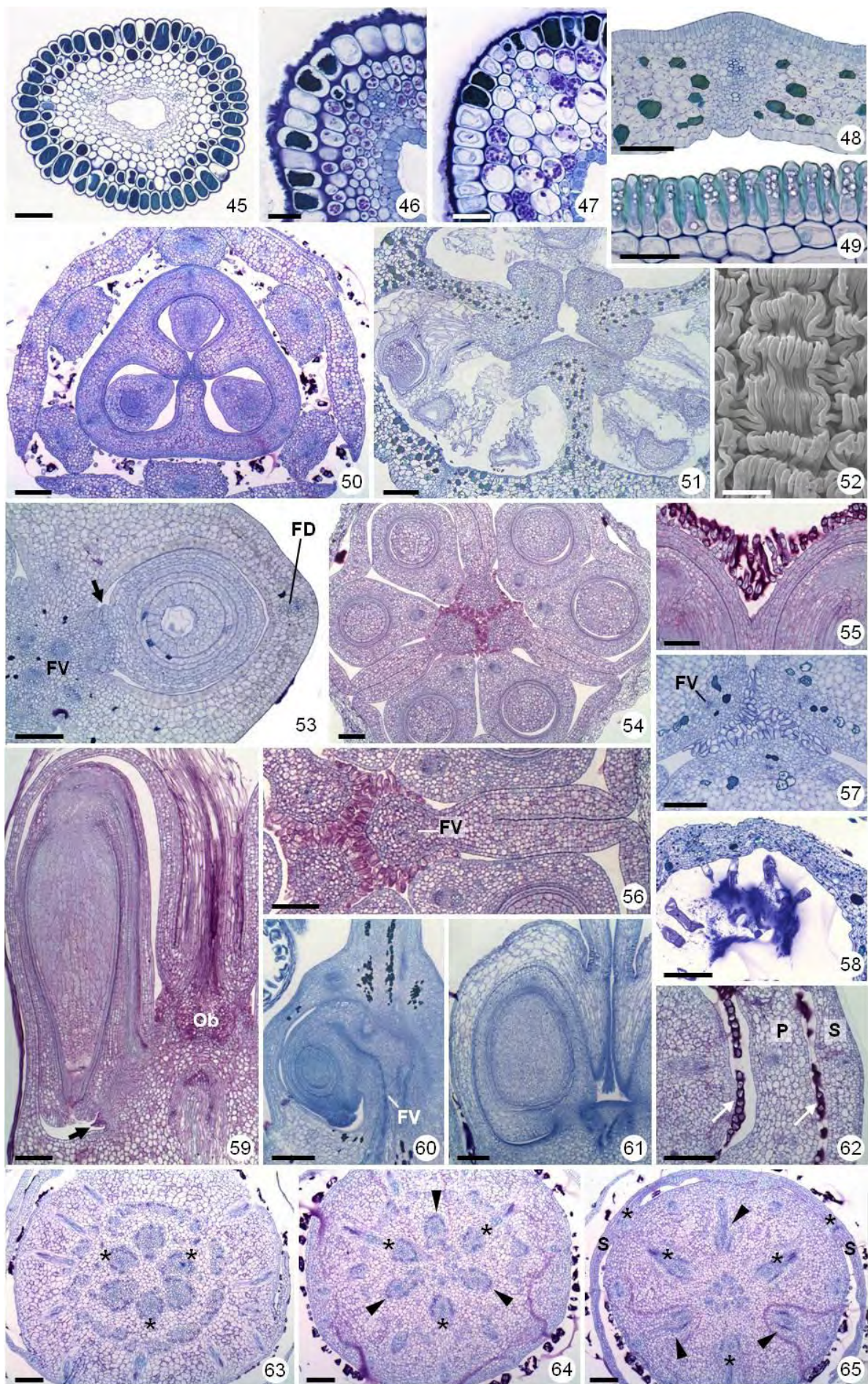
Rapatea ulei (Fig. 32); filete de *Monotrema xyridoides* (Fig. 33). Figs. 34-36 Eletromicrografias de: epiderme da antera de *Stegolepis guianensis*, com cutícula ornamentada (Fig. 34); porção apical do filete de *Rapatea ulei*, com tricomas (Fig. 35); androceu de *Monotrema affine*, com tricomas na base das anteras (*seta*) (Fig. 36). Figs. 37-44 Secções transversais de: flor de *Cephalostemon squarrosus* (Fig. 37); parede da antera jovem de *Rapatea paludosa* (Fig. 38); antera de *Monotrema bracteatum* (Fig. 39); antera de *Stegolepis guianensis* (Fig. 40), com detalhe da parede da antera madura, mostrando espessamento do endotécio (Fig. 41); antera de *Spathanthus unilateralis* (Fig. 42); antera de *Rapatea ulei* (Fig. 43), com detalhe da parede da antera madura, mostrando espessamento do endotécio e da camada mediana (Fig. 44). Símbolos: *Ap* apêndice. Fig. 29 = 1 mm; Fig. 30 = 500 µm; Fig. 31, Figs. 35-36 = 200 µm; Figs. 32-33, Figs. 39-40, Figs. 42-43 = 70 µm; Fig. 34 = 10 µm; Fig. 37 = 100 µm; Fig. 38, Fig. 41, Fig. 44 = 20 µm.

Figs. 45-65 Aspectos anatômicos de gineceu de flores de Rapateaceae. Figs. 45-51 Secções transversais de: estilete de *Stegolepis guianensis* (Fig. 45); detalhe do estilete de *Monotrema affine* (Fig. 46) e de *Cephalostemon squarrosus* (Fig. 47); detalhe da epiderme da parede do ovário de *Stegolepis guianensis* (Fig. 48) e de *Rapatea ulei*, com cristais de sílica (Fig. 49); flor de *Rapatea paludosa* (Fig. 50); ovário de *Stegolepis guianensis*, com óvulos de placentação parietal intrusiva (Fig. 51). Fig. 52 Eletromicrografia da epiderme do estilete de *Monotrema affine*, com cutícula ornamentada. Figs. 53-54 Secções transversais do ovário de: *Monotrema bracteatum*, com obturador (*seta*) (Fig. 53), e *Spathanthus bicolor* (Fig. 54). Fig. 55 Ápice do ovário de *Spathanthus unilateralis* em secção longitudinal, com tricomas. Figs. 56-58 Secções transversais do ovário de: *Spathanthus bicolor*, com fenda septal e obturador (Fig. 56), *Monotrema affine*, com obturador (Fig. 57), e *Stegolepis guianensis*, com tricomas secretores de mucilagem (Fig. 58). Figs. 59-61 Secções longitudinais do ovário de: *Spathanthus bicolor*, com obturador (*seta*) e óvulo anátropo, de placentação basal (Fig. 59), *Monotrema xyridoides*, mostrando vascularização do óvulo pelo feixe ventral do carpelo (Fig. 60), e *Cephalostemon squarrosus*, mostrando os carpelos não fundidos na região central do ovário (Fig. 61). Fig. 62 Secção transversal da flor de *Spathanthus bicolor*, com tricomas de mucilagem entre os verticilos (*setas*). Figs. 63-65 Secções transversais do receptáculo floral de *Rapatea paludosa* em diferentes alturas, mostrando a vascularização (*asteriscos*: complexos sépalo-estamino-carpelar, *cabeças-de-seta*: complexos pétalo-estamino-carpelar). Símbolos: *FD* feixe dorsal do carpelo, *FV* feixe ventral do carpelo, *Ob* obturador, *P* pétala, *S* sépala. Fig. 45, Fig. 48, Figs. 53-58 = 100 µm; Figs. 46-47, Fig. 49 = 30 µm; Fig. 50, Figs. 59-65 = 150 µm; Fig. 51 = 300 µm; Fig. 52 = 10 µm.









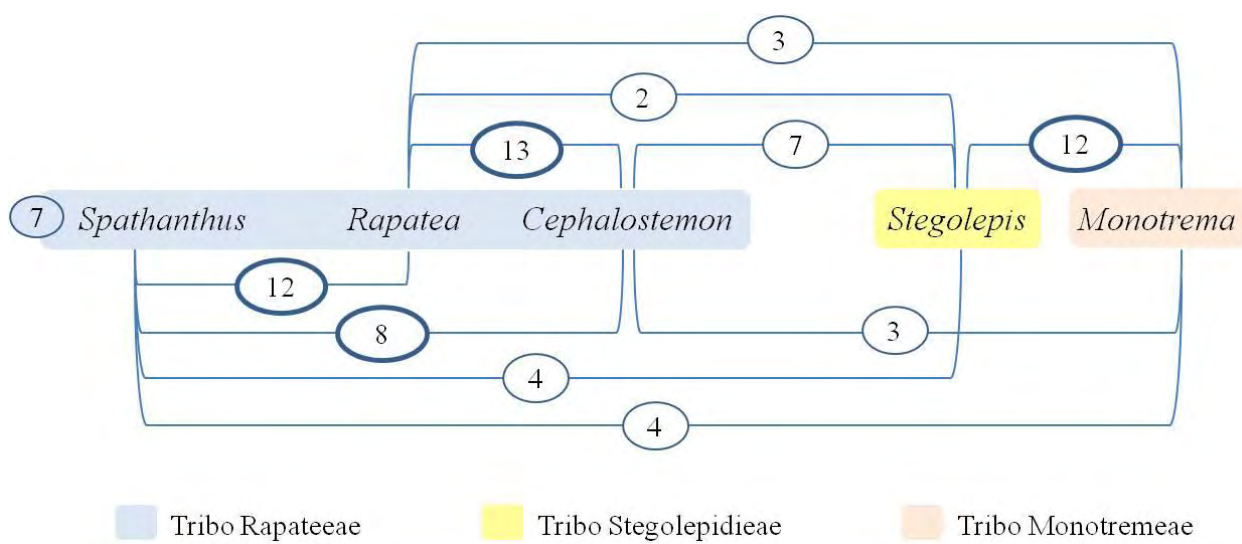


Fig. 66. Número de características florais compartilhadas entre os gêneros de Rapateaceae estudados.

CAPÍTULO 2

Anatomia floral de *Juncus* e *Luzula* (Juncaceae - Poales): inferência taxonômica e reprodutiva

(Segundo normas *Flora*)

Anatomia floral de espécies de *Juncus* e *Luzula* (Juncaceae-Poales): inferência taxonômica e reprodutiva

Aline Oriani, Thomas Stützel, Vera Lucia Scatena

RESUMO

Juncaceae é cosmopolita, apresenta sete gêneros e cerca de 440 espécies. Como as relações intrafamiliar e intragenéricas não estão bem estabelecidas, estudou-se a anatomia floral de espécies de *Juncus* (6 spp.) e *Luzula* (5 spp.), os dois gêneros mais representativos da família, buscando levantar características com valor taxonômico. A maioria das estruturas anatômicas das flores é uniforme, compartilhada por todas as espécies, entre elas: tépalas com epiderme abaxial formada por células de paredes sinuosas e margens formadas pelo prolongamento da epiderme; endotécio com espessamento em espiral; grãos de pólen em tétrade; epiderme externa do ovário com invaginações na região dos feixes dorsais do carpelo; e presença de ginóforo. *Juncus* distingue-se por apresentar estômatos na face abaxial das tépalas e vários óvulos com placentação parietal. *Luzula* diferencia-se pela presença de compostos fenólicos nas tépalas, intumescimento da base das tépalas e dos filetes, androceu diplostêmone e obturador ovariano, além de apresentar três óvulos com placentação basal. Caracteres como presença de septos no ovário, ocorrência de compostos fenólicos no gineceu e estômatos das tépalas localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas agrupam *J. effusus*, *J. conglomeratus* e *J. tenuis*, espécies próximas filogeneticamente. Esta é a primeira descrição anatômica de flores de Juncaceae e suas características, além de delimitarem os gêneros, podem auxiliar no entendimento da biologia reprodutiva das espécies.

Palavras chave: *Luzula*; *Juncus*; Juncaceae; Poales; Anatomia floral; Taxonomia

ABSTRACT

Juncaceae is a cosmopolitan family divided into seven genera with a total of about 440 species. Because the infrafamilial and infrageneric relationships are unclear, we investigated the floral anatomy of *Juncus* and *Luzula*, the two largest genera, in order to determine the importance of floral features as taxonomic characters. The anatomical pattern found in both genera is very uniform. The main features shared by the species studied are: tepals with sinuous-walled cells in the abaxial surface and with margins composed only of epidermis; endothecium with spiral thickenings; pollen in tetrad; invaginations in the ovary epidermis facing the carpel dorsal bundles; and gynophore. *Juncus* is distinguished by the presence of stomata in the abaxial epidermis of the tepals, and several ovules with parietal placentation. *Luzula* differs by the occurrence of phenolic compounds in the tepals; intumescence of the basal region of tepals and filaments; diplostemonous androecium; ovarian obturator; and three ovules with basal placentation. Characters such as septate ovary, phenolic compounds in the gynoecium and stomata located at the same level of the other epidermal cells in the tepals link *J. effusus*, *J. conglomeratus* and *J. tenuis*, species closely related. This is the first anatomical description of Juncaceae flowers and their characteristics are useful not only for delimiting the genera, but may contribute to the knowledge of the reproductive biology of the family.

Keywords: *Luzula*; *Juncus*; Juncaceae; Poales; Floral anatomy; Taxonomy

Introdução

Juncaceae compreende sete gêneros e cerca de 440 espécies (Kirschner et al., 2002a,b,c). Apresenta ampla distribuição nas regiões temperadas e subtropicais, com poucos representantes ocorrendo nas regiões tropicais. *Juncus* (ca. 300 spp.) e *Luzula* (ca. 115 spp.) são os gêneros com maior número de espécies e são cosmopolitas. Os demais gêneros incluem um número reduzido de espécies com distribuição restrita: *Distichia* (3 spp.), *Oxychloë* (6 spp.) e *Patosia* (1 sp.) ocorrem somente na América do Sul, enquanto *Marsippospermum* (3 spp.) e *Rostkovia* (3 spp.) são encontrados na América do Sul e Nova Zelândia (Balslev, 1996, 1998; Kirschner et al., 2002a,b,c).

A filogenia de Juncaceae vem sendo amplamente estudada nos últimos anos (Drábková et al., 2003, 2004, 2006; Roalson, 2005; Drábková & Vlček, 2007, 2009; Drábková, 2010). Esta família, juntamente com Thurniaceae e Cyperaceae, forma o clado das cyperídeas dentro de Poales (Linder & Rudall, 2005), que é consistente baseado em dados moleculares e morfológicos (Simpson, 1995; Bremer, 2002; Michelangeli et al., 2003; Chase et al., 2006; Givnish et al., 1999, 2006, 2010). No entanto, as relações intrafamiliar e intragenéricas em Juncaceae ainda não estão bem resolvidas. Dados moleculares sustentam a monofilia de *Luzula*, mas o tradicionalmente reconhecido gênero *Juncus* é parafilético (Drábková et al., 2003, 2004, 2006; Roalson, 2005; Drábková & Vlček, 2009; Drábková, 2010).

Juncaceae apresenta flores inconspícuas, como a maioria das espécies de Poales. Suas flores são glumáceas, geralmente completas, pentacíclicas e trímeras (Balslev, 1996, 1998). Estudos sobre anatomia floral com representantes de outras famílias de Poales (p. ex. Sajo et al., 2004; Rosa & Scatena, 2003, 2007; Carvalho et al., 2009) mostram que as características florais trazem informações sobre o mecanismo de reprodução das espécies e são úteis na taxonomia do grupo, podendo ser aplicadas em análises filogenéticas. Em Juncaceae, no entanto, estudos com órgãos reprodutivos restringem-se à histogênese floral de *Luzula campestris*, *Juncus articulatus* e *J. vaginatus* (Barnard, 1958), à morfologia floral de *J. roemerianus* (Eleuterius, 1974), e à

morfologia do gineceu de *J. effusus*, *J. tenuis* e *L. nivea* (Schaepfi, 1974), além daqueles relacionados à embriologia (p. ex. Shah, 1967; Eleuterius, 1984). A estrutura das inflorescências foi analisada por Novara (1976) e Köbele & Tillich (2001, 2002). Dados sobre morfologia floral são encontrados também nas revisões taxonômicas da família (Buchenau, 1890, 1906; Balslev, 1996, 1998; Kirschner et al., 2002a,b,c).

Este trabalho teve como objetivo estudar a anatomia floral de espécies de *Juncus* e *Luzula*, buscando fornecer dados úteis para a taxonomia do grupo e para o entendimento da biologia reprodutiva das espécies.

Material e métodos

Foram estudadas seis espécies de *Juncus* e cinco espécies de *Luzula*. O material testemunho está depositado no Herbarium Rioclarense do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (HRCB). As espécies estudadas, com as áreas de coleta e número de registro estão apresentadas na Tabela 1. A seleção das espécies baseou-se na disponibilidade de flores em antese.

Tabela 1. Espécies estudadas

<i>Espécie</i>	<i>Habitat</i>	<i>Localização</i>	<i>Coleção</i>
<i>Juncus bulbosus</i> L.	Jardim Botânico	Bochum, Alemanha	HRCB 52924
<i>J. conglomeratus</i> L.	Borda de mata	Bochum, Alemanha	HRCB 52925
<i>J. effusus</i> L.	Borda de mata	Bochum, Alemanha	HRCB 52923
<i>J. micranthus</i> Schrad. ex E.Mey.	Campo úmido	Itirapina, Brasil	HRCB 52839
<i>J. microcephalus</i> Humb.	Campo úmido	Itirapina, Brasil	HRCB 49691
<i>J. tenuis</i> Willd.	Área urbana	Bochum, Alemanha	HRCB 52926
<i>Luzula campestris</i> (L.) DC.	Campo	Vosges, França	HRCB 52920
<i>L. luzuloides</i> (Lam.) Dandy &	Floresta temperada	Bochum, Alemanha	HRCB 52922
<i>L. multiflora</i> (Ehrh.) Lej.	Floresta temperada	Bochum, Alemanha	HRCB 52916
<i>L. pilosa</i> (L.) Willd.	Floresta temperada	Bochum, Alemanha	HRCB 52917
<i>L. sylvatica</i> (Huds.) Gaudin	Floresta temperada	Alsace, França	HRCB 52919

Foram estudados cinco indivíduos de cada espécie. O material foi fixado em FAA 70 (1 formaldeído 37%: 1 ácido acético glacial: 18 etanol 70%, v/v) (Johansen, 1940) por 48 horas e transferido para etanol 70%. As inflorescências de *J. micranthus* e *J. microcephalus* foram desidratadas em série de n-butanol e submetidas à infiltração com historresina (Leica) (Feder & O'Brien, 1968). O material incluído foi seccionado em micrótomo rotativo (Leica, Reichert-Jung 2040), com 6-8µm de espessura. As secções anatômicas foram coradas com ácido periódico – reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina (Feder & O'Brien, 1968), e montadas em lâminas permanentes com Entellan (Merck). As inflorescências das demais espécies estudadas foram desidratadas em série de butanol terciário (Johansen, 1940), incluídas em parafina e seccionadas em micrótomo rotativo (Leica, RM 2065), com 8µm de espessura. As secções foram coradas com safranina e azul de astra (Bukatsch, 1972). O registro fotográfico foi realizado com capturador de imagens (Leica, DFC 290) acoplado ao microscópio (Leica, DM LB), utilizando-se o programa de digitalização de imagens LAS (Leica Application Suite V3.3.0).

Para o estudo ao microscópio eletrônico de varredura (Zeiss, DSM 950), flores fixadas em FAA 70 foram desidratadas em etanol 70% e imersas em FDA (formaldeído-dimetilacetato) por 24 horas (Gerstberger & Leins, 1978). Posteriormente, foram submetidas ao ponto crítico (Balzers, CPD 030) e cobertas com ouro (Bal-Tec, SCD 050). Os resultados foram documentados por meio do sistema de digitalização de imagens DIPS - Leipzig (Digital Image Processing Software 2.2).

Resultados

Perigônio: As espécies estudadas são diclamídeas, homoclamídeas e dialitépalas (Fig. 1). As tépalas, em vista frontal, apresentam face adaxial com células alongadas, de paredes tangenciais retas (Fig. 2), enquanto que a face abaxial apresenta células com paredes tangenciais sinuosas (Figs. 3-4). Em secção transversal, a epiderme apresenta células de paredes finas e celulósicas

na face adaxial (Figs. 5-11). A face abaxial apresenta células de paredes finas e celulósicas em *J. microcephalus* (Fig. 5; 11) e células de parede periclinal externa espessada, lignificada, nas demais espécies (Figs. 6-10). Na região basal das tépalas das espécies de *Luzula* e em *J. bulbosus*, as células epidérmicas da face adaxial são maiores, com lume grande, resultando no intumescimento do órgão (Figs. 8-9). Pode-se observar essa diferença comparando-se as regiões basal e apical da tépala de *L. pilosa* (Figs. 9-10, respectivamente). Estômatos paracíticos ocorrem na face abaxial nas espécies de *Juncus* (Fig. 4) e em *L. sylvatica* e se localizam no mesmo nível das demais células epidérmicas em *J. tenuis* (Fig. 6 - detalhe), *J. effusus* e *J. conglomeratus*, e acima destas nas demais espécies (Figs. 5; 7 - detalhe).

O mesofilo é formado por tecido de sustentação (colênquima ou esclerênquima) voltado à face adaxial e parênquima clorofiliano voltado à face abaxial (Figs. 5-8; 10). Da região basal para a região apical das tépalas aumenta a quantidade de tecido de sustentação (Figs. 9-10). O parênquima clorofiliano é regular na maioria das espécies e lacunoso na face abaxial em *J. micranthus* e *J. microcephalus* (Fig. 5). Ocorrem idioblastos contendo compostos fenólicos no mesofilo das tépalas de *Luzula*, como se observa em *L. pilosa* (Figs. 9-10). Os feixes vasculares são colaterais e seu número varia de um a três (Figs. 5-10). As margens das tépalas são membranáceas, formadas pelo prolongamento da epiderme (Fig. 11).

Androceu: O androceu é composto por três a seis estames (Figs. 1; 14). Nas espécies de *Luzula* e em *J. tenuis* o androceu é diplostêmone (Fig. 1). Nas demais espécies de *Juncus* o androceu é haplostêmone (Fig. 14). Em *J. microcephalus* observaram-se flores com três, quatro e seis estames no mesmo indivíduo.

O filete é livre e constitui-se de epiderme com células de paredes finas, córtex e feixe vascular (Figs. 12-13). O córtex pode ser constituído de aerênquima, como em *J. bulbosus* (Fig. 12), *J. conglomeratus* e *J. tenuis*. Nas espécies de *Luzula* e em *J. bulbosus*, na região basal dos filetes, as células epidérmicas e corticais são maiores, resultando no intumescimento do órgão,

assim como ocorre nas tépalas. Esse aumento do tamanho das células pode ser observado em secção longitudinal e transversal (Figs. 17 e 18, respectivamente).

As anteras são tetrasporangiadas (Figs. 15-16), basifixas, com deiscência longitudinal (Fig. 14). A parede da antera madura é formada por epiderme e endotécio (Fig. 15). A epiderme apresenta células arredondadas e de paredes finas, que são maiores na região do estômio (Fig. 15). O endotécio apresenta células alongadas anticlinalmente, com espessamento em espiral (Fig. 15). Nas anteras jovens, as células do endotécio não apresentam paredes espessadas (Fig. 16) e podem reservar amido. A camada mediana e o tapete, presentes apenas nas anteras jovens, são formados por apenas uma camada de células de paredes finas, alongadas anticlinalmente (Fig. 16). Os grãos de pólen são dispersos em tétrade (Fig. 15).

Gineceu: O ovário é súpero, tricarpelar, unilocular e elevado por um ginóforo curto em todas as espécies estudadas (Fig. 17). Na figura 18 é possível observar o ginóforo em corte transversal e ao seu redor as demais peças florais. O ovário é formado por epiderme e mesofilo com duas a três camadas de parênquima e feixes vasculares (Figs. 19; 22-23; 26). A epiderme externa apresenta células de parede periclinal externa espessada em *L. luzuloides* (Fig. 20) e células de paredes finas nas demais espécies (Figs. 19; 21-23). Pode conter amido, como em *L. campestris* (Fig. 21). É recoberta por uma fina cutícula e se invagina na região dos feixes dorsais dos carpelos (Fig. 19). A epiderme interna apresenta células de paredes finas, arredondadas ou alongadas anticlinalmente (Figs. 19; 22-23). O mesofilo pode apresentar idioblastos contendo compostos fenólicos nas espécies de *Luzula* (Fig. 23). Em *J. conglomeratus* (Figs. 26), *J. effusus* e *J. tenuis* também ocorrem idioblastos contendo compostos fenólicos, principalmente ao redor dos feixes ventrais dos carpelos. Nestas três espécies o ovário é trisseptado devido à protrusão dos carpelos nas regiões comissurais (Fig. 26), que ocorre desde o início do desenvolvimento floral.

Os feixes ventrais dos carpelos vascularizam os óvulos (Figs. 22; 26; 33), enquanto os feixes dorsais vascularizam os estigmas (Fig. 27). Nas flores jovens os estigmas apresentam-se contorcidos (Figs. 14; 28) e se distendem na flor madura (Figs. 1; 29). Os estigmas apresentam células epidérmicas papilosas na face ventral, que se alongam quando o mesmo está receptivo (Figs. 28-29); as células epidérmicas da face dorsal podem conter compostos fenólicos (Fig. 27).

O estilete é oco (Figs. 24-25) e apresenta epiderme com células de parede periclinal externa espessada em *L. sylvatica* (Fig. 24) e células de paredes finas nas demais espécies (Fig. 25). As células epidérmicas do estilete podem conter compostos fenólicos, como em *L. multiflora* (Fig. 25). O tecido transmissor e a placenta são formados por células pequenas, de núcleo grande e citoplasma denso, que se coram intensamente (Fig. 22 - seta). Nas espécies de *Luzula* ocorrem tricomas unicelulares na região onde os óvulos se inserem, próximos à micrópila, caracterizando o obturador (Figs. 30-31; 33 - seta). Os óvulos são anátropos e bitegmentados (Figs. 32-33). Apresentam-se em número variado, com placentação parietal nas espécies de *Juncus* (Figs. 26; 32) e em número de três, com placentação basal nas espécies de *Luzula* (Figs. 23; 33-34). Em *L. pilosa* os óvulos possuem um apêndice na região calazal (Fig. 34).

Discussão

A maioria das características morfológicas e anatômicas das flores de *Juncus* e *Luzula* unifica os representantes da família. São compartilhadas pelos dois gêneros: tépalas constituídas de tecido de sustentação na face adaxial e parênquima clorofiliano na face abaxial, com margens formadas apenas pela epiderme; células epidérmicas com paredes sinuosas na face abaxial das tépalas; parede da antera madura formada por células epidérmicas arredondadas, de paredes finas, e células do endotécio alongadas tangencialmente, com espessamento em espiral; grãos de pólen em tétrade; ovário constituído de epiderme e mesofilo com duas a três camadas de

parênquima, sendo a epiderme externa invaginada na região dos feixes dorsais dos carpelos; e presença de ginóforo.

Juncus distingue-se pela ocorrência de estômatos na face abaxial das tépalas e por apresentar vários óvulos com placentação parietal. *Luzula* diferencia-se pela presença de compostos fenólicos nas tépalas (presentes apenas no gineceu nas espécies de *Juncus*), pelo intumescimento da base das tépalas e filetes, pelo androceu diplostêmone e pela presença de obturador, além de apresentar apenas três óvulos com placentação basal. O número de óvulos e o tipo de placentação são características que sustentam a monofilia de *Luzula* (Drábková et al., 2004, 2006).

A ocorrência de estômatos nas tépalas de todas as espécies de *Juncus* estudadas e em *L. sylvatica* pode estar relacionada com o ambiente em que essas plantas ocorrem, pois a maioria das espécies de *Juncus* cresce em ambientes úmidos, enquanto que as espécies de *Luzula* são encontradas principalmente em ambientes secos (Balslev, 1996). Visto que os estômatos favorecem a perda de água pela planta durante as trocas gasosas, sua ausência pode ter sido selecionada em ambientes mais secos, como ocorre com a maioria das espécies de *Luzula*.

O intumescimento na base das tépalas e dos filetes observado nas espécies de *Luzula* e em *Juncus bulbosus* pode estar relacionado à biologia reprodutiva. Esse intumescimento se dá pela presença de células grandes, com paredes finas, localizadas na base dessas peças, com provável função motora. Tais células podem apresentar turgescência e incharem, afastando as peças florais umas das outras e expondo os órgãos sexuais da flor. Isso facilitaria a polinização pelo vento ou por insetos, já relatada para *Luzula* (Buchenau, 1892; Keighery, 1985). Na natureza é possível observar que as flores de *Luzula*, quando em antese, apresentam peças florais expostas devido à presença desse tecido com células túrgidas, enquanto que na maioria das flores em antese de *Juncus* não é possível visualizar os órgãos sexuais. Essa hipótese corrobora afirmações de que a maioria das espécies de *Juncus* se reproduz por autopolinização, muitas vezes cleistogamia (Buchenau, 1892; Richards & Clapham, 1941; Keighery, 1985;

Michalski & Durka, 2007), e observações de grãos de pólen germinando no estigma de flores ainda em estágio de botão através de microscopia eletrônica de varredura (Oriani et al., dados não publicados).

Espécies de *Juncus* apresentam razão pólen/óvulo muito menor que espécies de *Luzula*, resultado da alta produção de óvulos (Michalski & Durka, 2010). Essa baixa razão pólen/óvulo foi associada à freqüente autofecundação, que pode ser benéfica em habitats adversos como os de *Juncus*, cuja maioria ocorre em ambientes abertos, úmidos, ou em áreas perturbadas (Balslev, 1996).

A ocorrência de autopolinização em *Juncus* pode corresponder também a uma das pressões seletivas que levaram à redução do número de estames nesse gênero. Em *Luzula*, todas as espécies estudadas são diplostêmones, enquanto que em *Juncus* a maioria é haplostêmones. De acordo com o posicionamento das peças florais, as flores haplostêmones são resultado da redução do verticilo interno de estames. Acredita-se que ambos os gêneros tenham derivado de um ancestral diplostêmones, visto que representantes de *Thurnia* e *Prionium* (Thurniaceae) apresentam flores diplostêmones, sendo *Prionium* considerado o gênero menos derivado no clado cyperídeo (Plunkett et al., 1995; Munro & Linder, 1998).

A presença de obturador em *Luzula*, além de caracterizar o gênero, também pode ter significado importante na reprodução. O obturador ocorre em várias famílias não relacionadas, incluindo monocotiledôneas e eudicotiledôneas, e corresponde à modificação do tecido transmissor do ovário, com origem na placenta e/ou no funículo (Tilton & Horner, 1980). Acredita-se que serve de ponte entre a placenta e a micrópila do óvulo, direcionando o crescimento do tubo polínico física e/ou quimicamente (Maheshwari, 1950; Tilton & Horner, 1980; Arbeloa & Herrero, 1987; Herrero, 2000). O obturador geralmente é um tecido secretor e varia muito morfológica e anatomicamente (Tilton & Horner, 1980). Nas espécies de *Luzula* corresponde a tricomas presentes próximos à micrópila, que provavelmente facilitam a fecundação física e quimicamente, secretando substâncias que direcionam o crescimento do tubo

polínico à micrópila. Em *Juncus*, ao que tudo indica, quem exerce essa função é a própria placenta, cujas células apresentam conteúdo citoplasmático denso e provavelmente são secretoras.

Outras características presentes em todas as espécies estudadas que também podem ser relacionadas à sua biologia reprodutiva são as invaginações da epiderme do ovário e o ginóforo. As invaginações da epiderme do ovário ocorrem na região dos feixes dorsais dos carpelos e correspondem às linhas de deiscência do fruto, que é uma cápsula loculicida. Elas provavelmente facilitam a abertura da cápsula quando o fruto está seco, favorecendo a dispersão das sementes. A presença de frutos deiscentes é considerada característica plesiomórfica dentro das cyperídeas, sendo a presença de frutos indeiscentes (aquênio) em Cyperaceae a condição derivada (Plunkett et al., 1995; Simpson, 1995). O ginóforo também pode ter papel na dispersão das sementes, pois, em *Distichia muscoides*, ele se alonga durante a maturação do fruto, elevando a cápsula acima do cálice e da corola, tornando-a exposta (Balslev, 1996). A presença de ginóforo em Juncaceae havia sido relatada até o momento apenas para *Distichia muscoides* (Balslev, 1996) e para *J. tenuis* (Schaeppi, 1974).

De forma geral, existe uniformidade anatômica na família quando se comparam as flores dos dois gêneros. Na análise intragenérica, *L. sylvatica* diferencia-se das demais espécies de *Luzula* estudadas por apresentar estômatos nas tépalas. *Juncus bulbosus* se distingue por ser a única espécie do gênero que apresenta intumescimento na base das tépalas e filetes.

Juncus effusus, *J. conglomeratus* e *J. tenuis* formam um agrupamento, diferenciando-se por apresentar septos no ovário. Esses septos são resultado da protrusão dos carpelos para o interior do lóculo, dando ao ovário um aspecto trilocular, embora este seja ontogeneticamente e funcionalmente unilocular (Schaeppi, 1974). Essa protrusão dos carpelos ocorre no início do desenvolvimento floral nas espécies estudadas, mas em outras espécies ela pode ocorrer tardiamente no fruto (Balslev, 1996), o que exige que essa característica seja analisada com cautela em estudos taxonômicos com espécies do gênero.

Além da presença de septos no ovário, *J. effusus*, *J. conglomeratus* e *J. tenuis* compartilham presença de compostos fenólicos no gineceu e de estômatos nas tépalas localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas. Essas características provavelmente estão mais relacionadas ao parentesco do que ao ambiente, visto que *J. effusus* e *J. conglomeratus* pertencem à seção *Juncotypus* e *J. tenuis* pertence à seção *Steirochloa*, ambas do subgênero *Agathryon* (Kirschner et al., 2002c). Essas seções compartilham várias outras características e são intimamente relacionadas (Drábková et al., 2003, 2006; Drábková & Vlček, 2009; Drábková, 2010).

Luzula luzuloides foi a única espécie estudada que apresentou células com parede periclinal externa espessada na epiderme do ovário como caráter diagnóstico, assim como *L. pilosa* foi a única a apresentar apêndices nos óvulos. Esses apêndices, no entanto, já haviam sido observados em outras espécies de *Luzula* (Balslev, 1996; Dahlgren et al., 1985) e originam o arilo da semente (*sensu* Corner, 1976), provavelmente como resultado de adaptação à entomocoria (Balslev, 1996; Dahlgren et al., 1985).

A ocorrência de grãos de pólen em tétrade é uma característica de Juncaceae compartilhada com Cyperaceae e Thurniaceae (Dahlgren et al., 1985). O padrão de desenvolvimento floral também é semelhante em Juncaceae e Cyperaceae (Barnard, 1958), famílias que compartilham ainda a presença de obturador no ovário, ginóforo, e idioblastos contendo compostos fenólicos nas peças florais (Vrijdaghs et al., 2005; Coan et al., 2008, 2010).

A presença de flores reduzidas, anteras tetrasporangiadas, espessamento do endotécio em espiral, gineceu tricarpelar, estilete tripartido e óvulos anátropos são outros caracteres compartilhados por Juncaceae, Cyperaceae e Thurniaceae e corroboram o posicionamento dessas famílias no clado das cyperídeas em Poales (Bremer, 2002; Michelangeli et al., 2003; Linder & Rudall, 2005; Chase et al., 2006; Givnish et al., 1999, 2006, 2010).

Visto que *Prionium* (Thurniaceae) é apontado como basal e grupo-irmão de Juncaceae e Cyperaceae (Plunkett et al., 1995; Munro & Linder, 1998) e suas flores são semelhantes às

flores de Juncaceae, infere-se que Juncaceae é mais ancestral em relação à Cyperaceae. Assim, redução do número de peças florais (tépalas, estames, carpelos e óvulos) e desenvolvimento de aquênio em Cyperaceae são características consideradas derivadas, sendo as características ancestrais mais próximas ao que se observa hoje nas flores de Juncaceae (Plunkett et al., 1995; Simpson, 1995).

Agradecimentos Os autores agradecem ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processos: 141582/2007-3 e 301692/2010-6) e ao DAAD – Deutscher Akademischer Austauschdienst (Processo: A/10/70575) pelo auxílio financeiro.

Referências

- Arbeloa, A., Herrero, M., 1987. The significance of the obturator in the control of pollen tube entry into the ovary in peach (*Prunus persica*). *Ann. Bot.* 60, 681-685.
- Balslev, H., 1996. Juncaceae. *Fl. Neotrop. Monogr.* 68, 1-167.
- Balslev, H., 1998. Juncaceae. In: Kubitzki, K. (Ed.), *The families and genera of vascular plants – IV Monocotyledons*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 252-260.
- Barnard, C., 1958. Floral histogenesis in the monocotyledons III. The Juncaceae. *Aust. J. Bot.* 6, 285-299.
- Bremer, K., 2002. Gondwanan evolution of the grass alliance of families (Poales). *Evolution* 56, 1374-1387.
- Buchenau, F., 1890. *Monographia Juncacearum*. *Bot. Jahrb. Syst.* 12, 1-495.
- Buchenau, F., 1892. Über die Bestäubungs-Verhältnisse bei den Juncaceen. *Jahrb. Wiss. Bot.* 24, 363-424.
- Buchenau, F., 1906. Juncaceae. In: Engler, A. (Ed.), *Das Pflanzenreich IV*, 36 (Heft 25). Verlag von Wilhelm Englemann, Leipzig, pp. 1-284.
- Bukatsch, F., 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos* 61, 255.

- Carvalho, M.L.S., Nakamura, A.T., Sajo, M.G., 2009. Floral anatomy of Neotropical species of Mayacaceae. *Flora* 204, 220-227.
- Chase, M.W., Fay, M.F., Devey, D.S., Maurin, O., Rønsted, N., Davies, T.J., Pillon, Y., Petersen, G., Seberg, O., Tamura, M.N., Asmussen, C.B., Hilu, K., Borsch, T., Davis, J.I., Stevenson, D.W., Pires, J.C., Givnish, T.J., Sytsma, K.J., McPherson, M.A., Graham, S.W., Rai, H.S., 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. *Aliso* 23, 62-74.
- Coan, A.I., Alves, M.V., Scatena, V.L., 2008. Comparative study of ovule and fruit development in species of *Hypolytrum* and *Rhynchospora* (Cyperaceae, Poales). *Plant Syst. Evol.* 272, 181-195.
- Coan, A.I., Alves, M.V., Scatena, V.L., 2010. Evidence of pseudomonad pollen formation in *Hypolytrum* (Mapanioideae, Cyperaceae). *Aust. J. Bot.* 58, 663-672.
- Corner, E.J.H., 1976. The seeds of dicotyledons. Cambridge University Press, Cambridge.
- Dahlgren, R.M.T., Clifford, H.T., Yeo, P.F., 1985. The families of the monocotyledons. Structure, evolution, and taxonomy. Springer-Verlag, Berlin.
- Drábková, L., 2010. Phylogenetic relationships within Juncaceae: evidence from five regions of plastid, mitochondrial and nuclear ribosomal DNA, with notes on morphology. In: Seberg, O., Petersen, G., Barford, A.S., Davis, J.I. (Eds.), *Diversity, phylogeny, and evolution in the monocotyledons*. Arrhus University Press, Denmark, pp. 389-416.
- Drábková, L., Vlček, Č., 2007. The phylogenetic position of *Oxchloë* (Juncaceae): evidence from one nuclear, three plastid regions and morphology. *Taxon* 56, 95-102.
- Drábková, L., Vlček, Č., 2009. DNA variation within Juncaceae: comparison of impact of organelle regions on phylogeny. *Plant Syst. Evol.* 278, 169-186.
- Drábková, L., Kirschner, J., Seberg, O., Petersen, G., Vlček, Č., 2003. Phylogeny of the Juncaceae based on *rbcL* sequences, with special emphasis on *Luzula* DC. and *Juncus* L. *Plant Syst. Evol.* 240, 133-147.
- Drábková, L., Kirschner, J., Vlček, Č., Pačes, V., 2004. *TrnL-trnF* intergenic spacer and *trnL* intron define clades within *Luzula* and *Juncus* (Juncaceae): importance of structural mutations. *J. Mol. Evol.* 59, 1-10.

- Drábková, L., Kirschner, J., Vlček, Č., 2006. Phylogenetic relationships within *Luzula* DC. and *Juncus* L. (Juncaceae): a comparison of phylogenetic signals of *trnL-trnF* intergenic spacer, *trnL* intron and *rbcL* plastome sequence data. *Cladistics* 22, 132-143.
- Eleuterius, L.N., 1974. Flower morphology and plant types within *Juncus roemerianus*. *Bull. Marine Sci.* 24, 493-497.
- Eleuterius, L.N., 1984. Female gametophyte development in *Juncus roemerianus*. *Bull. Torrey Bot. Club* 111, 445-450.
- Feder, N., O'Brien, T.P., 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *Amer. J. Bot.* 55, 123-142.
- Gerstberger, P., Leins, P., 1978. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae) - Anwendung einer neuen Präparationsmethode. *Ber. Deut. Bot. Ges.* 91, 381-387.
- Givnish, T.J., Evans, T.M., Pires, J.C., Sytsma, K.J., 1999. Polyphyly and convergent morphological evolution in Commelinales and Commelinidae: evidence from *rbcL* sequence data. *Mol. Phyl. Evol.* 12, 360-385.
- Givnish, T.J., Pires, J.C., Graham, S.W., McPherson, M.A., Prince, L.M., Patterson, T.B., Rai, H.S., Roalson, E.H., Evans, T.M., Hahn, W.J., Millam, K.C., Meerow, A.W., Molvray, M., Kores, P.J., O'Brien, H.E., Hall, J.C., Kress, W.J., Sytsma, K.J., 2006. Phylogenetic relationships of monocots based on the highly informative plastid gene *ndhF*: evidence for widespread concerted convergence. *Aliso* 22, 28-51.
- Givnish, T.J., Ames, M., McNeal, J.R., McKain, M.R., Steele, P.R., dePamphilis, C.W., Graham, S.W., Pires, J.C., Stevenson, D.W., Zomlefer, W.B., Briggs, B.G., Duvall, M.R., Moore, M.J., Heaney, J.M., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Thiele, K., Leebens-Mack, J.H., 2010. Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 97, 584-616.
- Herrero, M., 2000. Changes in the ovary related to pollen tube guidance. *Ann. Bot.* 85, 79-85.
- Johansen, D.A., 1940. *Plant microtechnique*. Mc Graw-Hill Book Co, New York.
- Keighery, G.J., 1985. Breeding systems of the Western Australian flora IV. *Juncus* and *Luzula* (Juncaceae). *Bot. Jahrb. Syst.* 105, 279-283.

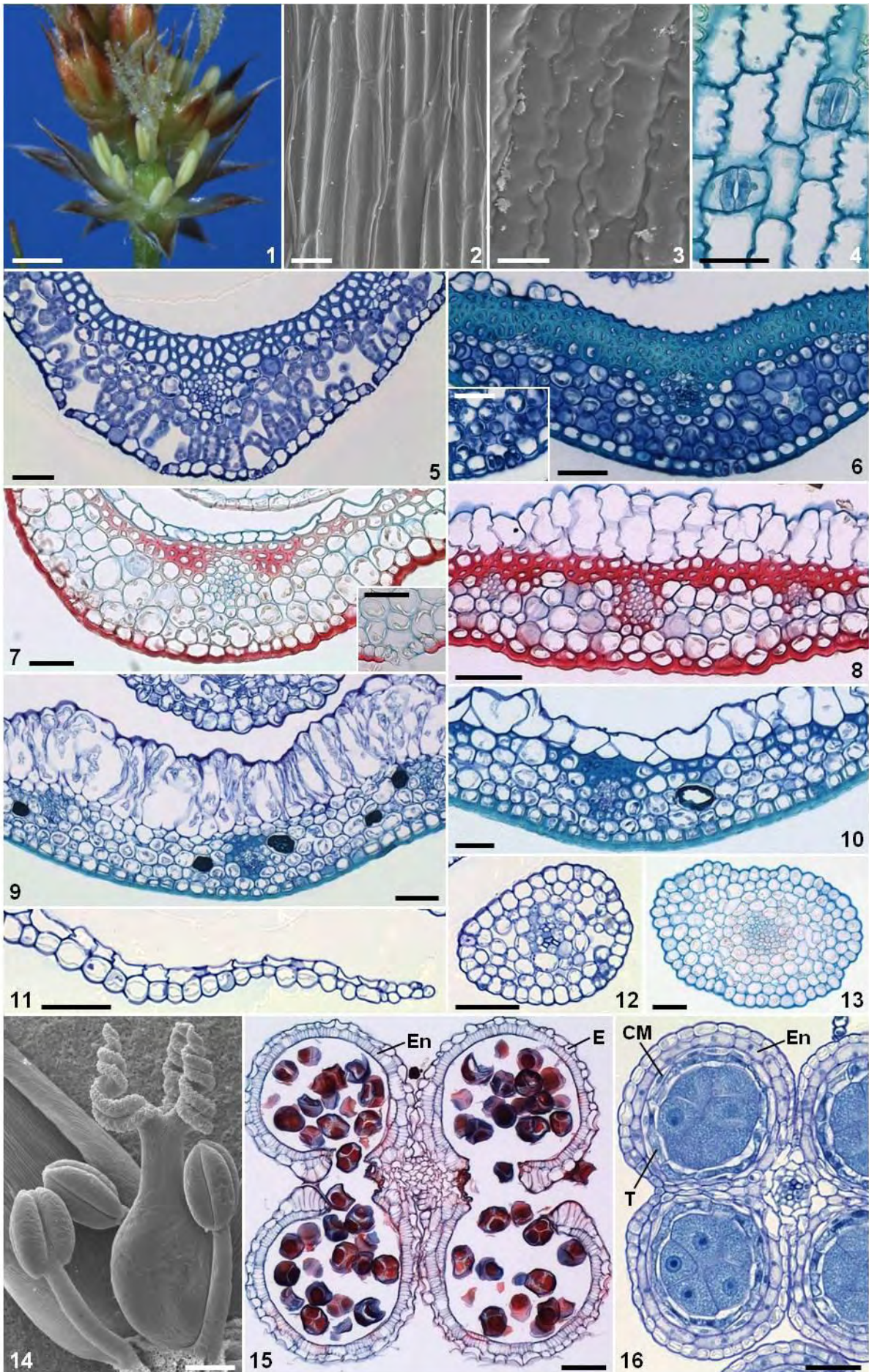
- Kirschner, J., Balslev, H., Češka, A., Swab, J.C., Edgar, E., Garcia-Herran, K., Hämet-Ahti, L., Kaplan, Z., Novara, L.J., Novikov, V.S., Wilton, A., 2002a. Juncaceae 1: *Rostkovia* to *Luzula*, Species Plantarum: Flora of the world Part 6. ABRS, Canberra.
- Kirschner, J., Balslev, H., Clemants, S.E., Ertter, B., Álvarez, M.C.F.C., Hämet-Ahti, L., Miyamoto, F., Noltie, H.J., Novara, L.J., Novikov, V.S., Simonov, S.S., Snogerup, S., Wilson, K.L., 2002b. Juncaceae 2: *Juncus* subg. *Juncus*, Species Plantarum: Flora of the world Part 7. ABRS, Canberra.
- Kirschner J., Balslev, H., Brooks, R.E., Clemants, S.E., Ertter, B., Hämet-Ahti, L., Álvarez, M.C.F.C., Novara, L.J., Novikov, V.S., Simonov, S.S., Snogerup, S., Wilson, K.L., Zika, P.F., 2002c. Juncaceae 3: *Juncus* subg. *Agathryon*, Species Plantarum: Flora of the world Part 8. ABRS, Canberra.
- Köbele, C.P., Tillich, H.J., 2001. Die Infloreszenzen der Juncaceae. Sendtnera 7, 137-161.
- Köbele, C.P., Tillich, H.J., 2002. The aberrant inflorescence of *Luzula elegans* Lowe (Juncaceae) compared to other *Luzula* species. Sendtnera 8, 77-84.
- Linder, H.P., Rudall, P.J., 2005. Evolutionary history of Poales. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 36, 107-124.
- Maheshwari, P., 1950. An introduction to the embryology of angiosperms. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.
- Michalski, S.G., Durka, W., 2007. High selfing and high inbreeding depression in peripheral populations of *Juncus atratus*. Mol. Ecol. 16, 4715-4727.
- Michalski, S.G., Durka, W., 2010. Pollen and ovule production in wind-pollinated species with special reference to *Juncus*. Plant Syst. Evol. 286, 191-197.
- Michelangeli, F.A., Davis, J.I., Stevenson, D.W., 2003. Phylogenetic relationships among Poaceae and related families as inferred from morphology, inversions in the plastid genome, and sequence data from the mitochondrial and plastid genomes. Amer. J. Bot. 90, 93-106.
- Munro, S.L., Linder, P., 1998. The phylogenetic position of *Prionium* (Juncaceae) within the order Juncales based on morphological and *rbcL* sequence data. Syst. Bot. 23, 43-55.

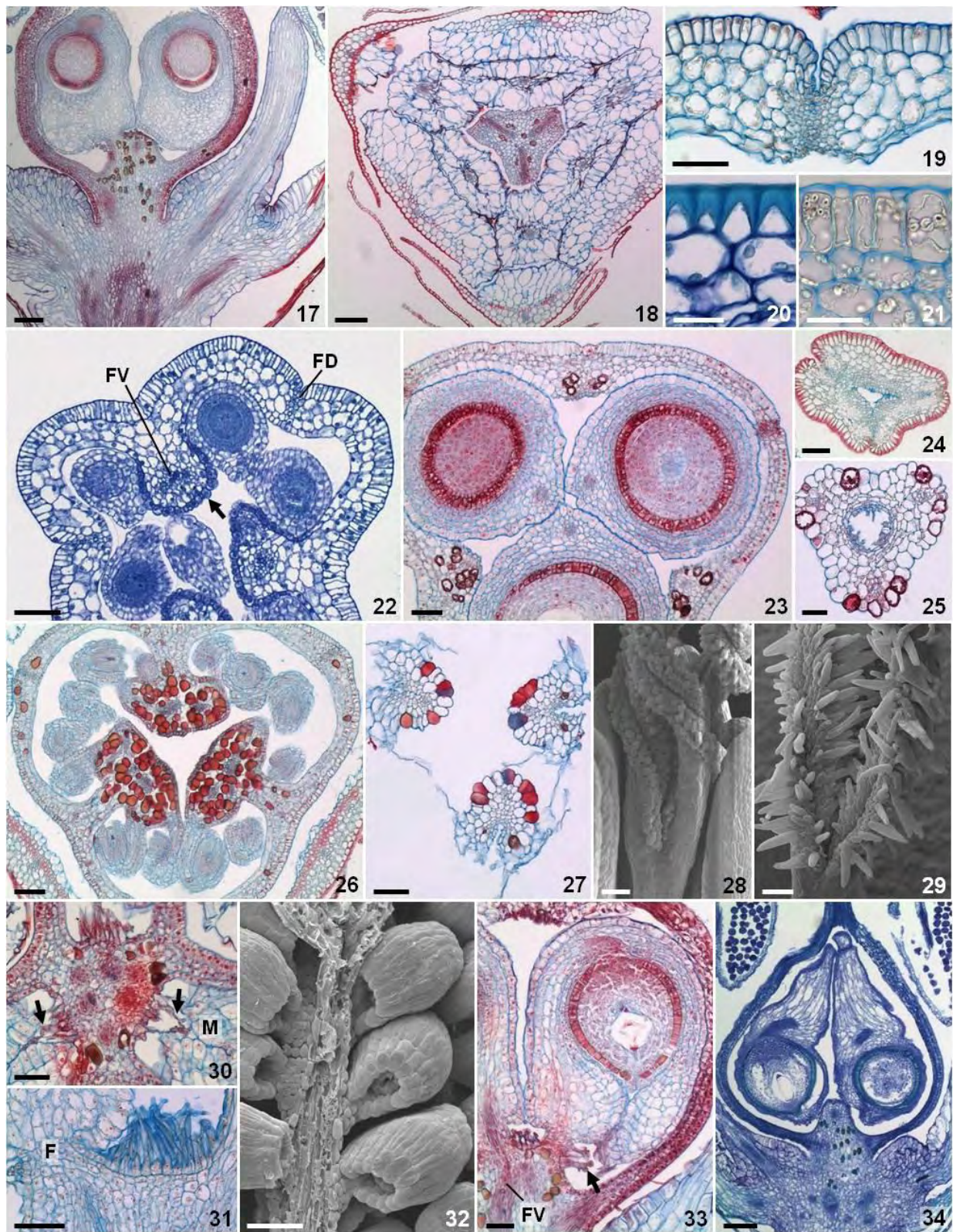
- Novara, L.J., 1976. Contribución al conocimiento de las inflorescências de *Juncus* y su significación taxonômica. *Kurtziana* 9, 41-61.
- Plunkett, G.M., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Brooks, R.E., 1995. Phylogenetic relationships between Juncaceae and Cyperaceae: insights from *rbcL* sequence data. *Amer. J. Bot.* 82, 520-525.
- Richards, P.W., Clapham, A.R., 1941. Biological flora of the British Isles - *Juncus* L. *J. Ecol.* 29, 362-368.
- Roalson, E.H., 2005. Phylogenetic relationships in the Juncaceae inferred from nuclear ribosomal DNA internal transcribed sequence data. *Int. J. Plant Sci.* 166, 397-413.
- Rosa, M.M., Scatena, V.L., 2003. Floral anatomy of *Eriocaulon elichrysoides* and *Syngonanthus caulescens* (Eriocaulaceae). *Flora* 198, 188-199.
- Rosa, M.M., Scatena, V.L., 2007. Floral anatomy of Paepalanthoideae (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures. *Ann. Bot.* 99, 131-139.
- Sajo, M.G., Rudall, P.J., Prychid, C.J., 2004. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. *Plant Syst. Evol.* 247, 215-231.
- Schaepfi, H., 1974. Vergleichend-morphologische Untersuchungen am Gynoeceum einiger Juncaceen. *Vierteljahrsschr. Naturforsch. Ges. Zürich* 119, 225-238.
- Shah, C.K., 1967. A taxonomic evaluation of the families Cyperaceae and Juncaceae. *Bull. Nat. Inst. Sci. India* 34, 248-256.
- Simpson, D.A., 1995. Relationships within Juncales. In: Rudall, P.J., Cribb, P.J., Cutler, D.F., Humphries, C.J. (Eds.), *Monocotyledons: systematics and evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 497-509.
- Tilton, V.R., Horner, H.T.Jr., 1980. Stigma, style, and obturator of *Ornithogalum caudatum* (Liliaceae) and their function in the reproductive process. *Amer. J. Bot.* 67, 1113-1131.
- Vrijdaghs, A., Goetghebeur, P., Muasya, A.M., Caris, P., Smets, E., 2005. Floral ontogeny in *Ficinia* and *Isolepis* (Cyperaceae), with focus on the nature and origin of the gynophore. *Ann. Bot.* 96, 1247-1264.

Legendas

Figs. 1-16. (1) Detalhe da flor em antese de *Luzula multiflora*. (2-3) Eletromicrografia (MEV) da epiderme adaxial (2) e abaxial (3) da tépala de *Juncus microcephalus*. (4) Vista frontal da epiderme abaxial da tépala de *J. effusus*. (5-10) Secções transversais (ST) da tépala de *J. microcephalus* (5), *J. tenuis* (6), *L. sylvatica* (7), *L. campestris* (8) e *L. pilosa* (9-10). (11) ST da margem da tépala de *J. microcephalus*. (12-13) ST do filete de *J. bulbosus* (12) e *L. campestris* (13). (14) MEV do botão floral de *J. micranthus*. (15) ST da antera madura de *L. campestris*. (16) ST da antera jovem de *J. microcephalus*. CM = camada mediana; E = epiderme; En = endotécio; T = tapete. Barras = (1) 2.1 mm; (2) 20 µm; (3) 10 µm; (4-7, 10-13, 16) 30 µm; (6-detalhe) 20 µm; (7-detalhe) 30 µm; (8-9, 15) 50 µm; (14) 150 µm.

Figs. 17-34. (17) Secção longitudinal (SL) da flor de *Luzula campestris*. (18) Secção transversal (ST) da região basal da flor de *L. multiflora*. (19) ST da parede do ovário de *L. sylvatica*, mostrando a invaginação da epiderme na região do feixe dorsal do carpelo. (20-21) ST de detalhe da parede do ovário de *L. luzuloides* (20) e *L. campestris* (21). (22-23) ST do ovário de *Juncus micranthus* (22) e *L. multiflora* (23); a seta indica células da placenta. (24-25) ST do estilete de *L. sylvatica* (24) e *L. multiflora* (25). (26) ST do ovário de *J. conglomeratus*. (27) ST do estigma de *L. campestris*. (28-29) Eletromicrografias (MEV) do estigma de *L. campestris* no botão floral (28) e na flor em antese (29). (30) ST da base do ovário de *L. multiflora*; as setas indicam obturador. (31) SL do ovário de *L. sylvatica*, mostrando detalhe do obturador. (32) MEV do ovário de *J. micranthus*, com óvulos anátropos, bitegmentados e de placentação parietal. (33) SL do ovário de *L. sylvatica*, com óvulo anátropo, bitegmentado e de placentação basal; a seta indica obturador. (34) SL do ovário de *L. pilosa*, mostrando óvulos com apêndice na região calazal. F = funículo; FD = feixe dorsal do carpelo; FV = feixe ventral do carpelo; M = micrópila. Barras = (17-18, 28-29) 100 µm; (19, 22-24, 26-27, 30-33) 50 µm; (20-21, 25) 20 µm; (34) 130 µm.





CAPÍTULO 3

Anatomia floral de xyrídeas (Poales): contribuição à biologia reprodutiva, taxonomia e filogenia

(Segundo normas *International Journal of Plant Sciences*)

ANATOMIA FLORAL DE XYRÍDEAS (POALES): CONTRIBUIÇÃO À BIOLOGIA REPRODUTIVA, TAXONOMIA E FILOGENIA

Aline Oriani and Vera L. Scatena

Resumo

Xyridaceae, Eriocaulaceae e Mayacaceae formam o clado das xyrídeas, o qual apresenta menos suporte em Poales. Objetivou-se levantar características florais de representantes dessas famílias a fim de contribuir para o conhecimento das relações inter e intrafamiliares do grupo. Eriocaulaceae e Xyridaceae compartilham pétalas com células epidérmicas alongadas, de paredes retas; estames epipétalos; estaminódios; anteras com deiscência longitudinal; endotécio com espessamento em banda; e estigmas vascularizados apenas pelos feixes dorsais dos carpelos, corroborando a estreita relação dessas famílias indicada nas análises filogenéticas. Mayacaceae distingue-se por apresentar células epidérmicas papilosas nas pétalas; redução do verticilo interno de estames; anteras poricidas; endotécio sem espessamento; estilete e estigmas vascularizados pelos feixes dorsais e ventrais dos carpelos; e presença de obturador no ovário. A redução do verticilo interno de estames ocorre também em Juncaceae e Cyperaceae, aproximando Mayacaceae das cyperídeas. Foi evidenciado que os apêndices do estilete de *Orectanthe* (Xyridaceae) são nectaríferos e semelhantes àqueles de *Abolboda*, diferenciando esses dois gêneros de *Xyris* (Xyridoideae) e corroborando o posicionamento dos mesmos em Abolbodoideae. Apêndices do estilete ocorrem também em representantes de Eriocaulaceae com a mesma função, posição e tipo de vascularização, sendo, portanto, estruturas homólogas, o que reforça a proximidade filogenética entre Eriocaulaceae e Xyridaceae.

Palavras-chave: estruturas florais, Eriocaulaceae, Mayacaceae, Poales, Xyridaceae, xyrídeas

Abstract

The xyrid clade, which includes Xyridaceae, Eriocaulaceae and Mayacaceae, is weakly supported. The floral anatomy of xyrid species was studied to contribute to the understanding of the relationships within the group. Eriocaulaceae and Xyridaceae share the presence of elongate epidermal cells with straight walls in the petals; epipetalous stamens; staminodes; anthers with longitudinal dehiscence; endothecium with band-like thickenings; and stigma vascularized by the carpel dorsal bundles, which corroborate their close relationship indicated in the phylogenetic analyses of Poales. Mayacaceae is distinguished by the presence of papillose epidermal cells in the petals; inner whorl of stamens reduced; poricidal anthers; endothecium lacking thickenings; style and stigma vascularized by the dorsal and ventral carpel bundles; and by the presence of obturator in the ovary. The reduction of the inner whorl of stamens also occurs in Juncaceae and Cyperaceae, linking Mayacaceae to the cyperids. The results also show that the stilar appendages of *Orectanthe* (Xyridaceae) are nectariferous and anatomically similar to those found in *Abolboda*, distinguishing these two genera from *Xyris*. Stilar appendages also occur in Eriocaulaceae with the same function, position and vascularization, and are thus homologous structures, supporting the phylogenetic proximity between Eriocaulaceae and Xyridaceae.

Keywords: Eriocaulaceae, floral structures, Mayacaceae, Xyridaceae, xyrids

Introdução

Xyrideas é um clado de Poales que compreende Xyridaceae, Eriocaulaceae e Mayacaceae (Linder & Rudall 2005; Givnish et al. 2010). No entanto, o estudo filogenético mais recente de Poales (Givnish et al. 2010), baseado em dados morfológicos e moleculares, aponta que este é o clado com menos suporte dentro da ordem. Essas três famílias, juntamente com Rapateaceae e Commelinaceae, já foram agrupadas em Commelinales (Dahlgren & Clifford 1982; Dahlgren et al. 1985) por compartilhar endosperma nuclear e flores vistosas, com perianto diferenciado, características consideradas plesiomórficas para as commelinídeas.

Na maioria das análises filogenéticas de Poales, Xyridaceae e Eriocaulaceae são apontadas como grupos-irmãos (Givnish et al. 1999, 2005, 2006; Chase et al. 2000, 2006; Bremer 2002; Christin et al. 2008). Mayacaceae aparece como grupo-irmão de Eriocaulaceae (Givnish et al. 2010), ou do clado das cyperídeas, que inclui Cyperaceae, Juncaceae e Thurniaceae (Chase et al. 2000; Christin et al. 2008), ou ainda do clado formado pelas cyperídeas, mais Eriocaulaceae-Xyridaceae (Givnish et al. 2005, 2006; Chase et al. 2006). Segundo Givnish et al. (2010), há poucos caracteres morfológicos que aproximam Mayacaceae de Eriocaulaceae e Xyridaceae e poucas evidências de que estas três famílias continuem a formar um clado quando novos dados forem acrescentados em futuras análises filogenéticas.

Xyridaceae inclui 5 gêneros e cerca de 300 espécies herbáceas (Kral 1998). *Xyris* é o maior gênero da família e agrupa cerca de 270 espécies de distribuição pantropical, encontradas principalmente nas Américas Central e do Sul. Os outros quatro gêneros (*Abolboda*, *Aratitiopea*, *Achlyphila* e *Orectanthe*) apresentam distribuição restrita a regiões tropicais da América do Sul, sendo que *Abolboda* inclui cerca de 20 espécies, enquanto *Aratitiopea*, *Achlyphila* e *Orectanthe* são representados por uma ou duas espécies (Kral 1998). Estudos sobre anatomia floral de Xyridaceae foram desenvolvidos apenas em *Xyris*, com enfoque taxonômico (Sajo et al. 1997; Rudall & Sajo 1999). A biologia reprodutiva de espécies de *Abolboda* foi estudada por Oriani & Scatena (2011), que demonstraram pela primeira vez a produção de

néctar nos apêndices do estilete em Xyridaceae, caracterizando anatomicamente essas estruturas nectaríferas. Em Xyridaceae, apêndices do estilete ocorrem também em *Aratitiopea* e *Orectanthe* (Kral 1992, 1998), sendo uma das características que suportam a subfamília Abolbodoideae (Stevens 2011).

Eriocaulaceae agrupa 10 gêneros e cerca de 1400 espécies, com distribuição pantropical (Stützel 1998; Parra et al. 2010; Andrade et al. 2010, 2011). Ocorre predominantemente nos terrenos brejosos das regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo, com centro de diversidade genética na região tropical da América do Sul, especialmente no Brasil (Giulietti & Hensold 1990; Stützel 1998). Estudos sobre anatomia floral foram realizados com diferentes espécies de Eriocaulaceae, com enfoque taxonômico e evolutivo (Rosa & Scatena 2003, 2007). Segundo Rosa & Scatena (2007), as flores diclinas e isostêmones presentes na maioria dos representantes da família são provavelmente derivadas de um ancestral com flores hermafroditas e diplostêmones. Rosa & Scatena (2003, 2007) também relataram a ocorrência de estruturas nectaríferas nas flores de Eriocaulaceae, característica importante para a filogenia de Poales, pois reforça a proximidade filogenética entre esta família e Xyridaceae.

Mayacaceae é uma família com poucos representantes (4-10 espécies) de hábito herbáceo, aquático ou anfíbio (Stevenson 1998). Com exceção de *Mayaca baumii*, espécie africana, é restrita a áreas neotropicais, com maior concentração na América do Sul (Stevenson 1998). No estudo sobre anatomia floral de espécies neotropicais de Mayacaceae foram levantados caracteres que distinguem as espécies, bem como caracteres que suportam o posicionamento da família em Poales (Carvalho et al. 2009). Segundo Carvalho et al. (2009), o número de estames e de microsporângios e o tipo de óvulo e de placentação aproximam Mayacaceae das outras famílias da ordem.

Visto que há muitas incertezas quanto às relações interfamiliares em Poales, principalmente com relação à Xyridaceae, Eriocaulaceae e Mayacaceae, este trabalho teve como objetivo o estudo da anatomia floral de espécies de xyrídeas, buscando levantar caracteres que

possam embasar o posicionamento dessas três famílias na ordem. Para tanto, foram utilizados dados já publicados de Xyridaceae, Eriocaulaceae e Mayacaceae (Sajo et al. 1997; Rudall & Sajo 1999; Rosa & Scatena 2003, 2007; Carvalho et al. 2009; Oriani & Scatena 2011) e dados inéditos obtidos neste trabalho.

Material e Métodos

Foram estudadas as espécies: *Abolboda macrostachya* Spruce ex Malme (Lombardi et al. 7538, 7539), *Abolboda poarchon* Seub. (Coan & Oriani 61, 72), *Abolboda pulchella* Humb. & Bonpl. (Coan & Oriani 60, 71), *Mayaca fluviatilis* Aublet (Scatena et al. 312, 316; Coan & Oriani 51, 56), *Mayaca sellowiana* Kunth (Scatena et al. 307; Coan & Oriani 53), *Orectanthe sceptrum* (F. Oliver) Maguire (Lombardi et al. 7658), *Xyris pilosa* Kunth (Scatena et al. 308, 310) e *Xyris savanensis* Miq. (Coan & Oriani 84). O material foi coletado no Parque Nacional da Serra do Cipó (Minas Gerais) e em Itirapina (São Paulo), em áreas de cerrado com vegetação campestre, com exceção de *Abolboda macrostachya*, que foi coletada nas campinaranas amazônicas do Parque Nacional do Viruá (Roraima) e de *Orectanthe sceptrum*, que foi coletado nos tepuis do Parque Nacional do Monte Roraima (Roraima). Parte do material coletado foi herborizada, identificada e depositada no Herbarium Rioclarense do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (HRCB) e parte foi fixada em FAA 50 (Johansen 1940) para o estudo morfológico e anatômico. A identificação das espécies foi feita baseando-se nas chaves de Smith & Downs (1968), Kral (1992) e Wanderley & Giulietti (2002).

Foram estudados pelo menos três indivíduos de cada espécie. Flores isoladas foram submetidas aos processos de desidratação em série butílica, infiltração e inclusão em historresina (Feder & O'Brien 1968). O material incluído foi seccionado em micrótomo rotativo Leica - Reichert-Jung 2040 (6-8 µm de espessura), submetido à coloração com ácido periódico - reativo de Schiff (PAS) e azul de toluidina (Feder & O'Brien 1968), e montado em lâminas permanentes com Entellan. Fotomicrografias foram obtidas a partir do sistema de digitalização

de imagem IM50 (Leica Image Manager V.5.0). Flores isoladas também foram imersas em solução de vermelho neutro 1:10000 (Kearns & Inouye 1993) para evidenciar estruturas secretoras.

Para o estudo sob microscopia eletrônica de varredura, flores fixadas em FAA 50 e estocadas em álcool 70% foram imersas em FDA, submetidas ao ponto crítico e metalizadas em ouro. Os resultados foram registrados com sistema de digitalização de imagens DIPS (Digital Image Processing Software 2.2, Leipzig).

Resultados

Mayaca

Mayaca fluviatilis e *M. sellowiana* apresentam flores monoclinas, diclamídeas, heteroclamídeas e actinomorfas (fig. 1A). São dialissépalas, dialipétalas e os estames são alternos às pétalas, com filetes livres e anteras basifixas, de deiscência poricida (fig. 1A). O ovário é súpero e o estilete é terminal, alongado e simples (fig. 1A).

As sépalas e as pétalas apresentam epiderme unisseriada, com células de paredes finas, mesofilo parenquimático e feixes vasculares colaterais (fig. 2B, 2D). As sépalas são anfiestomáticas (fig. 2D - seta), com estômatos paracíticos (fig. 2C). As pétalas apresentam células epidérmicas com compostos fenólicos na região apical (fig. 2B) e, em vista frontal, são papilosas (fig. 2A), enquanto as células epidérmicas das sépalas são alongadas, de paredes retas (fig. 2C).

As anteras maduras apresentam paredes constituídas de epiderme com células espessadas em 'U' e endotécio não espessado (fig. 2F). Em secção longitudinal, observa-se que o espessamento das células epidérmicas é descontínuo, formando semianéis (fig. 2G). Em *M. fluviatilis* a antera é bisporangiada (fig. 2I), com poro inconspícuo e abertura voltada para o estigma (fig. 2L). Grãos de pólen germinam dentro das anteras e seus tubos polínicos prolongam-se até o estigma (fig. 2M). Em *M. sellowiana* a antera é tetrasporangiada (fig. 2J),

com poro bem desenvolvido formado pelo prolongamento da epiderme (fig. 2G) e localizado abaixo do estigma. Os estames são alternos às pétalas (fig. 1A) e opostos aos feixes dorsais dos carpelos (fig. 2H, 2K), correspondendo ao verticilo externo.

O estilete é oco (fig. 2L - seta, 2N), revestido internamente pelo tecido transmissor, que sofre protrusão para o interior do lóculo no ápice do ovário, caracterizando o obturador (fig. 2H, 2O-Q - cabeça-de-seta). Este tecido corou-se intensamente com vermelho neutro, evidenciando sua atividade secretora (fig. 2O). A figura 2P mostra detalhe do obturador em secção longitudinal e a figura 2Q mostra uma varredura do interior do ovário na região apical, com tubos polínicos (seta) passando pelo obturador. O ovário é tricarpelar e unilocular (fig. 2E). Apresenta epiderme unisseriada e mesofilo constituído de células parenquimáticas, vascularizado por três feixes dorsais e três feixes ventrais dos carpelos (fig. 2E). Os feixes dorsais dos carpelos prolongam-se no estilete, até os estigmas (fig. 2K, 2N), e os feixes ventrais vascularizam os óvulos (fig. 2E), o obturador (fig. 2H) e ascendem ao estilete, podendo se unir ou não ao feixes dorsais dos carpelos no ápice do ovário (fig. 2K, 2N). Os óvulos são ortótropos e bitegumentados, com placentação parietal (fig. 2E, 2R).

Abolboda e Orectanthe

Representantes de *Abolboda* e *Orectanthe* apresentam flores monoclinas, diclamídeas, heteroclamídeas e zigomorfas (fig. 1B-C, 1G respectivamente). São dialissépalas, gamopétalas (fig. 1B-C, 1G) e os estames são epipétalos, com anteras basifixas e deiscência longitudinal (fig. 1B, 1F). *Abolboda poarchon* e *A. macrostachya* apresentam três estaminódios alternos às pétalas, conspícuos e filiformes (fig. 1C-D - setas). Nos dois gêneros, o ovário é súpero e o estilete é terminal, alongado e simples (fig. 1C, 1F). O estilete apresenta três apêndices inseridos próximos à região mediana em *Abolboda* (fig. 1C - cabeça-de-seta, 1E) e na região basal em *Orectanthe* (fig. 1F - cabeça-de-seta), voltados ao dorso do carpelo. Em *Abolboda*, apenas dois

apêndices são desenvolvidos, sendo o terceiro reduzido (fig. 1C-E). O estigma é tripartido e fimbriado em *Abolboda* (fig. 1B-C) e trilobado em *Orectanthe* (fig. 1F-G).

As sépalas apresentam epiderme unisseriada e são anfiestomáticas (fig. 3A, 4A - seta), com estômatos paracíticos. Em *Orectanthe* ocorrem também estômatos tetracíticos (fig. 4B). O mesofilo é constituído de tecido de sustentação na face adaxial e de parênquima na face abaxial em *Abolboda* (fig. 3A), enquanto que em *Orectanthe* constitui-se de parênquima na face adaxial e de parênquima clorofiliano frouxo na face abaxial (fig. 4A). As sépalas são carenadas e as carenas preenchidas por parênquima em *Abolboda* (fig. 3A) e por parênquima clorofiliano e feixes vasculares em *Orectanthe* (fig. 4A). As pétalas apresentam epiderme unisseriada, com células de paredes finas, e mesofilo parenquimático com feixes vasculares colaterais (fig. 3B, 4C). Em vista frontal, as células epidérmicas das sépalas e pétalas são alongadas, com paredes tangenciais retas (fig. 3C, 4D), recobertas por cera de ornamentação estriada (fig. 3D, 4D).

As anteras são tetrasporangiadas (fig. 4E). A parede da antera madura apresenta epiderme com células de paredes finas, endotécio com espessamento em banda e remanescentes do tapete (fig. 3E, 4H). Os filetes constituem-se de epiderme, córtex parenquimático e feixe vascular (fig. 4G). Os estaminódios de *A. poarchon* e *A. macrostachya* são vascularizados (fig. 3H - setas) e, pela posição, correspondem ao verticilo externo de estames.

O estilete é constituído por células parenquimáticas e é vascularizado pelos feixes dorsais dos carpelos, que ascendem até os estigmas, ramificando-se para vascularizar os apêndices (fig. 1E, 3F-I, 4I, 4L, 4O-P). Em *Orectanthe*, o estilete apresenta canais secretores que se prolongam até os estigmas (fig. 4F - detalhe). Os apêndices do estilete apresentam epiderme unisseriada, com células arredondadas, de paredes finas, e córtex parenquimático (fig. 3G-I, 4I-L); são vascularizados por xilema e floema, sendo que na porção distal observam-se apenas elementos de floema (fig. 3H, 4K). Os apêndices do estilete coraram-se intensamente com vermelho neutro, indicando sua atividade secretora.

O ovário apresenta epiderme unisseriada, com células de paredes finas em *Abolboda* (fig. 3K) e espessadas em *Orectanthe* (fig. 4M-N). O mesofilo constitui-se de células parenquimáticas e é vascularizado pelos feixes dorsais e ventrais dos carpelos (fig. 3K, 4N). O ovário é tricarpelar e unilocular (fig. 3K, 4N), com septos incompletos, não fundidos entre si na região central do ovário (fig. 3L, 4Q). Os óvulos são vascularizados pelos feixes ventrais dos carpelos (fig. 3J-K, 4N), são anátropos e bitegmentados, com placentação parietal intrusiva (fig. 3J-K, 3M, 4N).

Xyris

As espécies de *Xyris* apresentam flores monoclinas, diclamídeas, heteroclamídeas e actinomorfas (fig. 1H). São dialissépalas, dialipétalas (fig. 1H-I) e apresentam três estaminódios desenvolvidos, alternos às pétalas (fig. 1I, 1K - seta). Os estames são epipétalos, com anteras de deiscência longitudinal (fig. 1K-L - cabeça-de-seta). O ovário é súpero (fig. 1I) e o estilete é terminal e tripartido (fig. 1I, 1K).

As sépalas são carenadas (fig. 1I). Apresentam epiderme unisseriada, com células de paredes finas ou espessadas (fig. 5A-B). Podem apresentar tricomas com compostos fenólicos na região da carena (fig. 5B). O mesofilo é constituído de parênquima e apenas um feixe vascular (fig. 5A-B) e é restrito à região da carena. As pétalas apresentam epiderme unisseriada e mesofilo parenquimático, com feixes vasculares colaterais (fig. 5C). Em vista frontal, suas células epidérmicas e as das sépalas são alongadas, de paredes retas, e recobertas por cera de ornamentação estriada (fig. 5D).

Os estaminódios são constituídos de células parenquimáticas e são vascularizados (fig. 5F-G). Em *X. savanensis* são bífidos e glabros (fig. 1K-L, 5F) e em *X. pilosa* são bífidos, com tricomas unisseriados e pluricelulares na região apical (fig. 1I-J, 5G). Os tricomas apresentam células basais alongadas (fig. 1J) e células apicais arredondadas (fig. 1M), ambas impregnadas por cera que lhes confere ornamentação estriada. O mesmo ocorre nas células epidérmicas dos estaminódios de *X. savanensis* (fig. 5E). As anteras maduras são tetrasporangiadas (fig. 5I, 5K) e

suas paredes constituem-se de epiderme papilosa e endotécio com espessamento em banda inconspícuo (fig. 5L). Os filetes apresentam epiderme, córtex parenquimático e feixe vascular (fig. 5H-I).

O ovário é tricarpelar, unilocular, revestido por epiderme unisseriada e preenchido por mesofilo com células parenquimáticas (fig. 5H, 5M, 5O). É vascularizado pelos três feixes dorsais dos carpelos, que se prolongam até os estigmas (fig. 5J-K). Os feixes ventrais dos carpelos se ramificam na base do ovário para vascularizar os óvulos (fig. 5M, 5O). Os óvulos são ortótropos, bitegumentados, com placentação basal, e seus funículos são alongados, elevando-os próximos ao ápice do ovário (fig. 5N-O).

Uma tabela comparativa com os dados obtidos neste trabalho e com dados da literatura é fornecida para auxiliar a discussão (Tab. 1).

Discussão

Os resultados desse trabalho mostram evidências anatômicas de que os apêndices do estilete de *Orectanthe* correspondem a nectários. Esses apêndices são vascularizados por floema e xilema e sua estrutura é semelhante àquela dos apêndices do estilete de *Abolboda*, para os quais a produção de néctar foi comprovada (Oriani & Scatena 2011).

Os nectários florais das angiospermas podem ser estruturados ou não estruturados e, quando estruturados, apresentam feixes vasculares que os suprem com água e nutrientes, parênquima, onde o néctar é produzido e armazenado, e células epidérmicas de paredes finas (Fahn 1979; Pacini et al. 2003), como observado em *Abolboda* e *Orectanthe*. O néctar pode ser secretado por estômatos ou pelas próprias células epidérmicas (Fahn 1979; Pacini et al. 2003), semelhante ao que ocorre em *Abolboda* e *Orectanthe*, cujos nectários não apresentam estômatos.

Em representantes de Eriocaulaceae também ocorrem apêndices no estilete com função nectarífera (Rosa & Scatena 2003, 2007). Em Paepalanthoideae, que agrupa a maioria dos gêneros da família, o estilete ramifica-se em três porções estigmáticas, não vascularizadas e

posicionadas na região comissural dos carpelos, alternadas por três porções nectaríferas (Rosa & Scatena 2007). Estas são voltadas à região dorsal dos carpelos e vascularizadas pelos feixes dorsais dos mesmos, apresentando, portanto, a mesma função, posição e tipo de vascularização dos apêndices do estilete de *Abolboda* e *Orectanthe*. A evidência de que os apêndices nectaríferos do estilete de Xyridaceae e Eriocaulaceae são estruturas homólogas é um dos principais resultados desse trabalho e reforça a estreita relação dessas duas famílias, apontadas como grupos-irmãos na maioria das análises filogenéticas de Poales (Givnish et al. 1999, 2005, 2006; Chase et al. 2000, 2006; Bremer 2002; Christin et al. 2008). A homologia dessas estruturas é reforçada pelo estudo da ontogenia do gineceu de espécies de Eriocaulaceae e Xyridaceae (Stützel 1990), que mostra que em ambas os apêndices apresentam morfogênese semelhante.

Em Poales, além de Paepalanthoideae (Eriocaulaceae) e Abolbodoideae (Xyridaceae), que apresentam apêndices nectaríferos no estilete, a presença nectários septais foi relatada em Bromeliaceae (Bernardello et al. 1991; Sajo et al. 2004) e Rapateaceae (Givnish et al. 1999, 2000). Em Eriocaulaceae ocorrem ainda pistilódios nectaríferos nas flores estaminadas de todas as espécies (Rosa & Scatena 2007), correspondendo a uma apomorfia da família.

A produção de néctar tem correlação significativa com a polinização por animais em Poales (Givnish et al. 2010). De acordo com os autores, a polinização por animais é condição plesiomórfica e predominante na ordem, com várias origens independentes para a polinização pelo vento, ao contrário do pressuposto em trabalhos anteriores (Linder & Rudall 2005). Estudos experimentais com espécies de Eriocaulaceae (Ramos et al. 2005; Oriani et al. 2009) e Xyridaceae (Oriani & Scatena 2011) demonstram polinização por pequenos insetos, principalmente abelhas, sendo o néctar a principal recompensa floral. Para as demais espécies de Poales polinizadas por animais que não produzem néctar, acredita-se que o pólen seja o principal recurso floral utilizado pelos polinizadores.

Os representantes de Mayaceae não apresentam estruturas nectaríferas, mas características florais como cor, tamanho e presença de anteras poricidas indicam polinização por abelhas. No campo, observaram-se abelhas (Halictidae) visitando flores de *M. sellowiana* e vibrando suas anteras, em um comportamento típico de polinizadores. Em *M. fluviatilis*, os poros das anteras são inconspícuos e localizam-se na mesma altura dos estigmas. Os resultados aqui apresentados mostram grãos de pólen germinando dentro das anteras, com tubos polínicos crescendo em direção ao estigma, o que indica cleistogamia. A autocompatibilidade também foi verificada em Eriocaulaceae (Ramos et al. 2005; Oriani et al. 2009) e Xyridaceae (Oriani & Scatena 2011), sendo provavelmente uma condição compartilhada pelas xyrídeas.

Além da ausência de nectários, Mayaceae se distingue das demais xyrídeas por apresentar células epidérmicas papilosas nas pétalas; redução do verticilo interno de estames; anteras poricidas; ausência de espessamento no endotécio; estilete e estigmas vascularizados pelos feixes dorsais e ventrais dos carpelos; e presença de obturador no ovário.

A presença de células epidérmicas papilosas nas pétalas provavelmente é mais um dos atributos florais que servem de atrativo aos polinizadores. A redução total do verticilo interno de estames ocorre também em representantes de Juncaceae (Oriani & Scatena, dados não publicados) e Cyperaceae (Goetghebeur 1998; Vrijdaghs et al. 2005), aproximando Mayaceae das cyperídeas.

A presença de obturador também é uma característica compartilhada por Mayaceae, Juncaceae e Cyperaceae, porém com formas e origens distintas. Em Juncaceae, corresponde a tricomas originados da placenta (Oriani & Scatena, dados não publicados), enquanto que em Cyperaceae tem aparência glandular e origem funicular (Goetghebeur 1998; Coan et al. 2008). Em Mayaceae, a ocorrência de obturador está sendo relatada pela primeira vez na literatura e corresponde à modificação do tecido transmissor, que sofre protrusão para o interior do lóculo, no ápice do ovário, e apresenta atividade secretora. As substâncias secretadas por esse tecido provavelmente direcionam o crescimento dos tubos polínicos aos óvulos por quimiotropia,

função do obturador já demonstrada para outras angiospermas (Maheshwari 1950; Tilton and Horner 1980; Herrero 2000). A proximidade filogenética entre Mayaceae, Juncaceae e Cyperaceae sugerida neste trabalho corrobora análises filogenéticas de Poales em que Mayaceae aparece como grupo-irmão do clado das cyperídeas (Chase et al. 2000; Christin et al. 2008).

Eriocaulaceae e Xyridaceae compartilham várias outras características além dos nectários, sustentando a proximidade das duas famílias, indicada nas análises filogenéticas (Givnish et al. 1999, 2005, 2006; Chase et al. 2000, 2006; Bremer 2002; Christin et al. 2008). Dentre essas características estão: pétalas com células epidérmicas alongadas, de paredes retas; estames epipétalos; estaminódios; anteras com deiscência longitudinal; endotécio com espessamento em banda; e estigmas vascularizados apenas pelos feixes dorsais dos carpelos.

Os estaminódios de Eriocaulaceae e Xyridaceae correspondem à redução do verticilo externo de estames. Em Eriocaulaceae eles são inconspícuos e microscópicos na maioria das espécies (Rosa & Scatena 2007), enquanto que em Xyridaceae são conspícuos. Em *Xyris*, os estaminódios apresentam tricomas com células impregnadas por cera com ornamentação característica, correspondendo a uma apomorfia do gênero. Uma hipótese a ser considerada é a de que, pelo fato das células apicais desses tricomas serem arredondadas, com cutícula ornamentada, elas se assemelham a grãos de pólen e atuam como atrativo aos polinizadores. Outra hipótese é a de que os grãos de pólen se aderem aos tricomas e conseqüentemente os estaminódios atuam na apresentação secundária do pólen. Segundo Walker-Larsen & Harder (2000), dentre as funções secundárias que os estaminódios podem exercer, está a atração visual para os agentes polinizadores e a facilidade de acesso aos grãos de pólen, corroborando as hipóteses acima. *Xyris savanensis* é uma das poucas espécies de *Xyris* que apresentam estaminódios glabros (Smith & Downs 1968), correspondendo talvez a um estágio intermediário na evolução dos estames a estaminódios tricomatosos.

Os estames que perdem sua função primária de produção de pólen e não assumem uma função floral secundária são rapidamente perdidos durante a evolução das espécies (Walker-

Larsen & Harder 2000). Isso pode estar ocorrendo em *Abolboda*, gênero no qual a presença de estaminódios não é constante e, quando estes ocorrem, são aparentemente não funcionais. Segundo Sajo et al. (1997), o fato de em *Abolboda* ocorrerem poucas espécies com estaminódios e de estes estarem ausentes em *Achlyphila* e *Orectanthe* pode sugerir que em Xyridaceae exista uma tendência dos estaminódios reverterem à condição foliar e se incorporarem à corola, contribuindo para a gamopetalia nestes gêneros.

Além da presença de estaminódios conspícuos, são características diagnósticas de Xyridaceae sépalas quilhadas e presença de cera ornamentada nas peças florais, provavelmente com função de proteção, podendo atuar também na atração de agentes polinizadores.

Já Eriocaulaceae é a única família das xyrídeas que apresenta flores diclinas e pistilódios nectaríferos nas flores estaminadas, que provavelmente correspondem à redução do gineceu a partir de um ancestral com flores hermafroditas. Nessas espécies o gineceu assumiu função secundária de secreção de néctar, daí a denominação de pistilódios nectaríferos (Rosa & Scatena 2007). Além dessas características, Eriocaulaceae também é a única família das xyrídeas a apresentar ovário trilocular e óvulos com placentação axilar, de acordo com os dados obtidos neste trabalho. No entanto, esta condição pode ser resultado de uma protrusão da base do ovário em direção ao ápice, elevando os funículos e tornando os óvulos pêndulos (Coan & Stützel, comunicação pessoal).

Os ovários de *Abolboda* e *Orectanthe* (Xyridaceae) também são descritos na literatura como triloculares, com óvulos de placentação axial (Smith & Downs 1968; Kral 1992, 1998). No entanto, nossos resultados mostram que os ovários são uniloculares, com placentação parietal intrusiva, visto que os septos dos carpelos não são fundidos na região central do ovário. Essa característica é importante não só para Xyridaceae, pois aproxima *Abolboda* e *Orectanthe* de *Xyris*, como também para Poales. Estudos ontogenéticos com espécies de Eriocaulaceae poderão confirmar a hipótese de que, na realidade, o ovário nesta família é unilocular, com óvulos de placentação basal, sendo assim a condição unilocular comum às xyrídeas.

As características anatômicas das flores têm valor taxonômico não só na delimitação das famílias de xyrídeas, como também em nível infrafamiliar. Em Mayacaceae, o tamanho dos poros e a forma das anteras, a disposição dos microsporângios, o número de óvulos e a forma do canal estilar diferenciam as espécies entre si (Carvalho et al. 2009). Segundo Carvalho et al. (2009), as anteras de *M. fluviatilis* são tetrasporangiadas e os microsporângios dispõem-se uns sobre os outros transversalmente, característica diagnóstica da espécie. No entanto, o que se observou nos nossos resultados é que as anteras de *M. fluviatilis* são bisporangiadas, diferindo das demais espécies de *Mayaca*, que apresentam anteras tetrasporangiadas. Essa observação está de acordo com as descrições taxonômicas da família que relatam a ocorrência de anteras tetra e bisporangiadas (Stevenson 1998).

Em Eriocaulaceae, características das pétalas como fusão ou redução a tricomas e número de microsporângios diferenciam os gêneros (Stützel 1998). O tipo de androceu e a presença ou não de glândulas nas pétalas suportam a divisão da família em duas subfamílias (Ruhland 1903).

Já em Xyridaceae, flores com simetria zigomorfa; estômatos na face abaxial das sépalas; corola gamopétala; estilete simples, com apêndices nectaríferos; e óvulos anátropos são características compartilhadas por *Abolboda* e *Orectanthe*. Essas características distinguem estes dois gêneros de *Xyris*, corroborando a subdivisão da família e o posicionamento de *Xyris* em Xyridoideae (Stevens 2011). *Xyris* se distingue ainda dos demais gêneros de Xyridaceae por características anatômicas dos órgãos vegetativos (Scatena et al., submetido) e embriológicas (Rudall & Sajo 1999). Outra característica anatômica da flor que diferencia *Xyris* de *Abolboda* e *Orectanthe* é a presença de apenas um feixe vascular nas sépalas. Isso pode ser explicado pelo tamanho reduzido do mesofilo, que é restrito apenas à região da carena, sendo a maior parte da sépala formada apenas pela epiderme nessas espécies. Através da estrutura anatômica das sépalas também é possível diferenciar *Abolboda* de *Orectanthe*.

A ocorrência de estômatos tetracíticos nas sépalas é característica diagnóstica de *Orectanthe sceptrum*. Canais secretores no estigma também é característica exclusiva e inédita da espécie e merece maiores investigações visando esclarecer sua função.

Os resultados aqui obtidos apontam a necessidade de futuros trabalhos de anatomia floral com os diferentes gêneros de Xyridaceae, bem como trabalhos de biologia reprodutiva com outras espécies de xyrídeas, visando o entendimento da evolução do grupo. Espera-se que os caracteres aqui levantados possam ser usados em futuras análises filogenéticas de Poales e ajudem a esclarecer de forma mais consistente o posicionamento dessas famílias na ordem.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processos: 141582/2007-3, 471202/2008-8 e 301692/2010-6) pelo auxílio financeiro.

Literatura citada

- Andrade MJG, AM Giulietti, A Rapini, LP Queiroz, AS Conceição, PRM Almeida, C van der Berg 2010 A comprehensive phylogenetic analysis of Eriocaulaceae: evidence from nuclear (ITS) and plastid (*psbA-trnH* and *trnL-F*) DNA sequences. *Taxon* 59:379-388.
- Andrade MJG, AM Giulietti, RM Harley, C van der Berg 2011 *Blastocaulon* (Eriocaulaceae), a synonym of *Paepalanthus*: morphological and molecular evidence. *Taxon* 60:178-184.
- Bernardello LM, L Galetto, HR Juliani 1991 Floral nectar, nectary structure and pollinators in some Argentinean Bromeliaceae. *Ann Bot* 67:401-411.
- Bremer K 2002 Gondwanan evolution of the grass alliance of families (Poales). *Evolution* 56:1374-1387.
- Carvalho MLS, AT Nakamura, MG Sajo 2009 Floral anatomy of Neotropical species of Mayacaceae. *Flora* 204:220-227.

- Chase MW, DE Soltis, PS Soltis, PJ Rudall, MF Fay, WH Hahn, S Sullivan, J Joseph, M Molvray, PJ Kores, TJ Givnish, KJ Sytsma, JC Pires 2000 Higher-level systematics of the monocotyledons: an assessment of current knowledge and a new classification. Pages 3-16 in KL Wilson, DA Morrison, eds. *Monocots: systematics and evolution*. CSIRO, Melbourne.
- Chase MW, MF Fay, DS Devey, O Maurin, N Ronsted, TJ Davies, Y Pillon, G Petersen, O Seberg, MN Tamura, CB Asmussen, K Hilu, T Borsch, JI Davis, DW Stevenson, JC Pires, TJ Givnish, KJ Sytsma, MA McPherson, SW Graham, HS Rai 2006 Multigene analyses of monocot relationships: a summary. *Aliso* 22:63-75.
- Christin PA, G Besnard, E Samaritani, MR Duvall, TR Hodkinson, V Savolainen, N Salamin 2008 Oligocene CO₂ decline promoted C₄ photosynthesis in grasses. *Curr Biol* 18:37-43.
- Coan AI, MV Alves, VL Scatena 2008 Comparative study of ovule and fruit development in species of *Hypolytrum* and *Rhynchospora* (Cyperaceae, Poales). *Plant Syst Evol* 272:181-195.
- Dahlgren RMT, HT Clifford 1982 *The monocotyledons: a comparative study*. Academic Press, London.
- Dahlgren RMT, HT Clifford, PF Yeo 1985 *The families of the monocotyledons. Structure, evolution, and taxonomy*. Springer-Verlag, Berlin.
- Fahn A 1979 *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London.
- Feder N, TP O'Brien 1968 *Plant microtechnique: some principles and new methods*. *Amer J Bot* 55:123-142.
- Giulietti AM, N Hensold 1990 Padrões de distribuição geográfica dos gêneros de Eriocaulaceae. *Acta Bot Bras* 4:133-159.
- Givnish TJ, TM Evans, JC Pires, KJ Sytsma 1999 Polyphyly and convergent morphological evolution in Commelinales and Commelinidae: evidence from *rbcL* sequence data. *Mol Phyl Evol* 12:360-385.

- Givnish TJ, TM Evans, ML Zjhra, TB Patterson, PE Berry, KJ Sytsma 2000 Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: evidence from *ndhF* sequences and morphology. *Evolution* 54:1915-1937.
- Givnish TJ, JC Pires, SW Graham, MA McPherson, LM Prince, TB Patterson, HS Rai, EH Roalson, TM Evans, WJ Hahn, KC Millam, AW Meerow, M Molvray, PJ Kores, HE O'Brien, JC Hall, WJ Kress, KJ Sytsma 2006 Phylogenetic relationships of monocots based on the highly informative plastid gene *ndhF*: evidence for widespread concerted convergence. *Aliso* 22:28-51.
- Givnish TJ, JC Pires, SW Graham, MA McPherson, LM Prince, TB Patterson, HS Rai, EH Roalson, TM Evans, WJ Hahn, KC Millam, AW Meerow, M Molvray, PJ Kores, HE O'Brien, JC Hall, WJ Kress, KJ Sytsma 2005 Repeated evolution of net venation and fleshy fruits among monocots in shaded habitats confirms *a priori* predictions: evidence from an *ndhF* phylogeny. *Proc R Soc B* 272:1481-1490.
- Givnish TJ, M Ames, JR McNeal, MR McKain, PR Steele, CW dePamphilis, SW Graham, JC Pires, DW Stevenson, WB Zomlefer, BG Briggs, MR Duvall, MJ Moore, JM Heaney, DE Soltis, PS Soltis, K Thiele, JH Leebens-Mack 2010 Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. *Ann Missouri Bot Gard* 97:584-616.
- Goetghebeur P 1998 Cyperaceae. Pages 141-190 *in* K Kubitzki, ed. *The families and genera of vascular plants - IV Monocotyledons*. Springer Verlag, Berlin.
- Herrero M 2000 Changes in the ovary related to pollen tube guidance. *Ann Bot* 85:79-85.
- Johansen DA 1940 *Plant microtechnique*. Mc Graw-Hill Book Co, New York.
- Kearns CA, DW Inouye 1993 *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado, Niwot.
- Kral R 1992 A treatment of American Xyridaceae exclusive of *Xyris*. *Ann Missouri Bot Gard* 79:819-885.

- Kral R 1998 Xyridaceae. Pages 197-207 in K Kubitzki, ed. The families and genera of vascular plants - IV Monocotyledons. Springer Verlag, Berlin.
- Linder HP, PJ Rudall 2005 Evolutionary history of Poales. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 36:107-124.
- Maheshwari P 1950 An introduction to the embryology of angiosperms. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.
- Oriani A, PT Sano, VL Scatena 2009 Pollination biology of *Syngonanthus elegans* (Eriocaulaceae-Poales). *Aust J Bot* 57:94-105.
- Oriani A, VL Scatena 2011 Reproductive biology of *Abolboda pulchella* and *A. poarchon* (Xyridaceae: Poales). *Ann Bot* 107:611-619.
- Pacini E, M Nepi, JL Vesprini 2003 Nectar biodiversity: a short review. *Plant Syst Evol* 238:7-21.
- Parra LR, AM Giulietti, MJG Andrade, C van der Berg 2010 Reestablishment and new circumscription of *Comanthera* (Eriocaulaceae). *Taxon* 59:1135-1146.
- Ramos COC, EL Borba, LS Funch 2005 Pollination in Brazilian *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) species: evidence for entomophily instead of anemophily. *Ann Bot* 96:387-397.
- Rosa MM, VL Scatena 2003 Floral anatomy of *Eriocaulon elichrysoides* and *Syngonanthus caulescens* (Eriocaulaceae). *Flora* 198:188-199.
- Rosa MM, VL Scatena 2007 Floral anatomy of Paepalanthoideae (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures. *Ann Bot* 99:131-139.
- Rudall PJ, MG Sajo 1999 Systematic position of *Xyris*: flower and seed anatomy. *Int J Plant Sci* 160:795-808.
- Ruhland W 1903 Eriocaulaceae. Pages 1-294 in A Engler, ed. Das Pflanzenreich. Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Sajo MG, MGL Wanderley, NL Menezes 1997 Observações anatômicas sobre a vascularização floral em *Xyris* L. (Xyridaceae). *Bol Bot Univ São Paulo* 16:15-20.

- Sajo MG, PJ Rudall, CJ Prychid 2004 Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. *Plant Syst Evol* 247:215-231.
- Scatena VL, CC Formiga, A Oriani On the taxonomic value of the anatomical structure of vegetative organs and scapes of *Abolboda* species (Xyridaceae – Poales). *J Torrey Bot Soc* (submetido).
- Smith LB, RJ Downs 1968 Xyridaceae. Pages 1-215, tab. 1-42 in AR Teixeira, ed. *Flora Brasílica*. Vol. 9. Instituto de Botânica, São Paulo.
- Stevens PF 2011 Angiosperm phylogeny website. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Stevenson DW 1998 Mayacaceae. Pages 294-296 in K Kubitzki, ed. *The families and genera of vascular plants - IV Monocotyledons*. Springer Verlag, Berlin.
- Stützel T 1990 “Appendices” an Gynoeceum der Xyridaceen Morphogenie, Funktion und Systematische Bedeutung. *Beitr Biol Pfl* 65:275-299.
- Stützel T 1998 Eriocaulaceae. Pages 197-207 in K Kubitzki, ed. *The families and genera of vascular plants - IV Monocotyledons*. Springer Verlag, Berlin.
- Tilton VR, HTJr Horner 1980 Stigma, style, and obturator of *Ornithogalum caudatum* (Liliaceae) and their function in the reproductive process. *Amer J Bot* 67:1113-1131.
- Vrijdaghs A, P Caris, P Goetghebeur, E Smets 2005 Floral ontogeny in *Scirpus*, *Eriophorum* and *Dulichium* (Cyperaceae), with special reference to the perianth. *Ann Bot* 95:1199-1209.
- Walker-Larsen J, LD Harder 2000 The evolution of staminodes in angiosperms: patterns of stamen reduction, loss, and functional re-invention. *Amer J Bot* 87:1367-1384.
- Wanderley MG, AM Giulietti 2002 Mayacaceae. Pages 185-186 in MG Wanderley, GJ Shepherd, AM Giulietti, eds. *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. Vol 2. Editora Hucitec, São Paulo.

Tabela 1. Comparação de caracteres florais de Mayaceae, Xyridaceae e Eriocaulaceae (xyrídeas, Poales)

	Mayaceae		Xyridaceae		Eriocaulaceae	
	Xyris	Abolboda	Orectanthe	Eriocauloideae	Paepalanthoideae	
Classificação da flor quanto ao sexo	monoclina	monoclina	monoclina	<i>diclina</i>	monoclina/ <i>diclina</i>	
Simetria	actinomorfa	<i>zigomorfa</i>	<i>zigomorfa</i>	actinomorfa	actinomorfa	
Cálice	dialissépalo	dialissépalo	dialissépalo	dialissépalo	gamo/dialissépalo	
Sépalas quilhadas	ausente	presente	presente	ausente	ausente	
Estômatos nas sépalas	presente (paracítico)	ausente	presente (paracítico)	ausente	ausente	
Corola	dialipétala	gamopétala	gamopétala	gamo/dialipétala	gamo/dialipétala	
Forma das células epidérmicas das pétalas	arredondadas/papilosas	alongadas, paredes retas	alongadas, paredes retas	alongadas, paredes retas	alongadas, paredes retas	
Glândulas nas pétalas	ausente	ausente	ausente	presente	ausente	
Androceu	isostêmones estames livres	isostêmones estames epipétalos	isostêmones estames epipétalos	diplostêmones estames epipétalos	isostêmones estames livres	
Verticilo de estames reduzido	interno	externo	externo	-	externo nas flores estaminadas	
Estaminódios	ausente	presente (3) conspicuos, elaborados	ausente	presente (3) nas flores pistiladas inconspicuos	presente (2-3) inconspicuos, escamiformes	
Número de microsporângios	2 ou 4	4	4	4	2 ou 4	
Deiscência da antera	<i>porcida</i>	longitudinal	longitudinal	longitudinal	longitudinal	
Espessamento do endotécio	ausente	em banda	em banda	em banda	em banda	
Pistilódios	ausente	ausente	ausente	presente (3) nas flores estaminadas	presente (2-3) nas flores estaminadas	
Vascularização do estilete	feixes dorsais e ventrais dos carpelos	feixes dorsais dos carpelos	feixes dorsais dos carpelos	feixes dorsais dos carpelos	feixes dorsais dos carpelos	
Apêndices nectaríferos do estilete	ausente	ausente	presente	ausente	presente	
Vascularização dos apêndices do estilete	-	abaixo do estigma	abaixo do estigma	na altura dos estigmas	na altura dos estigmas	
Obturador	presente	feixes dorsais dos carpelos	feixes dorsais dos carpelos	-	feixes dorsais dos carpelos	
Número de lóculos no ovário	unilocular	ausente	ausente	ausente	ausente	
Número de óvulos por lóculo	pluriovulado	unilocular	unilocular	trilocular	Bi ou trilocular	
Tipo de placentação	parietal	pluriovulado	pluriovulado	uniovulado	uniovulado	
Tipo de óvulo	ortótopo	basal/central/parietal	parietal	axilar	axilar	
Compostos fenólicos	presente	ortótopo	anátropo	ortótopo	ortótopo	
Cutícula ornamentada	ausente	presente	presente	ausente	ausente	

Legendas

Fig. 1 Aspectos morfológicos de flores de xyrídeas. *A*, *Mayaca sellowiana*. *B-D*, *Abolboda poarchon*. *B*, inflorescência. *C*, detalhe da flor dissecada. *D*, detalhe dos apêndices nectaríferos do estilete; as setas indicam estaminódios e as cabeças-de-seta indicam apêndices do estilete. *E*, *Abolboda pulchella*, detalhe dos apêndices do estilete. *F-G*, *Orectanthe sceptrum*. *F*, detalhe da flor dissecada; a cabeça-de-seta indica apêndices do estilete. *G*, inflorescência. *H-J*, *Xyris pilosa*. *H*, inflorescência. *I*, detalhe da flor; a seta indica estaminódio. *J*, eletromicrografia (MEV) da região apical do estaminódio. *K-L*, *Xyris savanensis*. *K*, detalhe da flor, mostrando estame epipétalo (cabeça-de-seta), estilete tripartido e estaminódio (seta); *L*, MEV do estame epipétalo (cabeça-de-seta) e do estaminódio. *M*, *Xyris pilosa*, MEV das células apicais do tricoma do estaminódio. Escalas: *A*, *F*, 2.5 mm; *B*, 8 mm; *C*, 4 mm; *D-E*, 1.5 mm; *G*, 1 cm; *H*, 1.7 mm; *I*, 1 mm; *J*, 25 µm; *K*, 520 µm; *L*, 300 µm; *M*, 5 µm.

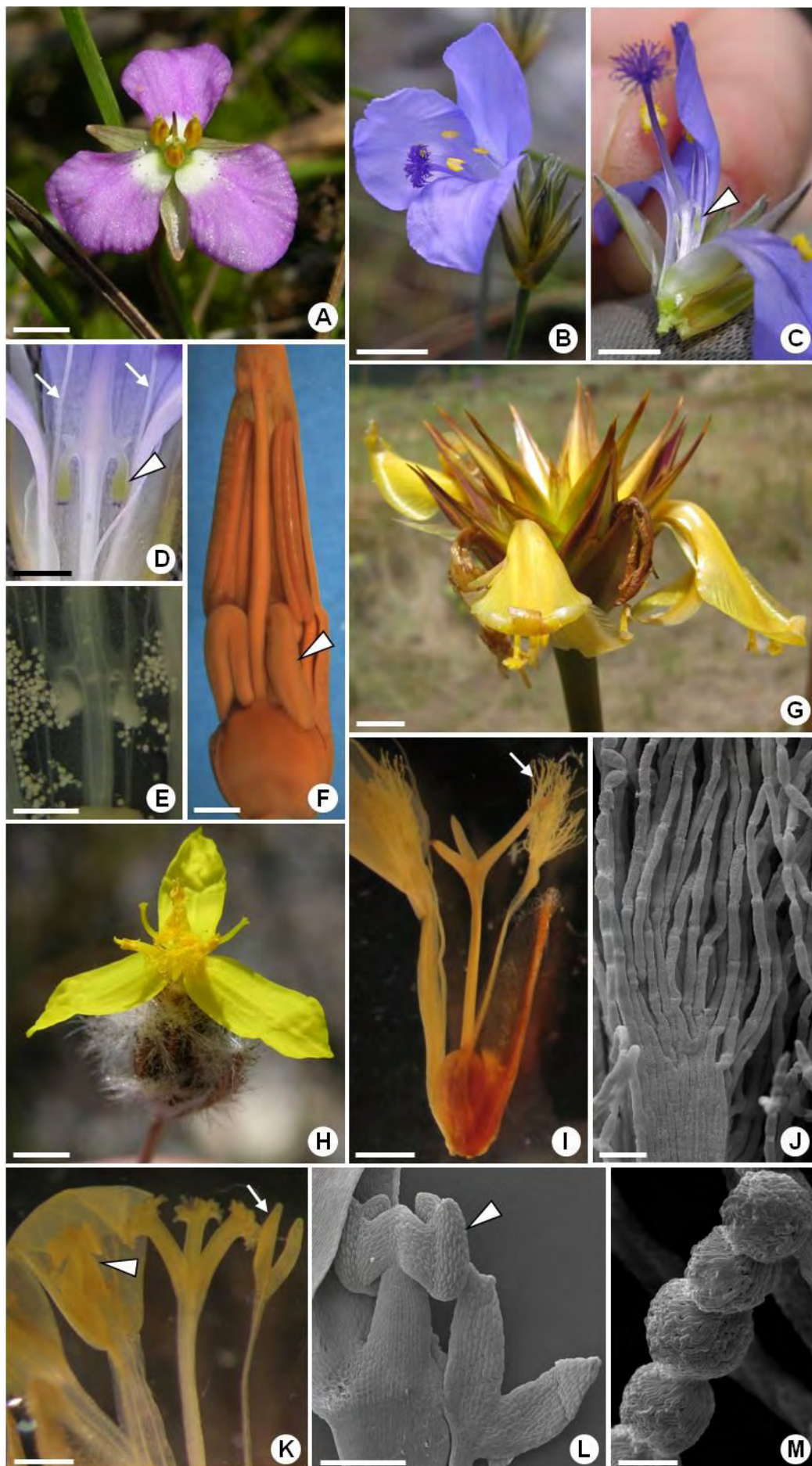
Fig. 2 Aspectos anatômicos de flores de *Mayaca*. *A-C*, *Mayaca sellowiana*. *A*, eletromicrografia (MEV) da epiderme adaxial da pétala. *B*, secção transversal (ST) da região apical da pétala. *C*, MEV da epiderme abaxial da sépala, com estômato paracítico. *D-F*, *Mayaca fluviatilis*. *D*, ST da região mediana da pétala (*P*) e da sépala (*S*); a seta indica estômato. *E*, ST da região mediana do ovário. *F*, ST da parede da antera. *G*, *Mayaca sellowiana*, detalhe do poro da antera em secção longitudinal (SL). *H-I*, *Mayaca fluviatilis*. *H*, ST da região apical do ovário, mostrando o obturador. *I*, ST da antera bisporangiada. *J*, *Mayaca sellowiana*, ST da antera tetrasporangiada. *K-P*, *Mayaca fluviatilis*. *K*, ST da região de transição entre ovário e estilete. *L*, SL da antera; a seta indica estilete oco. *M*, SL da antera e do estigma, mostrando grãos de pólen germinando. *N*, ST da região apical do estilete. *O*, ovário corado com vermelho neutro; a cabeça-de-seta indica obturador. *P*, SL de detalhe do ápice do ovário; a seta indica tubo polínico e a cabeça-de-seta indica obturador. *Q-R*, *Mayaca sellowiana*. *Q*, MEV do interior do ápice do ovário; a seta indica tubos polínicos e as cabeças-de-seta indicam obturador. *R*, detalhe do óvulo ortótopo e bitegmentado. Escalas: *A*, *C*, *Q*, 40 µm; *B*, *D*, *G*, 30 µm; *E*, *H-N*, *P*, *R*, 50 µm; *F*, 20 µm; *O*, 340 µm. *E* = epiderme; *En* = endotécio; *FD* = feixe dorsal do carpelo; *FV* = feixe ventral do carpelo; *Ob* = obturador.

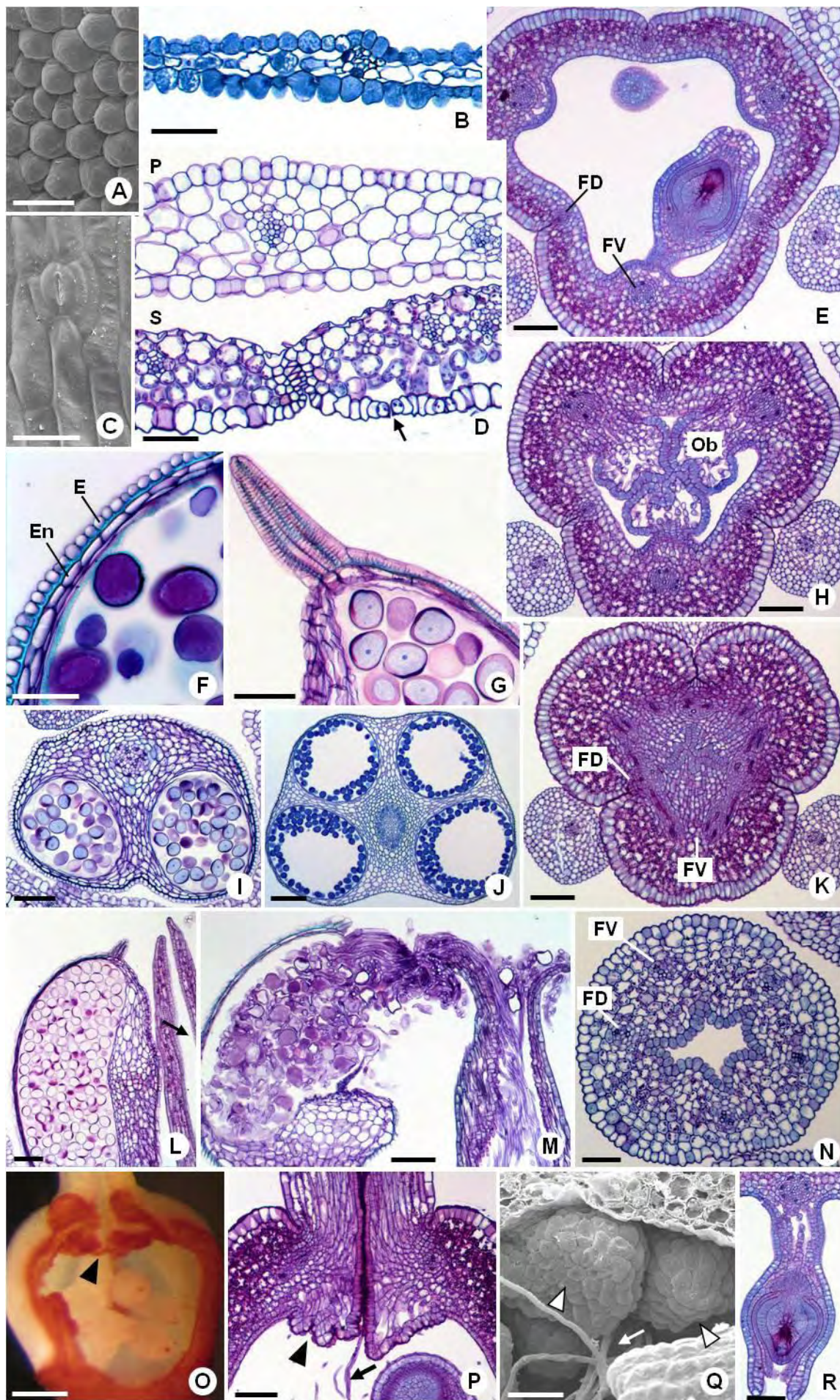
Fig. 3 Aspectos anatômicos de flores de *Abolboda*. *A*, *Abolboda macrostachya*. *A*, secção transversal (ST) da sépala; a seta indica estômato. *B-D*, *Abolboda poarchon*. *B*, ST da pétala. *C*, eletromicrografia (MEV) da epiderme adaxial da pétala. *D*, detalhe da epiderme adaxial da pétala, com cutícula ornamentada. *E*, *Abolboda pulchella*, ST da parede da antera. *F-G*, *Abolboda poarchon*. *F*, ST da flor, mostrando o início da ramificação do estilete nos apêndices

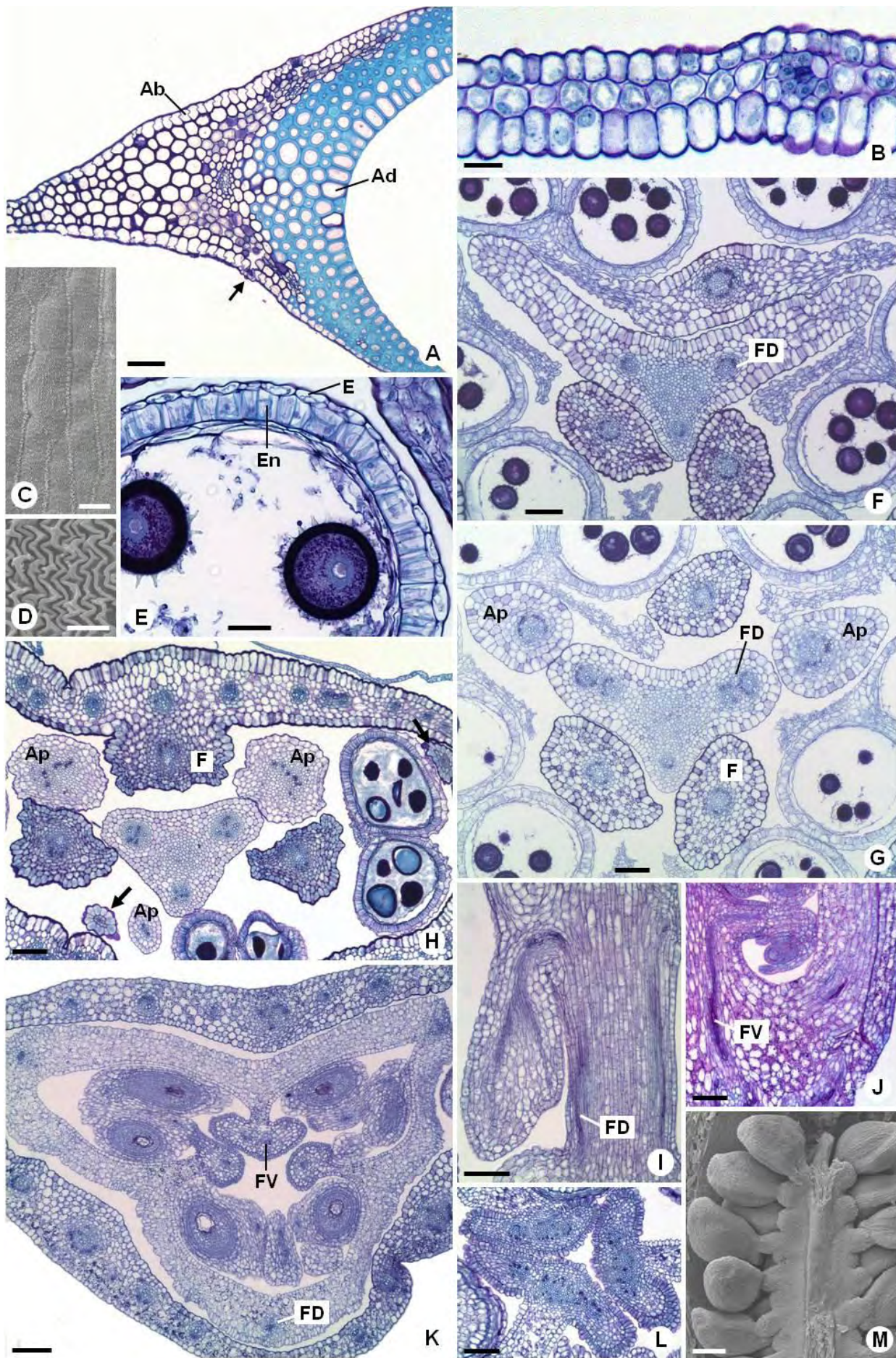
nectaríferos. *G*, ST da flor, mostrando estilete e porção proximal dos apêndices nectaríferos. *H*, *Abolboda macrostachya*, ST da flor, mostrando estilete e porção distal dos apêndices nectaríferos; as setas indicam estaminódios. *I-K*, *Abolboda pulchella*. *I*, secção longitudinal (SL) do apêndice do estilete. *J*, SL do ovário, com detalhe do óvulo anátropo. *K*, ST da região mediana do ovário. *L*, *Abolboda macrostachya*, ST de detalhe dos septos não fundidos na região central do ovário. *M*, *Abolboda poarchon*, MEV do interior do ovário, mostrando óvulos anátropos com placentação parietal intrusiva. Escalas: *A*, 80 μm ; *B*, 10 μm ; *C*, *E*, 30 μm ; *D*, 5 μm ; *F-I*, *K-L*, 100 μm ; *J*, 50 μm ; *M*, 150 μm . *Ab* = epiderme abaxial; *Ad* = epiderme adaxial; *Ap* = apêndice nectarífero do estilete; *E* = epiderme; *En* = endotécio; *F* = filete; *FD* = feixe dorsal do carpelo; *FV* = feixe ventral do carpelo.

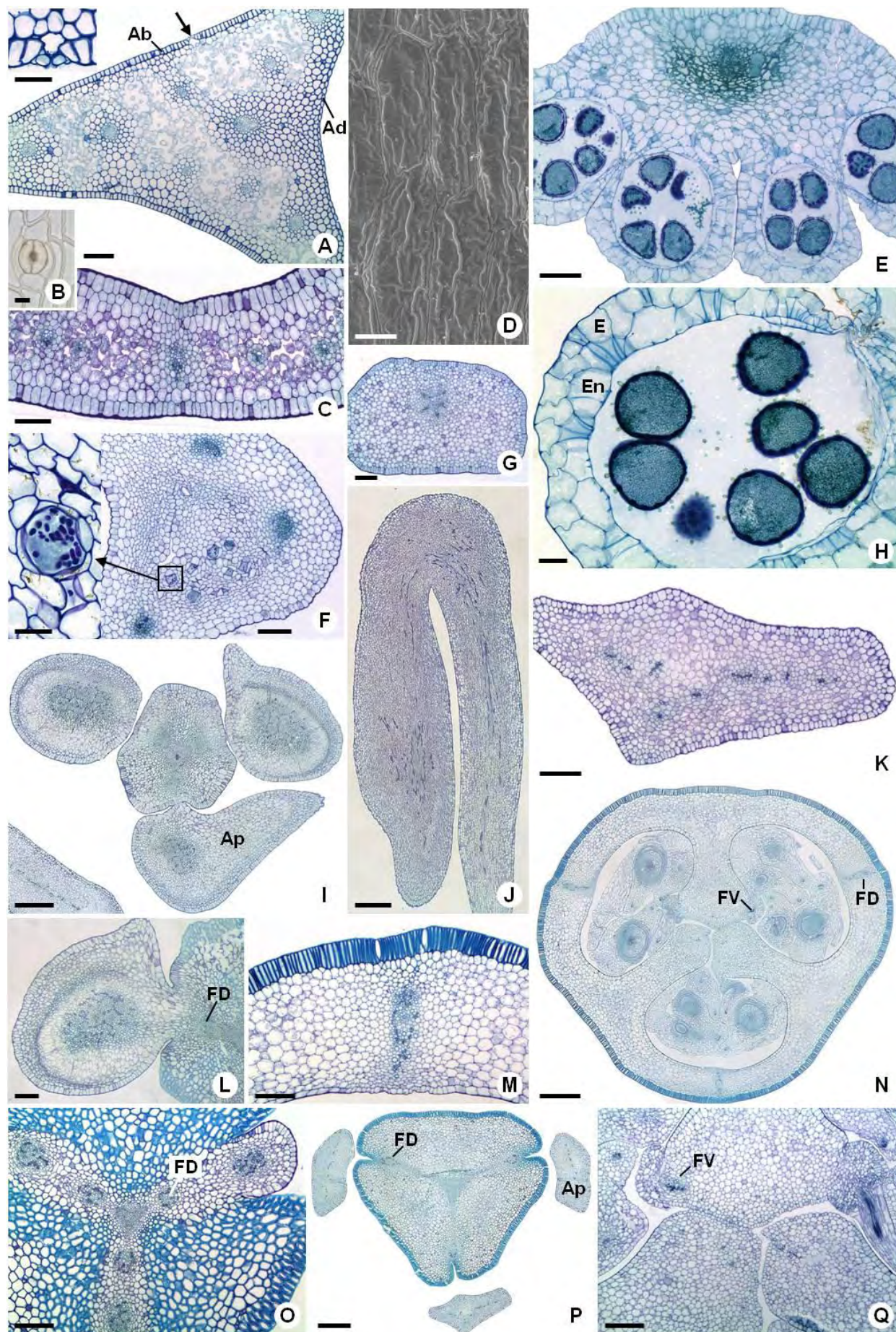
Fig. 4 Aspectos anatômicos de flores de *Orectanthe sceptrum*. *A*, secção transversal (ST) da sépala, com detalhe do estômato; a seta indica o estômato. *B*, em vista frontal da epiderme abaxial da sépala, com estômato tetracítico. *C*, ST da pétala. *D*, eletromicrografia (MEV) da epiderme adaxial da pétala. *E*, ST da antera. *F*, ST do estilete, com detalhe do canal secretor. *G*, ST do filete. *H*, ST da parede da antera. *I*, ST do estilete na região dos apêndices. *J*, secção longitudinal do apêndice do estilete. *K*, ST da porção distal do apêndice do estilete. *L*, ST do estilete na região de inserção do apêndice. *M*, ST da parede do ovário. *N*, ST da região mediana do ovário. *O*, ST do estilete, mostrando a vascularização dos apêndices pelos feixes dorsais dos carpelos. *P*, ST do estilete na região distal dos apêndices. *Q*, ST da região central do ovário, com septos não fundidos. Escalas: *A*, *C*, *E*, *G*, *K*, *M*, 150 μm ; *A detalhe*, *H*, 50 μm ; *B*, *D*, *F detalhe*, 20 μm ; *F*, 100 μm ; *I-J*, *N*, *P*, 500 μm ; *L*, *O*, *Q*, 200 μm . *Ab* = epiderme abaxial; *Ad* = epiderme adaxial; *Ap* = apêndice do estilete; *E* = epiderme; *En* = endotécio; *FD* = feixe dorsal do carpelo; *FV* = feixe ventral do carpelo.

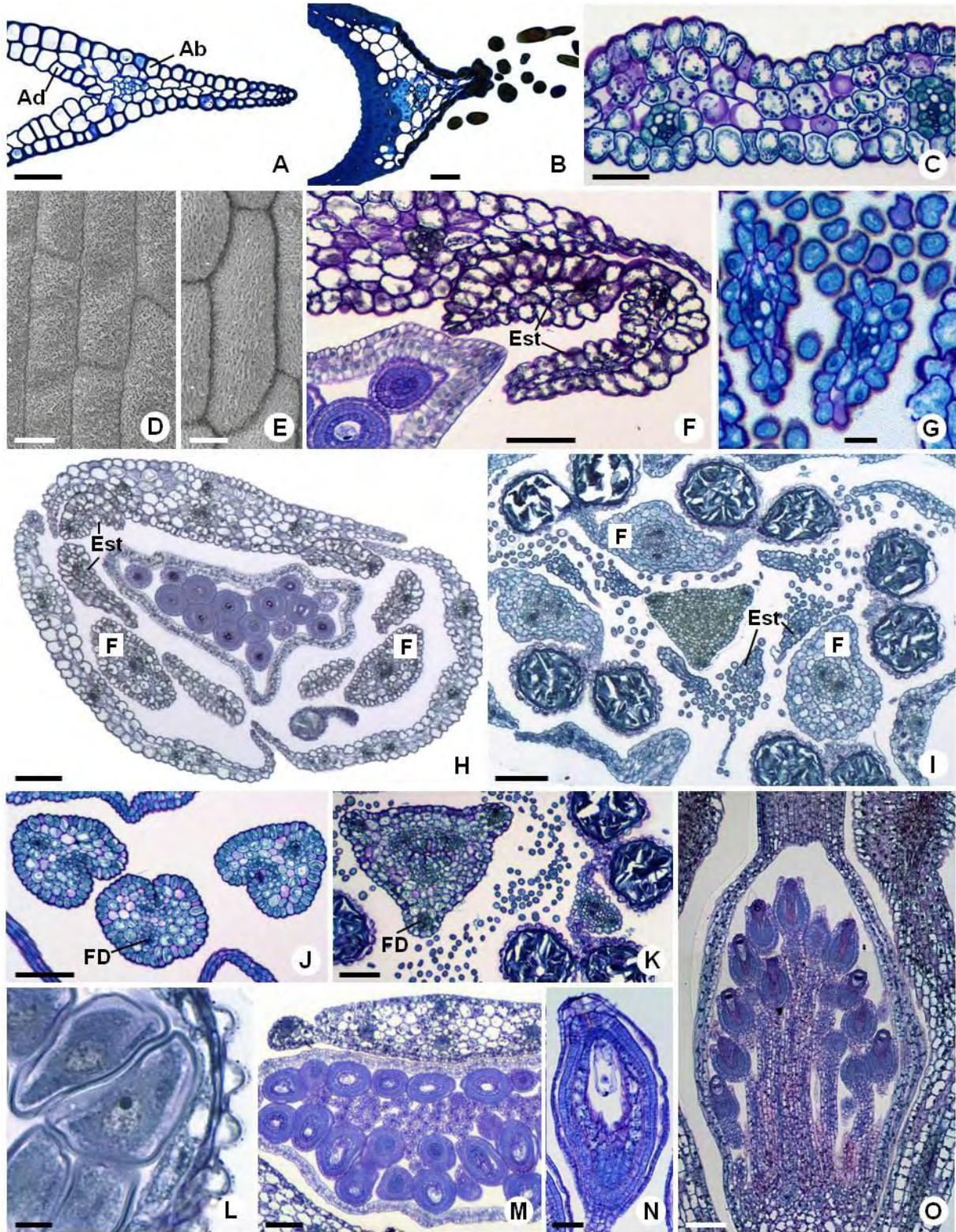
Fig. 5 Aspectos anatômicos de flores de *Xyris*. *A*, *Xyris savanensis*, secção transversal (ST) da região mediana da sépala. *B-C*, *Xyris pilosa*. *B*, ST da sépala. *C*, ST da pétala. *D-F*, *Xyris savanensis*. *D*, eletromicrografia (MEV) da epiderme adaxial da pétala. *E*, MEV da epiderme do estaminódio. *F*, ST do estaminódio na região de ramificação. *G*, *Xyris pilosa*, ST do estaminódio na região de ramificação. *H*, *Xyris savanensis*, ST da flor, mostrando ovário, estaminódios, filetes e pétalas. *I-L*, *Xyris pilosa*. *I*, ST da flor, mostrando estilete, estaminódios, anteras e pétalas. *J*, ST dos estigmas. *K*, ST do estilete e da antera. *L*, ST da parede da antera. *M-O*, *Xyris savanensis*. *M*, ST do ovário. *N*, secção longitudinal (SL) do óvulo. *O*, SL do ovário. Escalas: *A-B*, *F*, *J-K*, *M*, *O*, 50 μm ; *C*, 30 μm ; *D-E*, *G*, *L*, 10 μm ; *H-I*, 100 μm ; *N*, 20 μm . *Ab* = epiderme abaxial; *Ad* = epiderme adaxial; *Est* = estaminódio; *F* = filete; *FD* = feixe dorsal do carpelo.











CAPÍTULO 4

Biologia reprodutiva de *Abolboda pulchella* e *A. poarchon* (Xyridaceae: Poales)

(Artigo publicado no *Annals of Botany*)

Oriani A, Scatena VL. 2011. Reproductive biology of *Abolboda pulchella* and *A. poarchon* (Xyridaceae: Poales). *Annals of Botany* **107**: 611-619.

Reproductive biology of *Abolboda pulchella* and *A. poarchon* (Xyridaceae: Poales)

Aline Oriani and Vera Lucia Scatena

- *Background and Aims* *Abolboda* (Xyridaceae) belongs to the Poales, a predominantly wind-pollinated order whose phylogeny has been widely studied in recent years. The reproductive biology of *Abolboda pulchella* and *A. poarchon* was studied to determine the main pollination system of these species, providing the first experimental data on Xyridaceae reproduction.

- *Methods* A field study was conducted, including observations on the morphology and biology of the flowers, insect visits and pollinator behaviour. Experimental pollination treatments were performed to assess agamospermy, spontaneous self-pollination and self-compatibility. Pollination success was determined by pollen tube growth, and reproductive success was assessed by fruit and seed set.

- *Key Results* *Abolboda pulchella* and *A. poarchon* were pollinated by Apidae, Megachilidae and Halictidae bees. The floral resources were pollen and nectar that was produced by stylar appendages, an uncommon nectary type for monocotyledons. The species were self-compatible, and the pollen tube growth from self-pollen was similar to that of cross-pollen. However, herkogamy prevented spontaneous selfing, rendering the plants dependent on the pollinator's activity. There was no production of seeds by agamospermy.

- *Conclusions* Melittophily is the main pollination system of the *Abolboda* species. Nectar production was first recorded here for Xyridaceae, and along with self-compatibility, herkogamy and bee pollination, is an informative characteristic that can be used in future phylogenetic analyses of the family as well as Poales.

Key words: *Abolboda pulchella*, *Abolboda poarchon*, bee pollination, herkogamy, nectar, Poales, reproduction, self-compatibility, stylar appendages, Xyridaceae.

INTRODUCTION

Xyridaceae includes five genera and about 300 herbaceous species (Kral, 1998). *Abolboda* is the second largest genus of the family, including a total of 23 species restricted to South America (Campbell, 2005), with its diversity centred in the northern Amazon river basin from the Guyanas to southeastern Colombia (Smith and Downs, 1968). The monophyly of Xyridaceae is still under investigation (Michelangeli *et al.*, 2003; Davis *et al.*, 2004). Abolbodaceae was suggested to be a distinct family, including *Abolboda*, *Aratitiopea* and *Orectanthe*, genera that share the same inflorescence type, stamen number and the presence of stylar appendages (Steyermark, 1984).

Xyridaceae is included in the Poales, which is composed of 16 families and about 19000 shrubby-herbaceous species (Soltis *et al.*, 2005; APG III, 2009). Because of its representativeness, the order has been widely studied in recent years, especially from the phylogenetic point of view (Linder and Rudall, 2005). However, specific studies on reproductive biology, although informative to phylogeny, are restricted to Eriocaulaceae (Ramos *et al.*, 2005; Sawyer *et al.*, 2005; Oriani *et al.*, 2009), Bromeliaceae (e.g., Sazima *et al.*, 1989; Wendt *et al.*, 2001; Canela and Sazima, 2005; Kaheler *et al.*, 2005; Vosgueritchian and Buzato, 2006), Poaceae (e.g., Soderstrom and Calderón 1971; Adams *et al.*, 1981; Guilherme and Ressel, 2001; Koshy *et al.*, 2001; Fang *et al.*, 2004) and Cyperaceae (Leppik, 1955; Snyder and Richards, 2005).

A majority of the Poales families have reduced and non-attractive flowers that are likely wind-pollinated (Linder and Rudall, 2005). Xyridaceae, Bromeliaceae, Rapateaceae and Mayacaceae are exceptions because they have large, colourful and attractive flowers, indicating animal pollination. Experimental studies on Bromeliaceae have demonstrated that they are pollinated by different pollinator's guilds, including hummingbirds, bats and bees (Kaheler *et al.*, 2005). For Xyridaceae, it was suggested that the *Orectanthe* species are ornitophilous, and the remaining species are bee-pollinated (Kral, 1998). According to Kral (1998), the Xyridaceae

flowers do not produce nectar, and the pollinators are attracted by the pollen. In pollination studies in Venezuelan plant communities, Ramírez (1992, 1993) also attested that Xyridaceae and Rapateaceae species are bee-pollinated.

This paper aimed to study the reproductive biology of two species of *Abolboda* providing the first experimental data on Xyridaceae reproduction and contributing to the understanding of this trait in Poales. We investigated the floral morphology and biology, pollination and breeding systems of *A. pulchella* Humb. & Bonpl. and *A. poarchon* Seub, addressing the following questions: What is the main pollination system of these species? What is the behaviour of the floral visitors and what floral resources are used by them? Do the *Abolboda* species share pollinators? Are they self-compatible and self-fertile?

MATERIAL AND METHODS

Species and study area

Abolboda pulchella and *A. poarchon* are restricted to Brazil, occurring in wetland and swamp areas (Kral, 1992). They flower from October to November and fruit from November to December (Coan *et al.*, 2009).

The studied area is a swamp grassland in a characteristic “cerrado” (Brazilian savanna) area. It is located on private property between the cities of Itirapina and Brotas in the state of São Paulo (22°16'5.3" S; 47°54'32.7" W). The regional climate is mesotermic, with two well-defined seasons: dry from April to September and wet from October to March (Tannus and Assis, 2004). The experiments were carried out from October to December 2009. Voucher specimens were deposited in the Herbarium Rioclarense (HRCB) at São Paulo State University (UNESP) in Rio Claro, São Paulo (*Coan and Oriani 61* and *Coan and Oriani 72*).

Floral morphology and biology

Flowers were fixed in FAA₅₀ (37% formaldehyde, acetic acid glacial, 50% ethanol, 1:1:18 v/v) (Johansen, 1940), dehydrated in an absolute ethanol series, critical-point dried, coated with gold and examined with a scanning electron microscope (JSM 5410, JEOL, Tokyo, Japan). Fixed flowers were also dehydrated in a normal-butyl alcohol series (Feder and O'Brien, 1968), embedded in (2-hydroxyethyl)-methacrylate (Leica Histo-resin Embedding Kit, Nussloch, Germany) and sectioned at 6-8 μm on a microtome (Model 2040, Reichert-Jung, Nussloch, Germany). The sections were stained with periodic acid–Schiff's reagent (PAS reaction) and toluidine blue (Feder and O'Brien, 1968) and mounted on permanent slides using Entellan (Merck).

The floral biology was studied during 25 days. Data regarding the phases of flowering, time of anthesis, inflorescence maturation, stigmatic receptivity, anther dehiscence, pollen availability and viability, pollen composition and nectar production were recorded.

The stigmatic receptivity was tested with hydrogen peroxide (Dafni, 1992). The pollen viability was analysed in pollen grains that were removed from the anthers of three individuals and stained with acetocarmine (Kearns and Inouye, 1993). In addition, the number of pollen grains and ovules from four individuals were counted to calculate the pollen/ovule ratio. The anthers were placed in Petri dishes with glycerine and the number of pollen grains was counted under a stereomicroscope (MZ 125, Leica, Heerbrugg, Switzerland). The presence of lipidic substances (pollenkitt) and starch in the pollen grains was tested with Sudan IV and Lugol, respectively (Johansen, 1940).

To locate the nectariferous tissues, flowers were submerged in a 1:10.000 neutral red solution (Kearns and Inouye, 1993). The nectar production was analysed by chemical tests conducted in the field with Diabur-test 5000 test strips (Roche, Mannheim, Germany), which are sensitive to glucose.

Floral visitors

Floral visitors were collected from 0900 h to 1700 h, the period during which the flowers were open. Each insect was placed in a separate vial, and the presence or absence of pollen grains adhered to their bodies was determined in laboratory with a stereomicroscope. The species were identified by specialists. Voucher specimens were deposited in the Instituto de Biociências collection at UNESP in Rio Claro, São Paulo.

The times and frequencies of visits to the *A. pulchella* and *A. poarchon* flowers were recorded during 15 consecutive days from 0900 h to 1700 h, totalling 45 hours of observation for *A. pulchella* (n = 196 flowers) and 48 hours for *A. poarchon* (n = 242 flowers). The temperature and relative humidity were monitored with a thermohygrometer (Incoterm, Porto Alegre, Brazil). The behaviour and the type of resource used by the floral visitors were analysed by direct visual observations, complemented with photographs taken during the visits. Based on their visitation frequency and behaviour on the flowers, the insects were classified as effective pollinators, occasional pollinators or thieves. Effective pollinators represented the frequent insects (with a higher number of visits) that carried pollen grains from an anther to the stigma of another flower. Occasional pollinators represented the insects with the same behaviour, but with low visitation frequency. The insects that only collected pollen and/or nectar without pollinating the flowers were classified as thieves (Inouye, 1980).

Breeding systems

The breeding systems of *A. pulchella* and *A. poarchon* were evaluated using inflorescences with floral buds marked at random and isolated in polyester bags (25 x 25 µm mesh). The bags were attached to iron frames to avoid contact with the scapes (inflorescences stalks) and sewn on the bottom. We conducted the following treatments: (a) Agamospermy: the flowers were emasculated soon after anthesis and before anther dehiscence, and the inflorescences were bagged; (b) Spontaneous self-pollination: the inflorescences were bagged

without any manipulation of the flowers; (c) Experimental self-pollination: inflorescences with hand self-pollinated flowers were bagged; (d) Experimental cross-pollination: pollen from different individuals was transferred to the stigma of emasculated flowers, and the inflorescences were bagged; (e) Natural pollination (free exposure): inflorescences with floral buds were marked at random and maintained under natural conditions.

Each treatment was conducted on ten inflorescences of *A. pulchella* and six inflorescences of *A. poarchon*, using four flowers from each inflorescence. After 90 days, each of the marked inflorescences was collected and placed in a separate plastic bag. The fruit set was calculated in the laboratory. The numbers of seeds and aborted ovules per flower were also counted under a stereomicroscope to calculate the seed set, which was compared statistically among the treatments by a one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey test ($\alpha < 0.05$) (Zar, 1999).

The self-fertility index (SFI) and self-compatibility index (SCI) were also calculated (Zapata and Arroyo, 1978; Lloyd and Schoen, 1992). SFI is the average fruit set after spontaneous self-pollination divided by the average fruit set after experimental cross-pollination. SCI is the average fruit set after experimental self-pollination divided by that of experimental cross-pollination. SCI values ≤ 0.2 indicate self-incompatibility, whereas values > 0.2 indicate self-compatibility (Zapata and Arroyo, 1978).

Pollen tube growth in the styles was examined by fluorescence microscopy (Martin, 1959). Two treatments were compared: experimental self-pollination and experimental cross-pollination. The hand-pollinated flowers were fixed in FAA₅₀ at 1 h, 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h, 60 h and 72 h after pollination, using three flowers for each interval. Before the observation, the flowers were clarified with 8M NaOH (at 60°C for 20 minutes) and dyed in 0.1 % aniline blue solution.

RESULTS

Floral morphology and biology

The inflorescences of *A. pulchella* have from 4 to 13 hermaphrodite flowers (mean = 8; $n = 30$ inflorescences). The purplish petals are fused from the base up to the middle region, forming a tube ca. 0.6 cm long. The style, ca. 1.2 cm long, has 3 secreting appendages, with the 2 lateral ones being more developed than the posterior one (Fig. 1C-D, arrow). These appendages are inserted ca. 2.8 mm from the base of the style and are located inside the floral tube. The distance from the stigma to the beginning of the floral tube is 0.8 cm. The anthers and pollen grains are yellow and are located below the stigmas.

In *A. poarchon*, the inflorescences have from 4 to 10 flowers (mean = 6; $n = 15$). The petals are bluish purple, forming a tube ca. 1.0 cm long. The secreting appendages (Fig. 1A-B, arrow) are inserted 4 mm from the base of the style, which is 1.7 cm long. The distance from the stigma to the beginning of the floral tube is 1.2 cm.

Anatomically, the stylar appendages consist of an epidermis (E) subtended by specialised parenchymatous tissue (P) with vascular bundles (Fig. 1E-I). The epidermal cells are isodiametric (Fig. 1E-I) and have rounded external periclinal walls (Fig. 1B, D). The parenchymatous cells are longitudinally elongated with thin walls and dense granular cytoplasm, a large nucleus and starch storage (Fig. 1F). The vascular bundles are composed of phloem (arrow) and xylem (arrow-head) (Fig. 1F). Fig. 1E and G show the ramifications of vascular bundles from the style (S) to the appendages (A). The xylem is present only in the proximal portion of the appendages (Fig. 1H, arrow-head), and the last branches reaching the distal portion are phloem elements (Fig. 1I, arrow).

In *A. pulchella*, the flowers began to open around 0930 h (Fig. 2A-B) and were completely open at about 1030 h. Each flower lasted a single day, began to close at about 1500 h and was completely closed at about 1630 h. The *A. poarchon* flowers also lasted a single day, beginning to open around 0900 h and closing at about 1530 h. In both species, the flower

opening and duration were influenced by temperature and humidity because the flowers opened and closed earlier on warmer, drier days.

Inflorescence maturation was acropetal and lasted from 20 to 50 days in *A. pulchella* and from 15 to 45 days in *A. poarchon*. A single flower (or two less often) opened per day in each inflorescence.

In both species, when the flower began to open, the style was straight (Fig. 2A), but it became curved shortly after flower opening, moving the stigma away from the anthers and forming a landing platform (Fig. 2B-C). The stigma was receptive from the flower opening until its closing. In non-pollinated flowers, the stigma became pinkish at about 1100 h, and small droplets of stigmatic secretion could be observed on its surface.

The anther dehiscence began after the flowers opened (Fig. 2A). The pollen grains contained lipidic substances on their surfaces (Fig. 1J) and stored starch. Pollen viability was 95.2 % (SD = 1.9 %; $n = 3$ flowers) for *A. pulchella* and 95.9 % (SD = 3.4 %; $n = 3$ flowers) for *A. poarchon*. Pollen grain availability was higher in *A. poarchon* with a mean of 956 pollen grains per anther (SD = 30; $n = 4$ flowers), while the mean in *A. pulchella* was 501 (SD = 41; $n = 4$ flowers). However, the pollen/ovule ratio was similar in both species, 47 (SD = 1.2; $n = 4$ flowers) for *A. pulchella* and 51 (SD = 2.2; $n = 4$ flowers) for *A. poarchon*. The pollen grain size was also similar in both species, measuring 0.08 – 0.1 mm in diameter ($n = 10$ flowers).

Nectar was secreted by the styler appendages during the entire period of flower anthesis and accumulated in the floral tube in both species. The appendages stained intensely in neutral red solution, indicating their secretory function, and the glucose test was positive.

Floral visitors

The most frequent visitors to the *A. pulchella* and *A. poarchon* flowers were bees (Hymenoptera), but butterflies (Lepidoptera) were also recorded in addition to ants (Hymenoptera), flies (Diptera), grasshoppers (Orthoptera) and beetles (Coleoptera) (Table 1).

These insects visited the flowers from their opening until closing, and the floral rewards were nectar and pollen.

Five bee species were registered, belonging to three families: Apidae (2 species), Megachilidae (1 species) and Halictidae (2 species), which were considered effective or occasional pollinators (Table 1). These bees collected pollen and nectar and transported the pollen from one flower to another, with the activity peaking from 0900 h to 1400 h. Pollen grains from *A. pulchella* and *A. poarchon* were observed to be adhered to the bodies of all collected individuals.

The Apidae and Megachilidae species were the most frequent pollinators (Table 1). *Arhysoceble* cf. *xanthopoda* (Apidae) (Fig. 2D-E) measured 0.6 – 0.7 cm in length and landed on the stamens with their heads turned toward the flower tube, from which they extracted the nectar with their proboscis. While they extracted the nectar, they also collected pollen from the anthers, which became attached to their legs and abdomen. Part of that pollen was left on the upper region of the stigma when these bees moved from one flower to the next (Fig. 2E, arrow). They visited almost all of the flowers in anthesis that were nearby and returned to feed on the same flowers visited previously. Visits peaked from 0900 h to 1100 h in *A. pulchella* and from 1100 h to 1200 h in *A. poarchon*.

Megachile sp. (Megachilidae) (Fig. 2F-G) individuals were larger, measuring 1.0 – 1.2 cm in length, and presented a visiting behaviour similar to that of *Arhysoceble* cf. *xanthopoda*. Due to their larger body size, as they landed on the flowers to extract nectar their abdomens were necessarily over the stigmas, thus pollinating the flowers. Their visit peak occurred from 1000 h to 1200 h in *A. pulchella* and from 1200 h to 1400 h in *A. poarchon*.

The Halictidae species visited *A. poarchon* flowers with a higher frequency as compared to the *A. pulchella* flowers. Because of this they were considered effective pollinators for *A. poarchon* and occasional pollinators for *A. pulchella* (Table 1). *Dialictus* sp. (Fig. 2H) individuals measured 0.5 – 0.6 cm in length and also presented a visiting behaviour similar to

that of *Arhysoceble* cf. *xanthopoda*. Visits peaked from 1000 h to 1100 h in *A. pulchella* and from 1200 h to 1300 h in *A. poarchon*. *Augochloropsis* sp. (Fig. 2I) measured 0.8 – 1.0 cm in length, and due to their body size, as they landed on the flowers, their abdomens and hind legs necessarily touched the stigmas, achieving pollination. Visits peaked from 1000 h to 1200 h in *A. poarchon*. For *A. pulchella*, only two visits were recorded between 1000 h and 1100 h.

The least frequent bee species was *Ceratina* (*Crewella*) sp. (Apidae), with four visits recorded for *A. pulchella* between 1100 h and 1200 h and five visits recorded for *A. poarchon* between 1400 h and 1500 h (Table 1). Their representatives measured 0.9 – 1.1 cm in length and also collected pollen and nectar.

The Lepidoptera species behaved as nectar thieves. They landed on the petals without touching the stigma and collected nectar from the floral tube with their proboscis, remaining on each flower for only a few seconds. Their visits peaked from 1100 h to 1200 h in *A. pulchella* and from 1400 h to 1500 h in *A. poarchon*. Several species of Formicidae, Diptera and Coleoptera also behaved as nectar and/or pollen thieves (Table 1).

In addition to the nectar/pollen thieves, several herbivore species were observed to feed on both *A. pulchella* and *A. poarchon* flowers. These included *Atta* sp. (Formicidae - Hymenoptera), grasshoppers (Tettigoniidae - Orthoptera), and locusts (Acrididae - Orthoptera) (Table 1). Larvae of two species of Psychidae (Lepidoptera) were also observed to feed on the flowers.

Breeding systems

The fruit and seed set obtained in each pollination treatment are shown in Table 2. In both species, no fruits were formed by agamospermy or by spontaneous self-pollination (SFI = 0). The fruit sets in experimental self-pollination, experimental cross-pollination and natural pollination were equivalent and higher than 89%. The SCI was 0.99 for *A. pulchella* and 1.0 for *A. poarchon*, indicating self-compatibility.

In *A. pulchella*, the seed set in experimental self-pollination was smaller in relation to the other treatments (Tukey test, $p < 0.05$), whereas the seed set in experimental cross-pollination did not differ statistically from natural pollination (Tukey test, $p > 0.05$). In *A. poarchon*, the seed set in experimental cross-pollination was higher (Tukey test, $p < 0.05$), whereas the seed set in experimental self-pollination did not differ statistically from natural pollination (Tukey test, $p > 0.05$).

The fluorescence microscopy analysis showed that the pollen tube growth from self-pollen did not differ from that of cross-pollen in either species. In *A. pulchella*, six hours after pollination, the pollen tubes had already reached the ovules, while in *A. poarchon*, fecundation occurred nine hours after pollination.

DISCUSSION

Abolboda pulchella and *A. poarchon* are pollinated by bees that collect and transport the pollen, promoting crossing and selfing. Another floral resource used by the visitors was nectar, which is produced by the stylar appendages. These appendages have been described previously in taxonomic studies of Xyridaceae (Steyermark, 1984; Dahlgren *et al.*, 1985; Stützel, 1990; Kral, 1992, 1998), but here we provide anatomical evidence other than field observations that these structures are nectaries.

Nectaries are anatomically characterised by an epidermis, a specialised parenchyma and vascular bundles (Fahn, 1979, 2000; Pacini *et al.*, 2003), as demonstrated in the *Abolboda* species. The parenchyma produces and stores nectar solutes, while the vascular bundles convey water and nutrients to the parenchyma (Pacini *et al.*, 2003). The starch storage observed in the parenchyma cells of the *Abolboda* nectaries probably provides part of the source of nectar carbohydrates. According to Pacini and Nepi (2007), the sugar component of nectar is derived from photosynthesis by the nectary itself, or more commonly by photosynthesis in other parts of the plant, with or without starch as an intermediary storage product.

In monocotyledons, nectar is often produced by septal nectaries (Daumann, 1970; Fahn, 1979). These structures, however, are rare in Poales, being present in only two early divergent families of the order: Bromeliaceae and Rapateaceae (Givnish *et al.*, 1999; Smets *et al.*, 2000; Linder and Rudall, 2005). Thus, the nectariferous appendages of the style found in Xyridaceae correspond to an uncommon type of nectary for monocotyledons and are similar to that of Eriocaulaceae, a family closely related (Rosa and Scatena, 2007).

For Eriocaulaceae, the nectariferous function of the stylar appendages has been recently demonstrated in Paepalanthoideae (Rosa and Scatena, 2007). According to Rosa and Scatena (2007), these nectariferous appendages are probably a modification of the simple stigmas of Eriocauloideae that occurred during the evolution of the family in response to animal pollination (Rosa and Scatena, 2007).

Recent phylogenetic analyses of Poales (Linder and Rudall, 2005; Givnish *et al.*, 2005, 2006) shows Bromeliaceae, Typhaceae and the remaining Poales as a polytomy. Bromeliaceae and Typhaceae are sister to each other and earliest divergent within the order. Rapateaceae is the next divergent and sister to the remaining Poales. Eriocaulaceae is the sister-group of Xyridaceae and both families are in one of the two major clades of the core Poales. Thus, the fact that the studied *Abolboda* species produce nectar is not only important in reproductive terms but also from a phylogenetic perspective. The septal nectary present in Bromeliaceae (Böhme, 1988; Bernardello *et al.*, 1991; Sajo *et al.*, 2004) and Rapateaceae (Venturelli and Bouman, 1988; Givnish *et al.*, 2000), and the stylar nectariferous appendages present in Eriocaulaceae (Rosa and Scatena, 2007) and Xyridaceae have a homoplastic origin.

In addition to the presence of nectaries, all of these families are pollinated by animals. Ramírez (1993) observed bees pollinating the flowers of *Stegolepis angustata* (Rapateaceae) and *Xyris setigera* (Xyridaceae). Studies on the pollination biology of *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) (Ramos *et al.*, 2005; Oriani *et al.*, 2009) demonstrated that these species are pollinated by several small insects, including beetles, flies, and bees. Thus, nectar production and pollination by

animals are probably labile features that appeared independently in Poales. It can be also inferred that nectar production and pollination by animals is an ancestral condition for the order, while wind pollination is a derived characteristic, in accordance with the hypothesis of Linder and Rudall (2005) on the evolution of the Poales reproductive system.

Abolboda pulchella and *A. poarchon* shared the same pollinators as expected, since these species are sympatric (Kral, 1992) and show a very similar floral morphology. *Arhysoceble* cf. *xanthopoda* was the specie with the highest visitation frequency, but *Megachile* sp. was observed to have the most suitable size and behaviour for performing pollination. The genus *Arhysoceble* is restricted to Argentina and Brazil, with only four species recorded in Brazil, including solitary bees that gather floral oils (Silveira *et al.*, 2002). *Arhysoceble xanthopoda* were observed collecting floral resources from different plant families, such as Malpighiaceae, Malvaceae and Scrophulariaceae (Gonçalves and Melo, 2005). *Megachile* is a cosmopolite genus that includes a great number of species. They are also solitary bees, and the females of the non-parasitic species have a characteristic scopa in the ventral surface of the abdomen for removing and transporting pollen (Silveira *et al.*, 2002).

In addition to the pollinators, several insect species were observed to act as herbivores or nectar/pollen thieves. The most frequent thieves observed on *A. pulchella* and *A. poarchon* flowers were butterflies (Lepidoptera) and ants (Hymenoptera), which mainly collected nectar. However, the activity of these thieves probably does not influence the reproductive success of the *Abolboda* species because their visits peaked during a later period than the peak of visits made by pollinating bees.

The controlled pollination tests showed that *A. pulchella* and *A. poarchon* are self-compatible (SCI = 1); however, spontaneous self-pollination is prevented by herkogamy, i.e., the spatial separation of the male and female reproductive organs (Faegri and Van der Pijl, 1979). Because of this fact, the self-fertility index of *A. pulchella* and *A. poarchon* is null (SFI = 0), indicating a complete dependence on bees for their reproductive success. Because both are self-

compatible, the activity of bees may result in both cross and self-pollination. However, the floral morphology forces the pollinators to touch the stigmas before the anthers, favouring outcrossing.

For *A. pulchella*, the similar seed set in both experimental cross-pollination and natural pollination demonstrates the effectiveness of bees in pollinating the species. For *A. poarchon*, the higher seed set in experimental cross-pollination compared to that in natural pollination indicates that the amount of pollen deposited on the stigma by the bees was not sufficient to fertilize all of the ovules, of which the number was twice as high as that observed in *A. pulchella*.

For both species, the smaller seed set in experimental self-pollination compared to that in experimental cross-pollination is probably a result of inbreeding depression, in which deleterious or lethal recessive alleles cause the random abortion of embryos (cf. Wiens *et al.*, 1987). Therefore, genetic and physical barriers (herkogamy) that prevent self-fertilisation, in addition to bee pollination, probably maintain the genetic variability of the populations studied and define the reproductive system of *A. pulchella* and *A. poarchon*.

Nectar production, herkogamy and bee pollination in *Abolboda* species are demonstrated for the first time in this study and are important traits for future phylogenetic analyses in Xyridaceae and Poales. The present study also opens perspectives for future studies involving genetic variability, hybridisation and population dynamics as well as for intra- and inter-familial comparative studies.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank R.B. Gonçalves, E. Giannotti, O.H.H. Mielke, C.J.E. Lamas, F.J. Zara and A. Ferreira for floral visitors identifications, and A. Bianconi for assistance with the statistical tests. We also thank the researchers who helped us with the field work, especially A.I. Coan and M.T. Eichemberg. The anonymous reviewers are acknowledged for critical comments that improved the manuscript. This work was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento

Científico e Tecnológico - CNPq (Grants 302105/2007-7 and 471202/2008-8 to V.L.S., 141582/2007-3 to A.O.).

LITERATURE CITED

- Adams DE, Perkins WE, Estes JR. 1981.** Pollination systems in *Paspalum dilatatum* Poir. (Poaceae): an example of insect pollination in a temperate grass. *American Journal of Botany* **68**: 389-394.
- APG (Angiosperm Phylogeny Group) III. 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* **161**: 105-121.
- Bernardello LM, Galetto L, Juliani HR. 1991.** Floral nectar, nectary structure and pollinators in some Argentinean Bromeliaceae. *Annals of Botany* **67**: 401-411.
- Böhme S. 1988.** Bromelienstudien III. Vergleichende Untersuchungen zu Bau, Lage und Systematischer Verwertbarkeit der Septalnektarien von Bromeliaceen. *Tropische und Subtropische Pflanzenwelt* **62**: 1-154.
- Campbell LM. 2005.** Contributions towards a monograph of Xyridaceae: a revised nomenclature of *Abolboda*. *Harvard Papers in Botany* **10**: 137-145.
- Canela MBF, Sazima M. 2005.** The pollination of *Bromelia antiacantha* (Bromeliaceae) in the southeastern Brazil: ornithophilous versus melittophilous features. *Plant Biology* **7**: 411-416.
- Coan AI, Oriani A, Lombardi JA. 2009.** Confirmação da ocorrência de *Abolboda poarchon* Seub. (Xyridaceae) no Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **23**: 907-909.
- Dafni A. 1992.** *Pollination ecology: a practical approach*. New York: Oxford University Press.
- Dahlgren RMT, Clifford HT, Yeo PF. 1985.** *The families of the monocotyledons. Structure, evolution, and taxonomy*. Berlin: Springer-Verlag.
- Daumann E. 1970.** Das Blütennektarium de Monocotyledonen unter besonderer Berücksichtigung seiner systematischen und phylogenetischen Bedeutung. *Feddes Repertorium* **80**: 463-590.

- Davis JL, Stevenson DW, Petersen G et al. 2004.** A phylogeny of the monocots, as inferred from *rbcL* and *atpA* sequence variation, and a comparison of methods for calculating jackknife and bootstrap values. *Systematic Botany* **29**: 467-510.
- Faegri K, Van der Pijl L. 1979.** *The principles of pollination ecology*. New York: Pergamon Press.
- Fahn A. 1979.** *Secretory tissues in plants*. London: Academic Press.
- Fahn A. 2000.** Structure and function of secretory cells. *Advances in Botanical Research* **35**: 37-75.
- Fang X, Subudhi PK, Venuto BC, Harrison SA. 2004.** Mode of pollination, pollen germination, and seed set in smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*, Poaceae). *International Journal of Plant Sciences* **165**: 395-401.
- Feder N, O'Brien TP. 1968.** Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* **55**: 123-142.
- Givnish TJ, Evans TM, Pires JC, Sytsma KJ. 1999.** Polyphyly and convergent morphological evolution in Commelinales and Commelinidae: evidence from *rbcL* sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **12**: 360-385.
- Givnish TJ, Evans TM, Zjhra ML, Patterson TB, Berry PE, Systma KJ. 2000.** Molecular evolution, adaptive radiation, and geographic diversification in the amphiatlantic family Rapateaceae: evidence from *ndhF* sequences and morphology. *Evolution* **54**: 1915-1937.
- Givnish TJ, Pires JC, Graham SW et al. 2005.** Repeated evolution of net venation and fleshy fruits among monocots in shaded habitats confirms *a priori* predictions: evidence from an *ndhF* phylogeny. *Proceedings of the Royal Society B* **272**: 1481-1490.
- Givnish TJ, Pires JC, Graham SW et al. 2006.** Phylogenetic relationships of monocots based on the highly informative plastid gene *ndhF*: evidence for widespread concerted convergence. *Aliso* **22**: 28-51.
- Gonçalves RB, Melo GAR. 2005.** A comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apidae s.l.) em uma área restrita de campo natural no Parque Estadual de Vila Velha, Paraná: diversidade, fenologia e fontes florais de alimento. *Revista Brasileira de Entomologia* **49**: 557-571.

- Guilherme FA, Ressel K. 2001.** Biologia floral e sistema de reprodução de *Merostachys riedeliana* (Poaceae: Bambusoideae). *Revista Brasileira de Botânica* **24**: 205-211.
- Inouye DW. 1980.** The terminology of floral larceny. *Ecology* **61**: 1251-1253.
- Johansen DA. 1940.** *Plant microtechnique*. New York: Mc Graw-Hill Book Co.
- Kaheler M, Varassin IG, Goldenberg R. 2005.** Polinização em uma comunidade de bromélias em Floresta Atlântica Alto-montana no Estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* **28**: 219-228.
- Kearns CA, Inouye DW. 1993.** *Techniques for pollination biologists*. Niwot: University Press of Colorado.
- Koshy KC, Harikumar D, Narendran TC. 2001.** Insect visits to some bamboos of the Western Ghats, India. *Current Science* **81**: 833-838.
- Kral R. 1992.** A treatment of American Xyridaceae exclusive of *Xyris*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **79**: 819-885.
- Kral R. 1998.** Xyridaceae. In: Kubitzki K, ed. *The families and genera of vascular plants – IV Monocotyledons*. Berlin: Springer Verlag, 197-207.
- Leppik EE. 1955.** *Dichromena ciliata*, a noteworthy entomophilous plant among Cyperaceae. *American Journal of Botany* **42**: 455-458.
- Linder HP, Rudall PJ. 2005.** Evolutionary history of Poales. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **36**: 107-124.
- Lloyd G, Schoen D. 1992.** Self- and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. *International Journal of Plant Sciences* **153**: 358-369.
- Martin FW. 1959.** Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* **34**: 125-128.
- Michelangeli FA, Davis JI, Stevenson DW. 2003.** Phylogenetic relationships among Poaceae and related families as inferred from morphology, inversions in the plastid genome, and sequence data from the mitochondrial and plastid genomes. *American Journal of Botany* **90**: 93-106.

- Oriani A, Sano PT, Scatena VL. 2009.** Pollination biology of *Syngonanthus elegans* (Eriocaulaceae-Poales). *Australian Journal of Botany* **57**: 94-105.
- Pacini E, Nepi M, Vesprini JL. 2003.** Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution* **238**: 7-21.
- Pacini E, Nepi M. 2007.** Nectar production and presentation. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E, eds. *Nectaries and nectar*. Netherlands: Springer, 167-214.
- Ramírez N. 1992.** Especificidad de los sistemas de polinización en una comunidad arbustiva de la Guayana Venezolana. *Ecotropicos* **5**: 1-19.
- Ramírez N. 1993.** Reproductive biology in a tropical shrubland of Venezuelan Guayana. *Journal of Vegetation Science* **4**: 5-12.
- Ramos COC, Borba EL, Funch LS. 2005.** Pollination in Brazilian *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) species: evidence for entomophily instead of anemophily. *Annals of Botany* **96**: 387-397.
- Rosa MM, Scatena VL. 2007.** Floral anatomy of Paepalanthoideae (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures. *Annals of Botany* **99**: 131-139.
- Sajo MG, Rudall PJ, Prychid CJ. 2004.** Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. *Plant Systematics and Evolution* **247**: 215-231.
- Sawyer NW, Mertins DS, Schuster LA. 2005.** Pollination biology of *Eriocaulon parkeri* in Connecticut. *Aquatic Botany* **82**: 113-120.
- Sazima I, Vogel S, Sazima M. 1989.** Bat pollination of *Encholirium glaziovii*, a terrestrial bromeliad. *Plant Systematics and Evolution* **168**: 167-179.
- Silveira FA, Melo GAR, Almeida EAB. 2002.** *Abelhas brasileiras: sistemática e identificação*. Belo Horizonte: Editora IDM Composição e Arte.
- Smets EF, Ronse Decraene LP, Caris P, Rudall PJ. 2000.** Floral nectaries in monocotyledons: Distribution and evolution. In: Wilson KL, Morrison DA, eds. *Monocots: systematic and evolution*. Melbourne: CSIRO, 230-240.
- Smith LB, Downs RJ. 1968.** Xyridaceae. In: Teixeira AR, ed. *Flora Brasílica*, v. 9, fac. 12.

São Paulo: Instituto de Botânica, 1-215.

- Snyder JM, Richards JH. 2005.** Floral phenology and compatibility of sawgrass, *Cladium jamaicense* (Cyperaceae). *American Journal of Botany* **92**: 736-743.
- Soderstrom TR, Calderón CE. 1971.** Insect pollination in tropical rain forest grasses. *Biotropica* **3**: 1-16.
- Soltis DE, Soltis PS, Endress PK, Chase MW. 2005.** *Phylogeny and evolution of angiosperms*. Sunderland: Sinauer Associates Inc.
- Steyermark JA. 1984.** Flora of the Venezuelan Guyana: Xyridaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **71**: 297-340.
- Stützel T. 1990.** “Appendices” an Gynoeceum der Xyridaceen Morphogenie, Funktion und Systematische Bedeutung. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* **65**: 275-299.
- Tannus JLS, Assis MA. 2004.** Composição de espécies vasculares de campo sujo e campo úmido em área de cerrado, Itirapina – SP, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* **27**: 489-506.
- Venturelli M, Bouman F. 1988.** Development of ovule and seed in Rapateaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*: **97**: 267-294.
- Vosgueritchian SB, Buzato S. 2006.** Reprodução sexuada de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) e interação planta-animal. *Revista Brasileira de Botânica* **29**: 433-442.
- Wendt T, Canela MBF, Faria APG, Rios RI. 2001.** Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bomeliaceae). *American Journal of Botany* **88**: 1760-1767.
- Wiens D, Calvin CL, Wilson CA, Davern CI, Frank D, Seavey SR. 1987.** Reproductive success, spontaneous embryo abortion and genetic load in flowering plants. *Oecologia* **71**: 501-509.
- Zapata TR, Arroyo M.T.K. 1978.** Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* **10**: 221-230.
- Zar JH. 1999.** *Biostatistical analysis*. New Jersey: Prentice Hall.

TABLE 1. *Floral visitor species and visitation frequencies to the Abolboda pulchella and A. poarchon flowers*

Specie	Number of visits		Classification*
	<i>A. pulchella</i>	<i>A. poarchon</i>	
Hymenoptera			
Apidae			
<i>Arhysoceble</i> cf. <i>xanthopoda</i>	42	78	effective pollinator
<i>Ceratina</i> (<i>Crewella</i>) sp.	4	5	occasional pollinator
Megachilidae			
<i>Megachile</i> sp.	28	42	effective pollinator
Halictidae			
<i>Dialictus</i> sp.	4	11	occasional/effective pollinator
<i>Augochloropsis</i> sp.	2	32	occasional/effective pollinator
Formicidae			
<i>Pseudomyrmex</i> sp.1	4	0	nectar thief
<i>Pseudomyrmex</i> sp.2	1	21	nectar thief
<i>Camponotus</i> sp.	1	1	nectar thief
<i>Ata</i> sp.	0	5	herbivore
Lepidoptera			
Hesperiidae			
<i>Vidius vidius</i>	1	5	nectar thief
Hesperiinae sp.	0	4	nectar thief
Lepidoptera sp.1	20	4	nectar thief
Lepidoptera sp.2	5	0	nectar thief
Lepidoptera sp.3	2	0	nectar thief
Lepidoptera sp.4	1	0	nectar thief
Diptera			
Bombyllidae			
<i>Poecilognathus</i> sp. nov.	2	0	nectar thief
Syrphidae sp.	1	1	pollen thief
Coleoptera			
Chrysomelidae			
<i>Diabrotica</i> sp.	1	0	pollen thief
Chrysomelidae sp.1	3	0	pollen thief
Chrysomelidae sp.2	1	1	pollen thief
Coccinellidae sp.	1	0	pollen thief
Orthoptera			
Acrididae			
<i>Dichromatos</i> sp.	0	2	herbivore
Acrididae sp.	1	0	herbivore
Tettigoniidae sp.1	4	0	herbivore
Tettigoniidae sp.2	5	0	herbivore
Tettigoniidae sp.3	2	0	herbivore

*Classification based on the insect behaviour and visitation frequency

TABLE 2. Fruit and seed set in different pollinations treatments in *Abolboda pulchella* and *A. poarchon*

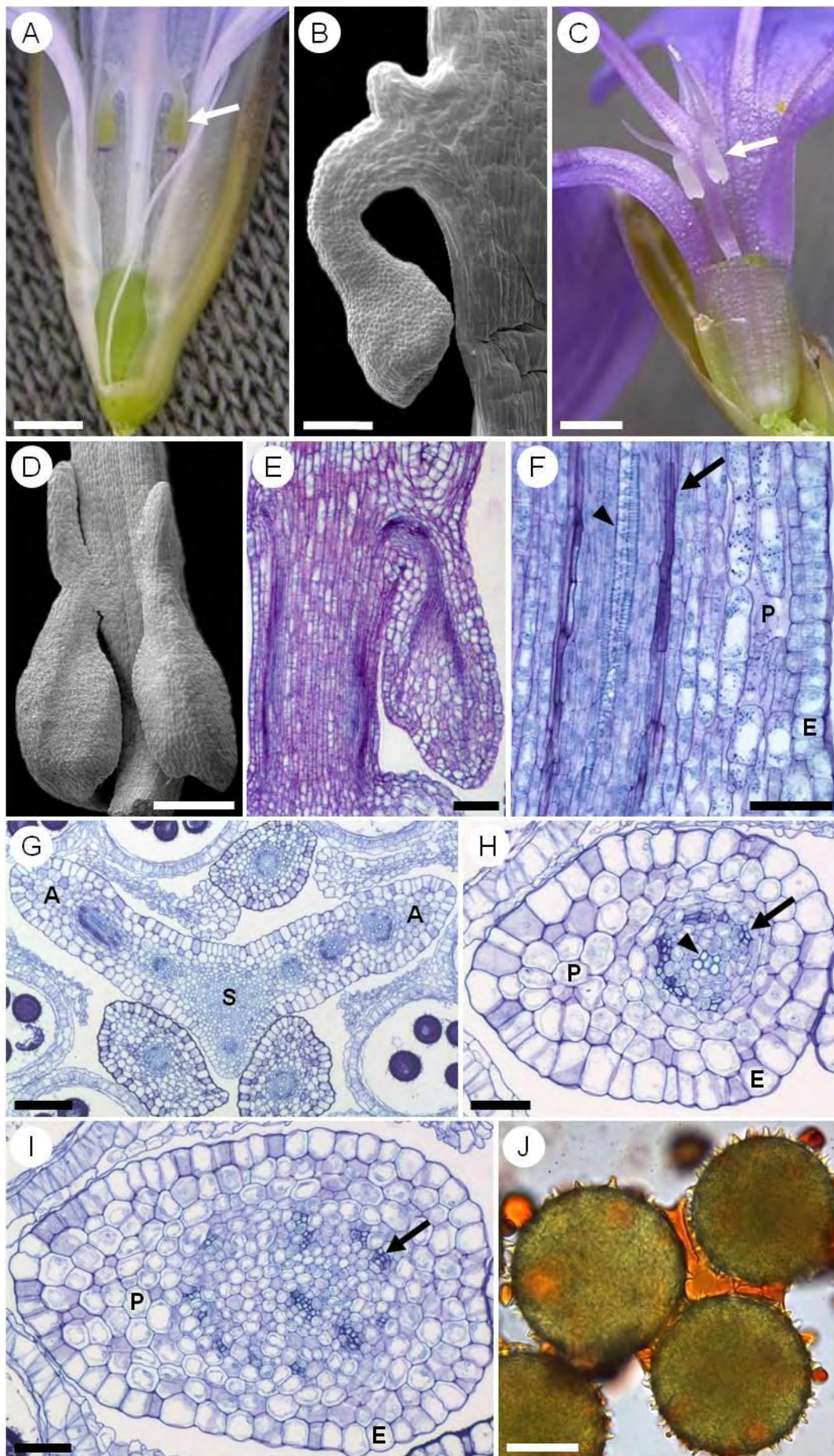
Species	Treatment	Fruit set	Seed set
<i>Aboldoda pulchella</i>	Natural pollination	0.92	0.841 ± 0.057; n = 25 a *
	Experimental cross-pollination	0.91	0.848 ± 0.067; n = 23 a
	Experimental self-pollination	0.90	0.619 ± 0.035; n = 20 b
	Spontaneous self-pollination	0	0; n = 24
	Agamospermy	0	0; n = 23
<i>Abolboda poarchon</i>	Natural pollination	0.95	0.631 ± 0.052; n = 20 a
	Experimental cross-pollination	0.89	0.801 ± 0.069; n = 18 b
	Experimental self-pollination	0.89	0.599 ± 0.058; n = 18 a
	Spontaneous self-pollination	0	0; n = 20
	Agamospermy	0	0; n = 19

*Different letters represent a significant difference between treatments according to Tukey test

LEGENDS

FIG. 1. Floral morphology and nectary anatomy of *Abolboda pulchella* and *A. poarchon*. (A-B) Detail of the stylar nectariferous appendages of *A. poarchon*. (C-D) Detail of the stylar nectariferous appendages of *A. pulchella*. (E-F) Longitudinal sections of the stylar nectariferous appendages of *A. pulchella*. (G-I) Cross sections of the stylar nectariferous appendages of *A. poarchon*. (J) Pollen grains of *A. poarchon* with lipidic substances (pollenkitt) on their surfaces. White arrow: stylar nectariferous appendages; Black arrow: phloem; Arrow-head: xylem; Abbreviations: E, epidermis; P, parenchyma; S, style; A, stylar nectariferous appendages. Scale bars: (A, C) = 1.5 mm; (B, D) = 200 μm ; (E-F, H-I) = 50 μm ; (G) = 150 μm ; (J) = 340 μm .

FIG. 2. Flowers and pollinating bees of *Abolboda pulchella* and *A. poarchon*. (A-B) Flower of *A. pulchella* opening. (C) Flower of *A. poarchon*. (D-E) *Arhysoceble* cf. *xanthopoda* (Apidae), collecting nectar and pollen from *A. poarchon* (D) and *A. pulchella* (E) flowers. (F-G) *Megachile* sp. (Megachilidae), collecting nectar from *A. poarchon* flower. (H) *Dialictus* sp. (Halictidae) and (I) *Augochloropsis* sp. (Halictidae), collecting nectar and pollen from *A. poarchon* flower. Arrow: pollinated flower, with pollen grains on the stigma. Scale bars: (A-C) = 4 mm; (D-I) = 6 mm.





5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As características anatômicas florais de espécies de Poales mostraram-se úteis à taxonomia, bem como na elucidação das relações inter e intrafamiliares e dos aspectos reprodutivos.

Em Rapateaceae (família basal), várias características são compartilhadas por todas as espécies, entre elas tricomas secretores de mucilagem na base das peças florais, que provavelmente correspondem a uma apomorfia da família relacionada à adaptação às condições ambientais extremas a que a maioria de seus representantes está submetida. Além de caracterizar a família, várias estruturas das flores mostraram-se úteis na delimitação das subfamílias, tribos e gêneros. *Cephalostemon* e *Rapatea* compartilham maior número de características, corroborando análises filogenéticas que os apontam como grupos-irmãos. Embora a ocorrência de nectários septais tenha sido relatada na literatura para Rapateaceae, essa estrutura não foi observada em nenhuma das espécies estudadas e, se presente, acredita-se que tal estrutura seja restrita à tribo Schoenocephalideae, considerada a mais derivada na família. As características florais indicam polinização por animais como principal sistema de polinização das espécies estudadas, sendo provavelmente o pólen o recurso floral utilizado pelos polinizadores.

Em Juncaceae (cyperídeas), a maioria das características florais é uniforme na família. A presença ou não de estômatos e de compostos fenólicos nas tépalas, número de óvulos e tipo de placentação diferencia *Juncus* de *Luzula*. Este último distingue-se ainda pelo intumescimento da base das tépalas e dos filetes e pela presença de obturador no ovário, característica inédita levantada para o gênero, relacionada ao direcionamento dos tubos polínicos à micrópila. O intumescimento da base das tépalas e dos filetes em espécies de *Luzula* também está relacionado à reprodução, pois provavelmente favorece a abertura da flor para exposição das peças florais, evidência de polinização pelo vento ou por insetos. Já em *Juncus* acredita-se que muitas das espécies reproduzem-se por cleistogamia.

Para as xyrídeas, demonstrou-se que os apêndices nectaríferos do estilete presentes em Xyridaceae e Eriocaulaceae são estruturas homólogas. Essas famílias compartilham ainda várias outras características anatômicas florais, corroborando a estreita relação filogenética entre elas. Mayacaceae distingue-se pelo tipo de células epidérmicas das pétalas, redução do verticilo interno de estames, tipo de antera, ausência de espessamento no endotécio, pelo padrão de vascularização floral e pela presença de obturador no ovário, estrutura inédita para a família. Tais características distanciam Mayacaceae das demais xyrídeas e mostram que o monofiletismo do grupo deve ser testado, ressaltando a necessidade de estudos de filogenia que indiquem a real posição de Mayacaceae dentro de Poales.

A produção de néctar em Xyridaceae é importante não só para a taxonomia e filogenia das xyrídeas, como também para o entendimento da biologia reprodutiva da família. Este é o principal recurso floral utilizado pelos polinizadores de *Abolboda pulchella* e *A. poarchon*, que são abelhas Apidae, Megachilidae e Halictidae. As características florais de Mayacaceae também indicam polinização por abelhas e a ocorrência de cleistogamia foi demonstrada em *Mayaca fluviatilis*. Demonstrou-se também que as espécies de *Abolboda* são autocompatíveis, condição provavelmente comum às xyrídeas.

A presença de ovário unilocular, com placentação parietal intrusiva em Rapateaceae, Juncaceae e Xyridaceae é uma característica inédita para essas famílias e merece ser investigada nas demais famílias de Poales consideradas triloculares, a fim de se verificar se essa é uma característica comum do grupo.

Os resultados aqui apresentados demonstram a necessidade de estudos de anatomia floral e de biologia reprodutiva com os gêneros de Rapateaceae, Juncaceae e Xyridaceae ainda não estudados, bem como com as demais famílias de Poales, para que se possa entender a evolução de caracteres florais e de mecanismos de reprodução dentro da ordem.