

**UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

**ESTRUTURA E ONTOGÊNESE DE ÓRGÃOS REPRODUTIVOS DE *CONNARUS
SUBEROSUS* PLANCH. (CONNARACEAE) E *OXALIS CYTISOIDES* ZUCC.
(OXALIDACEAE)**

JOÃO DONIZETE DENARDI

**Tese apresentada ao Instituto de
Biociências, *Campus* de Botucatu, UNESP,
para obtenção do título de Doutor em
Ciências Biológicas (Botânica), AC:
Morfologia e Diversidade Vegetal.**

**BOTUCATU - SP
- 2008 -**

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

ESTRUTURA E ONTOGÊNESE DE ÓRGÃOS REPRODUTIVOS DE *CONNARUS*
SUBEROSUS PLANCH. (CONNARACEAE) E *OXALIS* *CYTISOIDES* ZUCC.
(OXALIDACEAE)

JOÃO DONIZETE DENARDI

PROF^a DR^a DENISE MARIA TROMBERT OLIVEIRA
ORIENTADORA

PROF. DR. ÉLDER ANTÔNIO SOUSA PAIVA
CO-ORIENTADOR

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, *Campus* de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutor em Ciências Biológicas
(Botânica), AC: Morfologia e Diversidade
Vegetal.

BOTUCATU - SP
- 2008 -

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Denardi, João Donizete.

Estrutura e ontogênese de órgãos reprodutivos de *Connarus Suberosus*
Planch. (Connaraceae e Oxalis Cytisoides Zucc. (Oxalidaceae) / João Donizete
Denardi. – Botucatu : [s.n.], 2008.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Botucatu 2008.

Orientador: Denise Maria Trombert Oliveira

Co-orientador: Élder Antônio Sousa Paiva

Assunto CAPES: 20303009

1. Anatomia vegetal 2. Morfologia vegetal 3. Flores 4. Frutos 5. Se-
mentes

CDD 581.46

Palavras-chave: Connaraceae; Flor; Oxalidaceae; Pericarpo; Semente;
Tricoma glandular

Dedico à minha família.

AGRADECIMENTOS

À Prof^ª Dr^ª Denise Maria Trombert Oliveira, a quem devoto sincera admiração, agradeço por toda a atenção dedicada a minha formação acadêmica, pelo apoio e incentivo constantes na realização deste trabalho, pela confiança e tratamento acolhedor.

Ao Prof. Dr. Élder Antônio Sousa e Paiva e Prof^ª Dr^ª Sheila Zambello de Pinho, pela orientação em temas específicos neste trabalho e pela generosidade com que a fizeram.

Aos Professores do curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), pelas suas contribuições a minha formação acadêmica.

Aos taxonomistas Luciano C. Milhomens e Pedro Fiaschi, pela identificação das espécies estudadas neste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Botânica, especialmente Clemente José Campos, pelo auxílio nas coletas, e Kleber A. Campos, pela prontidão em me auxiliar nas atividades laboratoriais.

Aos funcionários da Biblioteca Marlene e Braz, pela simpatia e empenho em atender às solicitações de artigos via COMUT.

Aos meus queridos amigos Juliana Marzinek e Orlando Cavalari de Paula pelo companheirismo e convívio acadêmico tão proveitoso.

Aos amigos Shirlyne S. U. de Barros, Daniela D. Pinto e Marco Antônio G. Martins, pela cordialidade com que me receberam em Botucatu e pelo apoio.

À Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS) por me incluir no Programa de Qualificação Docente.

Aos queridos amigos da UEMS: Emília Maria Silva, Francisco C. E. González, Olga T. Matsuno, César Y. Fujihara e Rosemary Mocchi, por todo o apoio que recebi.

À CAPES pela concessão de bolsa PICDT.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| RESUMO | 1 |
| ABSTRACT | 3 |
| INTRODUÇÃO | 5 |
| REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 8 |
| Connaraceae e Oxalidaceae: relações interfamiliares e classificação ordinal | 8 |
| Família Connaraceae | 9 |
| Família Oxalidaceae | 12 |
| Considerações sobre as espécies estudadas | 13 |
| Anatomia floral..... | 16 |
| Heterostilia | 19 |
| Morfologia dos frutos | 21 |
| Morfologia da semente | 21 |
| CAPÍTULO I – Tricomas glandulares em <i>Connarus suberosus</i> (Connaraceae): distribuição, organização estrutural e prováveis funções..... | 24 |
| Resumo | 26 |
| Introdução | 27 |
| Material e métodos | 28 |
| Resultados | 29 |
| Discussão | 31 |
| Literatura citada | 34 |
| Ilustrações | 38 |
| CAPÍTULO II – Existem variedades de <i>Connarus suberosus</i> ? Evidências morfoanatômicas da heterostilia e dioícia | 42 |
| Resumo | 44 |
| Introdução | 44 |
| Material e métodos | 46 |
| Resultados | 47 |
| Discussão | 52 |
| Referências | 57 |
| Ilustrações | 59 |

| | |
|--|-----|
| CAPÍTULO III – Morfoanatomia e desenvolvimento do pericarpo e da semente de <i>Connarus suberosus</i> Planch. (Connaraceae) | 67 |
| Introdução | 69 |
| Material e métodos | 70 |
| Resultados | 71 |
| Discussão | 78 |
| Literatura citada | 84 |
| Ilustrações | 89 |
| CAPÍTULO IV – Morfologia e anatomia floral de <i>Oxalis cytisoides</i> Zucc. (Oxalidaceae) . | 102 |
| Resumo | 104 |
| Introdução | 104 |
| Material e métodos | 106 |
| Resultados | 106 |
| Discussão | 112 |
| Referências bibliográficas | 115 |
| Ilustrações | 118 |
| CAPÍTULO V – Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo e semente de <i>Oxalis cytisoides</i> Zucc. (Oxalidaceae), com ênfase no peculiar mecanismo de deiscência | 125 |
| Resumo | 127 |
| Introdução | 127 |
| Material e métodos | 129 |
| Resultados | 130 |
| Discussão | 134 |
| Referências bibliográficas | 138 |
| Ilustrações | 140 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 146 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 147 |

DENARDI, J.D. **ESTRUTURA E ONTOGÊNESE DE ÓRGÃOS REPRODUTIVOS DE *CONNARUS SUBEROSUS* PLANCH. (CONNARACEAE) E *OXALIS CYTISOIDES* ZUCC. (OXALIDACEAE)**. 2008. 155 P. TESE (DOUTORADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO - Considerando que Connaraceae e Oxalidaceae constituem um clado de Oxalidales bem representado na flora brasileira e pouco estudado relativamente à estrutura de órgãos reprodutivos, este trabalho aborda a morfoanatomia e a ontogênese de flores, frutos e sementes de *Connarus suberosus* (Connaraceae) e *Oxalis cytisoides* (Oxalidaceae), a fim de avaliar a existência de padrões estruturais comuns a essas espécies. O processamento das amostras para microscopia de luz e microscopia eletrônica de transmissão e de varredura seguiu as técnicas usuais. Verificou-se que, estruturalmente, *C. suberosus* possui heterostilia dimórfica, caracterizada pelas formas brevi- e longistila, as quais se mostraram funcionalmente masculina e feminina, respectivamente. Alguns caracteres morfológicos peculiares a cada forma floral, provavelmente estão associados à evolução da dioícia, como dimensões de sépalas e pétalas e distribuição de tricomas glandulares. Nesta análise, provou-se que esses caracteres, aliados às diferenças de tamanho dos verticilos de estames das formas florais, foram utilizados equivocadamente na delimitação de *C. suberosus* var. *fulvus* e *C. suberosus* var. *suberosus*, que correspondem às formas brevistila e longistila, respectivamente. Independentemente da forma floral, houve variação no número de sépalas, pétalas e estames e tendência à restrição do tecido nectarífero aos setores antepetalos do tubo estaminal. A vascularização carpelar mostrou-se derivada em relação ao padrão descrito para Connaraceae, devido à formação de um complexo ovular mediante união parcial de traços ovulares àqueles derivados de feixes alas. O desenvolvimento do pericarpo e da semente, que pode ocorrer apomiticamente, não é concomitante, visto que a diferenciação seminal inicia-se após a expansão do pericarpo, quando este alcança comprimento e largura finais. Ao término da diferenciação seminal, ocorre a maturação pericárpica, caracterizada pela expansão radial das células do mesocarpo externo que, provavelmente, causa a deiscência do folículo. A semente madura é arilada, hemítropa e vascularizada por um complexo rafeal e outro pré-rafeal; o tégmen é parcialmente absorvido. Diferentemente de outras Connaraceae, a endotesta e o exotégmen são multiplicativos; o mesotégmen mostra-se esclerificado. O endosperma, que é núcleo-celular, persiste como estrato irregularmente multisseriado, adnato ao tegumento. Como parte do indumento de *C. suberosus*, relatou-se a ocorrência de tricomas glandulares, que consistem de pedúnculo multicelular, unisseriado, e de uma porção glandular multicelular que, na fase secretora, apresenta acúmulo de compostos pécticos, amido e gotas lipídicas, as quais ocupam grande parte do volume celular. No citoplasma das células secretoras, predominam mitocôndrias, plastídios e dictiossomos. Na fase secretora, observa-se hidrólise do amido presente nos plastídios, redução na densidade do estroma plastidial e fusão de plastídios com vacúolos. A ocorrência desses tricomas glandulares nas superfícies expostas de órgãos em desenvolvimento, associada à natureza química dos produtos de secreção e reserva, sugere que estas estruturas possam atuar como corpos de alimentação. *Oxalis cytisoides* apresenta tristilia e morfologia floral típica de Oxalidaceae, destacando-se que as pétalas expandem-se apenas após a diferenciação dos demais verticilos, sendo livres na base e no ápice, conatas em pequena extensão. O retarde no desenvolvimento da corola sugere que a obdiplostemonia é primária. Anatomicamente, o que mais se destaca é similaridade entre o mesófilo de sépalas e carpelos, ambos preenchidos, em grande parte, por volumosas células aquíferas. O pericarpo de *O. cytisoides* passa por pequenas alterações durante o desenvolvimento, mantendo estrutura geral similar à parede ovariana, com exocarpo e

endocarpo unisseriados e mesocarpo com dois estratos, o externo composto por parênquima aquífero, que mantém a turgescência do fruto até próximo da deiscência, e o interno, que é clorofiliano. As sementes desenvolvem ambos os tegumentos, com espessa cutícula na exotesta, mesotesta multiplicativa que acumula amido até próximo da maturidade, endotesta cristalífera e exotégmen unisseriado, composto por células paliçádicas espessadas. São sementes albuminosas, com amplo endosperma formado de modo núcleo-celular. Ocorre deiscência loculicida no fruto, a partir da desidratação do mesocarpo externo, que contrai o pericarpo; tricomas endocárpicos lignificados alavancam as sementes, lançando-as balisticamente; como a testa se rompe na camada cristalífera, as sementes são dispersadas revestidas pelo exotégmen e resíduos da endotesta. As espécies estudadas compartilham vários caracteres e tendências morfológicas, os quais incluem ocorrência e função de tricomas glandulares em partes florais; restrição de áreas nectaríferas aos setores antepétalos; desenvolvimento assimétrico dos frutos, os quais apresentam estômatos exo- e endocárpicos e tricomas internos; desenvolvimento núcleo-celular do endosperma; entre outros.

Palavras-chave – Connaraceae, Oxalidaceae, flor, pericarpo, semente, tricoma glandular

DENARDI, J.D. **STRUCTURE AND ONTOGENY OF THE REPRODUCTIVE ORGANS OF *CONNARUS SUBEROSUS* PLANCH. (CONNARACEAE) AND *OXALIS CYTISOIDES* ZUCC. (OXALIDACEAE)**. 2008. 155P. DR THESIS – BIOSCIENCES INSTITUTE, UNESP – SÃO PAULO STATE UNIVERSITY, BOTUCATU.

ABSTRACT – Connaraceae and Oxalidaceae constitute a clade of Oxalidales that is well represented within the Brazilian flora although relatively poorly studied in terms of the structure of their reproductive organs. The present work examined the morphology, anatomy and ontogeny of the flowers, fruits, and seeds of *Connarus suberosus* (Connaraceae) and *Oxalis cytisoides* (Oxalidaceae) in order to evaluate the existence of structural patterns common to both species. Preparation of plant samples for viewing under light and electron microscopy followed established techniques. *Connarus suberosus* demonstrated dimorphic heterostyly, characterized by the brevi- and longistylous morphs, which were observed to be functionally masculine and feminine respectively. Some of the peculiar morphological characteristics of each floral form are probably associated with the evolution of dioecy, such as the dimensions of the sepals and petals and the distribution of the glandular trichomes. The present analysis indicated that these characters, allied to differences in the sizes of the verticils of the two floral forms, had been equivocally used in delimiting *C. suberosus* var. *fulvus* and *C. suberosus* var. *suberosus*, which correspond to thrum and pin morphs respectively. Independent of the floral form, variation in the numbers of sepals, petals, and stamens were observed, as well as a tendency for the nectary tissues to be restricted to the epipetalous sectors of the staminal tube. Carpel vasculature was observed to be derived in relation to the pattern described for Connaraceae due to the formation of an ovular complex resulting from the partial union of ovular traces derived from wing bundles. The development of the pericarps and seeds, which can occur in an apomixic manner, is not concomitant; the seed differentiation initiates after the expansion of the pericarp when this organ attains its final length and width. The pericarp matures when seminal differentiation ends, and is characterized by radial expansion of the outer mesocarp cells, which provokes the dehiscence of the follicles. The mature seed is arillate, hemianatropous, and is vascularized by a raphal bundle complex as well as a pre-raphal bundle complex; the tegmen is partially absorbed. Different from other Connaraceae, the endotesta and exotegmen are multiplicative; the mesotegmen is sclerified. The endosperm, which is nuclear-cellular, persists as an irregular multiseriate layer adnate to the seed coat. Glandular trichomes make up part of the indument of *C. suberosus*, these having uniseriate multicellular peduncles with multicellular glandular portions that accumulate pectic compounds, starch, and lipidic drops, which take up a large portion of the cellular volume in their secretory phase. Mitochondria, plastids, and dictyosomes predominate in the cytoplasm of the secretory cells. Hydrolysis of the starch present in the plastids was observed in the secretory phase, as well as a reduction in the density of the plastid stroma and the fusion of plastids with vacuoles. The occurrence of glandular trichomes on the exposed surfaces of the developing organs in association with the chemical nature of the secretion and reserve products, suggests that these structures act as food bodies. *Oxalis cytisoides* demonstrates the tristylous and floral morphology typical of the Oxalidaceae, especially in terms of its petals, that expand only after the differentiation of the other verticils, are free at the base and at the apex, and connate only for short extensions. The slow development of the corolla suggests that the obdiplostemony is primary. The anatomical factor that most stands out is the similarity between the mesophyll of the sepals and carpels,

both of which are mostly filled by large water-storing cells. The pericarp of *O. cytisoides* undergoes only small alterations during development, maintaining the general structure similar to the ovarian wall. The exocarp and endocarp are uniseriate, and the mesocarp has two layers – an outer layer composed of watery parenchyma, which maintains the fruit turgid until near dehiscence, and an inner photosynthetic layer. The seeds develop both integuments, with a thick exotesta cuticle, a multiplicative mesotesta that accumulates starch almost to maturity, and a crystalliferous endotesta and uniseriate exotegmen composed of thick palisade cells. The seeds are albuminous, with ample endosperm formed in a nuclear-cellular mode. Loculicidal dehiscence occurs in the fruit by dehydration of the outer mesocarp, contracting the pericarp; lignified endocarp trichomes propel the seeds outwards at high speeds. As the testa is torn along the crystalliferous layer the seeds are covered by the exotegmen and vestiges of the endotesta after dispersal. The species studied have various characteristics and morphological tendencies which include: the occurrence and functioning of glandular trichomes on floral parts; restriction of nectary areas to the epipetalous sectors; asymmetric development of the fruits, which have stomata on the exo- and endocarp and internal trichomes; the development of a nuclear-cellular endosperm; among others.

Key words – Connaraceae, Oxalidaceae, flower, pericarp, seeds, glandular trichomes

INTRODUÇÃO

Estudos recentes sobre sistemática de angiospermas promoveram um reagrupamento de *taxa* superiores, com base em análises cladísticas de seqüências de DNA, em particular dos genes 18S rDNA, *rbcL* e *atpB* (Chase *et al.*, 1993; Savolainen *et al.*, 2000; Soltis *et al.*, 2000). Desta forma, uma nova classificação para as famílias de angiospermas foi proposta pelo “Angiosperm Phylogeny Group” (APG, 1998; 2003).

Uma associação inesperada de famílias resultou na circunscrição da ordem Oxalidales, a qual, de acordo com APG (2003), constitui-se das famílias Brunelliaceae, Cephalotaceae, Connaraceae, Cunoniaceae, Elaeocarpaceae (incluindo Tremandraceae) e Oxalidaceae. Em classificações tradicionais (por exemplo: Cronquist, 1981; Takhtajan, 1997; Thorne, 2000), essas famílias estavam alocadas em diversas ordens, nem todas relacionadas estritamente ou inclusas em uma mesma subclasse. Na classificação de Cronquist (1981), constavam na subclasse Rosidae as seguintes ordens e respectivas famílias: Rosales (Brunelliaceae, Cephalotaceae, Connaraceae e Cunoniaceae), Geraniales (Oxalidaceae) e Polygalales (Tremandraceae). Elaeocarpaceae, em contraste, estava na subclasse Dilleniidae (ordem Malvales). Na classificação de Takhtajan (1997), embora colocadas nas mesmas subclasses, o número de ordens para essas famílias aumentou. Em Rosidae, consistiam de Cunoniales (Brunelliaceae e Cunoniaceae), Cephalotales (Cephalotaceae), Connarales (Connaraceae), Oxalidales (Oxalidaceae) e Vochysiales (Tremandraceae). Elaeocarpaceae foi mantida em Dilleniidae, mas acomodada em sua própria ordem, Elaeocarpaceae. Na classificação de Thorne (2000), considerou-se em Rosidae apenas Brunelliaceae, Cephalotaceae e Cunoniaceae, as quais foram agrupadas na ordem Cunoniales. As famílias restantes foram distribuídas em Dilleniidae: Violales (Elaeocarpaceae), Rutales (Connaraceae) e Geraniales (Oxalidaceae e Tremandraceae).

Zhang e Simmons (2006) sugeriram a inclusão de Huaceae em Oxalidales, tendo em vista que, em suas análises, esses *taxa* figuram como grupos irmãos com suporte moderado (valores *jackknife* superiores a 80%). Em estudos anteriores (Nandi, Chase e Endress, 1998; Savolainen *et al.*, 2000; Soltis *et al.*, 2000), não se obteve suporte suficiente para se realizar a classificação ordinal dessa família.

De acordo com Stevens (2007), Connaraceae e Oxalidaceae são grupos irmãos, assim como Brunelliaceae e Cephalotaceae, e Tremandraceae está embebida em

Elaeocarpaceae. No entanto, com exceção do par Connaraceae/Oxalidaceae, as relações entre as demais famílias (Brunelliaceae, Cephalotaceae, Cunoniaceae, Elaeocarpaceae incluindo Tremandraceae) apresentam-se variáveis, devido à resolução conferida pelos dados até agora considerados na análise filogenética (Davies *et al.*, 2004; Savolainen *et al.*, 2000; Soltis *et al.*, 2005; Zhang e Simmons, 2006). A interpretação da estrutura floral (Matthews e Endress, 2002, 2006), por outro lado, corroborou as relações mencionadas por Stevens (2007).

No sistema APG II (APG, 2003), Oxalidales, Malpighiales e Celastrales constituem um grande subclado de eurosídeas I, cujas relações permanecem não resolvidas. Stevens (2007) reconheceu como sinapomorfia para essas ordens a ocorrência de exotégmen fibroso. Matthews e Endress (2005) descreveram, com base na morfoanatomia floral, caracteres que evidenciam a associação entre Celastrales e Malpighiales, bem como as potenciais sinapomorfias e tendências apomórficas entre Oxalidales, Malpighiales e Celastrales.

Matthews e Endress (2002) relacionaram diversos caracteres de Oxalidales menos comumente encontrados em outras ordens de rosídeas e consideraram que, pelo menos parte desses, poderiam representar sinapomorfias para Oxalidales ou, talvez, para eurosídeas I *sensu* APG (1998).

Stevens (2007) reconheceu como sinapomorfia para eurosídeas I o endosperma escasso. Para Oxalidales, o autor mencionou os seguintes caracteres: ocorrência de células de mucilagem, micrópila formada por ambos os tegumentos, estigma secretor, tegumento do óvulo multiplicativo, endotesta cristalífera e paliádica, e exotégmen fibroso ou traqueoidal.

Tendo em vista que: 1) na flora brasileira, a ordem Oxalidales *sensu* APG (2003) e Stevens (2007) está representada pelas famílias Connaraceae, Cunoniaceae, Elaeocarpaceae e Oxalidaceae (Souza e Lorenzi, 2005); 2) há uma maior afinidade filogenética entre Connaraceae e Oxalidaceae, conforme evidenciam as análises baseadas em dados moleculares; e 3) os trabalhos relativos à morfoanatomia de órgãos reprodutivos dessas duas famílias são escassos, ao contrário da situação levantada principalmente para Cunoniaceae (Bensel e Palser, 1975; Dickison, 1975a, 1975b, 1984; Doweld, 1998; Godley 1983; Govil e Saxena, 1976; Kennedy e Prakash, 1981; Lopez Naranjo e Huber, 1971; Moody e Hufford, 2000; Webb e Simpson, 1991); considerou-se oportuna a realização de um estudo sobre a estrutura e a ontogênese de órgãos reprodutivos de Connaraceae e Oxalidaceae.

As espécies escolhidas para o presente estudo foram *Connarus suberosus* Planch. (Connaraceae) e *Oxalis cytisoides* Zucc. (Oxalidaceae), em função de sua ocorrência

na região de Botucatu, Estado de São Paulo. No processo de seleção, consideraram-se também os seguintes aspectos:

- Em 170 levantamentos florísticos rápidos da flora lenhosa de cerrado *lato sensu*, realizados nos Estados da Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Piauí, Rondônia e Tocantins, Ratter, Bridgewater e Ribeiro (2001) avaliaram, entre 587 *taxa* inventariados (463 identificados até o nível de espécie), *C. suberosus* (Conmaraceae) como uma das espécies mais freqüentes, ocorrendo em 75% dos levantamentos.
- *Oxalis cytisoides* inclui-se no subgênero *Thamnoxys*, cujas espécies evoluíram principalmente nos campos e cerrados do Brasil (Lourteig, 1994) e para as quais não foram empreendidas abordagens anatômicas envolvendo órgãos reprodutivos.

O objetivo principal deste estudo foi realizar uma análise morfoanatômica dos órgãos reprodutivos de *C. suberosus* e *O. cytisoides*, a fim de avaliar a existência de padrões estruturais comuns a essas espécies. Os objetivos específicos consistiram em:

- Descrever a anatomia e a vascularização floral, a estrutura e ontogênese de frutos e sementes nas referidas famílias, bem como analisar a variabilidade estrutural desses órgãos.
- Comparar os resultados obtidos àqueles disponíveis na literatura para as demais famílias de Oxalidales e grupos filogeneticamente relacionados de acordo com o sistema APG II.
- Verificar a existência de caracteres estruturais de ocorrência comum às plantas dos ambientes de origem das espécies selecionadas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Connaraceae e Oxalidaceae: relações interfamiliares e classificação ordinal

Várias interpretações taxonômicas foram apresentadas a respeito das afinidades de Connaraceae com outras famílias. Hutchinson (1969) classificou Connaraceae em Dilleniales por considerá-la derivada do mesmo estoque ancestral de Dilleniaceae, com a qual compartilha gineceu apocárpico e sementes ariladas. No entanto, Dickison (1971, 1972, 1973a, 1973b, 1979) não encontrou evidências na morfologia de órgãos reprodutivos ou vegetativos para o estabelecimento dessa associação.

Dickison (1972) concluiu que os caracteres estruturais do lenho indicam uma posição avançada de Connaraceae dentro de Rosales ou uma relação mais estreita com Sapindales, conforme propôs Heimsch (1942) em um estudo anatômico do lenho de Gruinales e Terebinthales. Cronquist (1968) incluiu Connaraceae em Sapindales devido, principalmente, à anatomia avançada do lenho e à presença de arilo e órgãos secretores comuns a Sapindaceae. Contudo, esse autor ressaltou as similaridades entre Connaraceae e Rosales.

A relação de Connaraceae com Leguminosae e Rosaceae foi indicada em diversos estudos, dentre os quais se destacam aqueles conduzidos por Dickison (1971, 1972, 1973a, 1973b) a respeito da vascularização carpelar, anatomia nodal, morfoanatomia foliar e anatomia do lenho de Connaraceae. Cronquist (1981), subsidiado pelos trabalhos realizados por Dickison, optou por classificar Connaraceae em Rosales, em função de suas folhas exstipuladas, gineceu freqüentemente apocárpico e frutos usualmente do tipo folículo, que a distinguiria de Fabales; porém destacou que essa família encontra-se em uma “área nebulosa” que provê a conexão entre Rosales, Fabales e Sapindales. Posteriormente, trabalhos envolvendo filogenia de Leguminosae revelaram que essa família possui o mesmo padrão de espessamento endotecial de Connaraceae, Rosaceae, Sapindaceae e Chrysobalanaceae (Manning e Stirton, 1994) e o mesmo arranjo de ceras epicuticulares observado em Connaraceae (Ditsch, Patha e Barthlott, 1995).

Corner (1976), em seus estudos sobre as sementes das dicotiledôneas, sugeriu uma aliança entre Connaraceae e as demais famílias que apresentam exotégmen fibroso, especialmente Meliaceae. Segundo o autor, não há evidências de afinidades entre Connaraceae, Rosaceae e Leguminosae, quando se considera a estrutura das sementes e o sistema de vascularização dos carpelos.

A inclusão de Connaraceae em qualquer uma das ordens citadas anteriormente, leva à incompatibilidade de parte de seus caracteres com aquela posição. Assim, Takhtajan (1969, 1997) criou a ordem Connarales para abranger, exclusivamente, essa família.

Segundo Forero (1983), alguns autores clássicos como Endlicher, Planchon, Bentham e Hooker relacionaram Connaraceae com Oxalidaceae. Entretanto, na maioria das classificações tradicionais, incluiu-se Oxalidaceae em Geraniales (Cronquist, 1981, 1988; Thorne, 1992, 2000). Dahlgren (1989), por outro lado, acomodou essa família em Linales, enquanto Takhtajan (1997) preferiu tratá-la em uma ordem própria: Oxalidales. Behnke (1982) considerou possível a associação citada no início desse parágrafo, ao verificar que Connaraceae (*Connarus*) e alguns membros de Oxalidaceae (*Averrhoa*, *Oxalis*) apresentam plastídios de elementos crivados do tipo P, sendo que *Connarus* e *Averrhoa* compartilham a mesma forma (Pcs'). Recentemente, Connaraceae e Oxalidaceae aparecem como famílias-irmãs nas análises filogenéticas realizadas por Hufford e Dickison (1992), a partir de dados morfológicos e químicos, bem como em estudos filogenéticos baseados em seqüências gênicas (Davies *et al.*, 2004; Savolainen *et al.*, 2000; Soltis *et al.*, 2000, 2005; Zhang e Simmons, 2006) ou na combinação de dados moleculares e morfológicos (Nandi, Chase e Endress, 1998). Dessa forma, essas famílias são classificadas atualmente na ordem Oxalidales (APG, 1998, 2003).

De acordo com Stevens (2007), os seguintes caracteres são comuns a Connaraceae e Oxalidaceae: plantas com construção simpodial; presença da benzoquinona rapanona, destituídas de ácido elágico; raízes diarcas; lenho com raios unisseriados; plastídios de tubo crivado com cristalóides protéicos; drusas ausentes; plaquetas de cera epicuticular arranjadas como rosetas; folhas imparipinadas ou trifolioladas ou unifolioladas (condição menos comum), folíolos articulados, margens inteiras, nervuras secundárias pinadas a palmadas, sem estípulas; corola unida pós-genitalmente próximo à base, com pêlos glandulares unisseriados; nectário extra-estaminal; dois verticilos de estames de diferentes comprimentos, os quais portam pêlos glandulares unisseriados; heterostilia di ou trimórfica; fruto com cálice persistente e exotesta mais ou menos carnosa.

Família Connaraceae

Connaraceae consta de espécies arbóreas, arbustivas ou lianas com ampla distribuição nas regiões tropicais. No Neotrópico, é encontrada desde o México e Cuba até o Estado de Santa Catarina, no sul do Brasil. Ocorre desde o nível do mar até 1.000 metros de altitude, em florestas ombrófilas e ripárias, nos cerrados e na vegetação sobre restinga. No

Brasil, que é considerado o centro de diversificação da família na região Neotropical, ocorrem 64 espécies, classificadas nos gêneros *Bernardinia* (1), *Connarus* (29), *Pseudoconnarus* (3) e *Rourea* (31). No Estado de São Paulo, a família está representada por *Bernardinia*, *Connarus* e *Rourea*, abrangendo oito espécies e três variedades (Forero, 1983; Forero e Costa, 2002).

Os estudos taxonômicos sobre Connaraceae, como aqueles conduzidos por Schellenberg (1938), Leenhouts (1958) e Breteler (1989), compilados no Quadro 1, revelaram divergências consideráveis na delimitação dos *taxa* em níveis infrafamiliares. Os tratamentos realizados por Leenhouts (1958) e Breteler (1989) caracterizam-se por uma substancial redução dos números de gêneros e espécies em relação àqueles reconhecidos por Schellenberg (1938). Leenhouts revisou o trabalho de Schellenberg (1938), quando preparava sua contribuição para “Flora Malesiana”. Nessa obra, Leenhouts (1958) referiu-se a seis gêneros e 36 espécies de Connaraceae para a Malásia, em contraste aos nove gêneros com 142 espécies reportados, anteriormente, por Schellenberg (1938) para a Ásia e áreas adjacentes. Um resultado similar foi obtido na revisão das espécies africanas (Breteler, 1989): uma redução de 154 espécies em 16 gêneros, segundo Schellenberg (1938), para 49 espécies em 10 gêneros. No entanto, o tratamento empreendido para espécies americanas não levou à diminuição do número de taxa. De acordo com Schellenberg (1938), cinco gêneros com 89 espécies ocorrem na América, enquanto que Forero (1983) registrou 101 espécies alocadas nos mesmos gêneros. Desta forma, a América exibe, atualmente, a maior diversidade de espécies. Na opinião de Breteler (1989), esse resultado provavelmente reflete um conceito diferente de espécie.

Em seu estudo, Leenhouts (1958) reconheceu 16 gêneros para Connaraceae e não aceitou a subdivisão da família, proposta por Schellenberg (1938), principalmente por considerar a delimitação de tribos, com base na posição da inflorescência, insustentável na prática. Breteler (1989) encontrou apoio em análises filogenética e de similaridade total para o estabelecimento de quatro tribos: Connareae, Jollydoreae, Manoteae e Cnestideae. Essas classificações (filogenética e por similaridade total) basearam-se nos gêneros e em seus caracteres diferenciais. Segundo o autor, Connaraceae abrange 12 gêneros e cerca de 110 a 200 espécies, dependendo do conceito de espécie adotado.

Forero (1983) fez uma síntese dos usos de espécies de Connaraceae, os quais se relacionam, principalmente, à medicina popular e a efeitos tóxicos sobre animais. Estudos fitoquímicos recentes comprovaram os benefícios terapêuticos e, algumas vezes, a toxicidade de substâncias ativas e extratos obtidos de diversas partes de plantas dessa família. Por exemplo, Otshudi *et al.* (2000) relataram atividades antidesentérica e bactericida para extratos

Quadro 1 – Comparação de tratamentos taxonômicos infrafamiliares de Connaraceae

| SCHELLENBERG (1938) | LEENHOUTS (1958) | BRETELER (1989) |
|--|---|---|
| Subfam. I. JOLLYDOROIDEAE 1. <i>Jollydora</i> Pierre | 1. <i>Cnestis</i> Juss. 2. <i>Agelaea</i> Soland. ex. Planch. (inclui <i>Agelaea</i> e <i>Castanola</i> sensu Schellenberg, 1938) | Tribo 1. Jollydoreae 1. <i>Jollydora</i> Pierre |
| Subfam. II. CONNAROIDEAE | | Tribo 2. Manoteae 2. <i>Manotes</i> Soland. |
| Tribo 1. Cnestideae 2. <i>Cnestis</i> Juss. | Subgênero <i>Troostwykia</i> Subgênero <i>Agelaea</i> | Tribo 3. Connareae 3. <i>Burttia</i> Bak. F. Exell. 4. <i>Connarus</i> L. 5. <i>Ellipanthus</i> Hook. f. (inclui <i>Ellipanthus</i> , <i>Pseudoellipanthus</i> , sensu Schellenberg, 1938) |
| Tribo 2. Agelaeae 3. <i>Manotes</i> Soland. 4. <i>Hemadradenia</i> Stapf 5. <i>Agelaea</i> Soland. | 3. <i>Roureopsis</i> Planch. (inclui <i>Roureopsis</i> e <i>Taeniochlaena</i> sensu Schellenberg, 1938) 4. <i>Rourea</i> Aubl. (inclui <i>Rourea</i> , <i>Byrsocarpus</i> , <i>Jaundea</i> , <i>Santaloides</i> , <i>Santaloidella</i> , sensu Schellenberg, 1938) 5. <i>Ellipanthus</i> Hook. f. (inclui <i>Ellipanthus</i> , <i>Pseudoellipanthus</i> , <i>Hemadradenia</i> sensu Schellenberg, 1938) | 6. <i>Hemadradenia</i> Stapf 7. <i>Vismianthus</i> Mildbr. |
| Tribo 3. Byrsocarpeae 6. <i>Pseudoconnarus</i> Raldlk. 7. <i>Burttia</i> Bak. F. Exell. 8. <i>Vismianthus</i> Mildbr. 9. <i>Bernardinia</i> Planch. 10. <i>Spiropetalum</i> Gilg. 11. <i>Roureopsis</i> Planch. 12. <i>Paxia</i> Gilg. 13. <i>Santaloidella</i> Schellenb. 14. <i>Santaloides</i> (L.) O. Ktze. Subgênero <i>Dalbergioidea</i> Subgênero <i>Afrosantaloides</i> Subgênero <i>Mimosoidea</i> | 6. <i>Connarus</i> L. 7. <i>Cnestidium</i> Planch. 8. <i>Schellenbergia</i> Parkinson 9. <i>Paxia</i> Gilg. 10. <i>Spiropetalum</i> Gilg. 11. <i>Bernardinia</i> Planch. 12. <i>Vismianthus</i> Mildbr. 13. <i>Burttia</i> Bak. F. Exell. | Tribo 4. Cnestideae 8. <i>Agelaea</i> Soland. ex. Planch. (inclui <i>Agelaea</i> e <i>Castanola</i> sensu Schellenberg, 1938) Secção <i>Troostwykia</i> Secção <i>Agelaea</i> 9. <i>Cnestis</i> Juss. 10. <i>Cnestidium</i> Planch. 11. <i>Pseudoconnarus</i> Raldlk. 12. <i>Rourea</i> Aubl. (inclui <i>Rourea</i> , <i>Bernardinia</i> , <i>Byrsocarpus</i> , <i>Jaundea</i> , <i>Paxia</i> , <i>Roureopsis</i> , <i>Santaloidella</i> , <i>Spiropetalum</i> , <i>Santaloides</i> , <i>Taeniochlaena</i> , sensu Schellenberg, 1938) Secção <i>Bernardinia</i> Secção <i>Byrsocarpus</i> Secção <i>Rourea</i> Secção <i>Roureopsis</i> Secção <i>Santaloides</i> |
| 15. <i>Byrsocarpus</i> Schum. et Thonn. Subgênero <i>Eubysocarpus</i> Subgênero <i>Pseudojaundea</i> 16. <i>Jaundea</i> Gilg. | 14. <i>Pseudoconnarus</i> Raldlk. 15. <i>Manotes</i> Soland. 16. <i>Jollydora</i> Pierre | |
| Tribo 4. Castanoleae 17. <i>Taeniochlaena</i> Hook. f. 18. <i>Castanola</i> Llanos 19. <i>Schellenbergia</i> Parkinson 20. <i>Ellipanthus</i> Hook. f. 21. <i>Pseudoellipanthus</i> Schellenb. | | |
| Tribo 5. Connareae 22. <i>Cnestidium</i> Planch. 23. <i>Rourea</i> Aubl. 24. <i>Connarus</i> L. Subgênero <i>Connarellus</i> Subgênero <i>Neoconnarus</i> Subgênero <i>Euconnarus</i> | | |

de raízes de *Roureopsis obliquifoliolata*; Kuwabara *et al.* (2003) estudaram uma substância (“tricin”) com potente efeito anti-histamínico, extraída de folhas de *Agelaea pentagyna*; Jiménez *et al.* (2001) constataram que extratos de folhas e ramos de *Connarus lambertii* apresentam uma forte ação sobre a atividade cardiovascular de animais experimentais, causando-lhes a morte, bem como são efetivos na inibição da enzima glucose-6-fosfatase, que catalisa a reação final da neoglicogênese e glicogenólise. Taveira *et al.* (1988) investigaram os efeitos de extratos da casca de *Connarus fulvus* (= *Connarus suberosus*) em camundongos, uma vez que essa planta é consumida em chás e garrafadas devido a uma suposta ação sobre as funções cardíacas. Os resultados obtidos não confirmaram esta atividade, mas indicaram ações analgésica, anticonvulsivante e anticurarizante, além da toxicidade desses extratos.

Apesar dos indícios sobre o potencial farmacológico de muitas espécies de Connaraceae (Forero, 1983; Jongkind, 1989), poucos estudos (Aiyar *et al.*, 1964; Jeannoda *et al.*, 1985; Kuwabara *et al.*, 2003; Le *et al.*, 2005) trataram da identificação das substâncias responsáveis por seus efeitos terapêuticos.

Família Oxalidaceae

Oxalidaceae é constituída por cinco gêneros e cerca de 800 espécies; *Oxalis* é o maior gênero com aproximadamente 700 espécies (Stevens, 2007). São, em geral, ervas bulbosas, raramente arbustos ou árvores, com distribuição tropical e subtropical. No Brasil, ocorrem dois gêneros (*Biophytum* e *Oxalis*) com cerca de 150 espécies (Souza e Lorenzi, 2005). No Estado de São Paulo, está representada apenas por *Oxalis*, no entanto *Averrhoa carambola* é muito cultivada em função dos frutos comestíveis (Fiaschi e Conceição, 2005).

Economicamente, *Oxalis* destaca-se por incluir espécies invasoras de culturas (Lorenzi, 2000), espécies ornamentais (Ingram, 1958, 1959), e pela “oca” (*Oxalis tuberosa*), cujos tubérculos comestíveis são cultivados na região andina (Alvarez, 1960; Trognitz e Hermann, 2001). Várias espécies são mencionadas em estudos etnobotânicos (Albuquerque e Andrade, 2002; Guarim Neto e Morais, 2003; Rodrigues e Carvalho, 2001), mas há poucos ensaios laboratoriais voltados à comprovação de suas propriedades farmacológicas. Em um desses, Egly *et al.* (2003) isolaram, a partir de *O. erythrorhiza*, compostos que se mostraram ativos contra *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis* e *L. donovani*.

O gênero *Oxalis* consiste de quatro subgêneros: *Oxalis*, *Thamnoxyis*, *Monoxalis* e *Trifidus*. O subgênero *Oxalis* caracteriza-se pelo hábito herbáceo e por suas folhas trifolioladas digitadas, enquanto os representantes de *Thamnoxyis* são arbustivos ou

subarbustivos e apresentam folhas trifolioladas pinadas. Os demais subgêneros abrangem apenas duas espécies cada um (Lourteig, 1994, 2000).

Estudos taxonômicos a respeito do gênero *Oxalis* foram conduzidos por vários autores. Knuth (1930), por exemplo, dedicou-se à descrição e à determinação de espécies africanas e sulamericanas, considerando 37 seções, numerosas subseções e séries. Denton (1973) realizou uma monografia sobre as espécies da seção *Ionoxalis* da América do Norte. Lourteig (1975, 1979) revisou as seções *Thamnoxys* e *Corniculatae*, respectivamente, no âmbito das espécies extra-austroamericanas. Em publicações subsequentes, a autora apresentou a descrição do subgênero *Trifidus* (Lourteig, 1995) e os resultados de tratamentos taxonômicos efetuados para os subgêneros *Thamnoxys* (Lourteig, 1994), *Monoxalis*, *Oxalis* e *Trifidus* (Lourteig, 2000).

Considerações sobre as espécies estudadas

Connarus suberosus é uma espécie que se desenvolve em áreas de cerrado, sendo encontrada nos seguintes estados: Pará, Maranhão, Piauí, Bahia, Goiás (incluindo o Distrito Federal), Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo. Forero e Costa (2002) caracterizaram-na como árvore de pequeno porte, 1,5-7(-12)m; casca espessa, suberosa; ramos tortuosos, os jovens densamente ferrugíneo-tomentosos. Folhas 5-9(-13) folioladas, folíolos elípticos, ovais ou suborbiculares, coriáceos, face adaxial tomentosa quando jovem, passando a glabrescente ou glabra, face abaxial tomentosa quando jovem passando a glabra, exceto na nervura central. Inflorescência paniculada (Fig. 1), terminal ou axilar, densamente ferrugíneo-tomentosa; sépalas com pontos glandulosos inconspícuos, tomentosa externamente, glabra internamente; pétalas com pontos glandulosos presentes ou ausentes, margem com ou sem tricomas glandulosos; estames unidos na base, com ou sem tricomas glandulosos; estilete tomentoso, geralmente com tricomas glandulosos; ovário tomentoso. Fruto estipitado (Fig. 2), densamente ferrugíneo-tomentoso quando jovem, mais tarde irregularmente pubérulo externamente, esparsamente pubescente internamente.

Forero (1983), revisando *Connaraceae* neotropicais, concluiu que era impossível manter *Connarus suberosus* e *C. fulvus* como entidades separadas. Desta forma, procedeu à nova combinação, reconhecendo para *C. suberosus* as variedades *suberosus* e *fulvus*. Para a identificação das mesmas, propôs a seguinte chave:

- sépalas 3,5 mm; pétalas 4x1,5 mm; pontos glandulosos ausentes ou inconspícuos; estames maiores 2,5 mm, menores 1,5 mm, sem tricomas glandulosos nos filetes, tricomas glandulosos presentes no ápice do conectivo e no estilete *C. suberosus* var. *suberosus*

- sépalas 2,6 mm; pétalas 5-5,5x2 mm, pontos glandulosos conspícuos; estames maiores 4 mm, menores 3 mm, com tricomas glandulosos nos filetes, tricomas glandulosos ausentes no ápice do conectivo e no estilete *C. suberosus* var. *fulvus*

Embora mencione a existência de estados intermediários em caracteres como pilosidade dos filetes, ocorrência de pontos glandulosos nas pétalas, forma e pubescência dos folíolos, entre outros, Forero (1983) considerou possível distinguir certas tendências que justificariam a referida classificação.

Milhomens e Proença (2002), mediante a análise de 42 exsicatas, das quais 17 foram selecionadas a partir da monografia de Forero (1983), concluíram que não há correlação entre os caracteres diagnósticos estabelecidos por este autor e as respectivas variedades de *C. suberosus*, uma vez que esses mostraram um gradiente de estados ou não diferiram expressivamente entre as variedades. Resultados similares foram obtidos quando se construíram gráficos de dispersão, utilizando-se outros caracteres que se apresentavam variáveis entre exsicatas escolhidas ao acaso. Verificou-se, contudo, que realmente existem as tendências morfológicas citadas por Forero (1983). Segundo Milhomens e Proença (2002), em se tratando de densidade e persistência de pilosidade, essas tendências estariam relacionadas à variação fenotípica ou genotípica, mas sem caracterizar a especialização de linhagens. Parte da variação encontrada no tamanho das peças florais foi atribuída a diferentes níveis de sexualidade das flores, visto que 50% das flores dissecadas apresentavam androceu normal e pistilos reduzidos (sem óvulos e com estilete curto a ausente). Desta forma, os autores recomendam que a variedade *fulvus* seja sinonimizada à variedade típica.

Em sua contribuição para “Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo”, Forero e Costa (2002) mantiveram a distinção entre *C. suberosus* var. *suberosus* e *C. suberosus* var. *fulvus*; entretanto, não relacionaram a presença ou ausência de tricomas glandulosos no estilete ou no ápice do conectivo como parte dos caracteres para sua identificação.

A outra espécie selecionada para esse estudo, *Oxalis cytisoides* (Fig. 3), ocorre em campos e locais úmidos até 950 m de altitude, desde o Ceará até o Rio Grande do Sul e na Argentina. Segundo Fiaschi e Conceição (2005), essa espécie consiste de subarbustos eretos, com até 1m, folhas espiraladas, trifolioladas pinadas; subopostas ou com entrenós até 6 cm; pecíolo canaliculado, piloso; peciólulos pilosos. Os folíolos são glabros a esparsamente pubescentes na face adaxial e densamente pubescentes na abaxial; lâmina terminal estreitamente ovada a lanceolada ou rombo-ovada, ápice agudo a atenuado, base aguda; lâminas laterais oblongas a ovadas, simétricas a levemente assimétricas, ápice agudo a obtuso,



Aspectos gerais. 1-2. *Conarus suberosus*, inflorescência e frutos respectivamente.
3. *Oxalis cytisoides*, ramo com botões, flores e frutos.

base aguda a arredondada. Inflorescências maiores que a folhagem, consistindo de cimeiras dicasiais. Sépalas pubescentes; corola rosa, filetes maiores apêndiculados e pilosos, menores glabros; estiletos pilosos. Cápsulas elipsóides a globosas, glabras; carpelos glabros e lóculos trisseminados. Lourteig (1994), porém, mencionou a ocorrência de pilosidade em ambas as superfícies da cápsula e duas a três sementes por lóculo.

Oxalis cytisoides assemelha-se muito a *O. barrelieri*, sendo as duas espécies reconhecidas com base em pequenas diferenças no formato e pilosidade dos folíolos (Fiaschi e Conceição, 2005).

Anatomia floral

As flores de Connaraceae são bissexuadas, actinomorfas, heterostilas; cálice pentâmero na maioria das espécies, sépalas livres ou conatas, geralmente pubescentes; corola também pentâmera, pétalas livres ou conatas acima da base, usualmente glabras, pontos glandulosos podem ocorrer nas pétalas de *Connarus*, *Manotes* e *Vismianthus*; dez estames unidos a partir da base em um tubo de extensão variável, os estames antessépalos são maiores que os demais; os filetes têm algum tipo de indumento em *Connarus*, *Ellipanthus*, *Hemandradenia* e *Manotes*; gineceu formado por um ou cinco carpelos livres, biovulados, parcial ou totalmente pubescentes na maioria das espécies (Forero, 1983; Jongkind, 1989).

De acordo com Matthews e Endress (2002), a anatomia floral de Connaraceae é pouco conhecida; no entanto, em seu trabalho, produziram uma relação de caracteres estruturais potencialmente úteis na determinação das afinidades interfamiliares dentro de Oxalidales, não se apresentando descrições detalhadas da anatomia das peças florais, à exceção da vascularização. Os autores consideraram que Connaraceae e Oxalidaceae compartilham alguns caracteres que são únicos para Oxalidales, sendo alguns deles raros em eudicotiledôneas. Essas sinapomorfias florais estão entre aquelas citadas por Stevens (2007).

Matthews e Endress (2002) notaram, ainda, similaridades entre os sistemas de vascularização floral de Connaraceae e Brunelliaceae. Segundo Dickison (1971), o padrão vascular prevalente em carpelos de Connaraceae assemelha-se àquele descrito para algumas espécies de Rosaceae (Sterling, 1953, 1969), Leguminosae (Rao, Sirdeshmukh e Sadar, 1958), Brunelliaceae e Cunoniaceae (Eyde, 1970), consistindo de cinco feixes principais. Desses, um é o feixe dorsal, dois são feixes ovulares e os outros dois são feixes alas. Os feixes ovulares vascularizam os óvulos, enquanto alas e dorsal continuam através do estilete. Em

Connarus culionensis var. *culionensis* e *C. punctatus* os traços ovulares fundem-se no ginóforo, de modo que apenas um cordão ovular estende-se a partir da base do carpelo. Em *Cnestidium guianense*, *Agelaea borneensis* e nas espécies de *Cnestis* estudadas, os carpelos são vascularizados por um feixe dorsal e dois ventrais. No entanto, em *Agelaea* sp, os traços ventrais dividem-se na base do lóculo, originando feixes alas e ovulares.

Sterling (1953, 1963, 1964a, 1964b, 1964c, 1965a, 1965b, 1965c, 1966a, 1966b, 1966c, 1969), por meio de uma série de estudos de morfologia comparada do carpelo em Rosaceae, concluiu que o padrão vascular ancestral caracteriza-se por feixes alas e ovulares livres. Padrões mais avançados derivaram da fusão entre feixes alas e ovulares, em extensões variáveis, para formar os feixes ventrais, sendo esta geralmente relacionada ao fechamento do carpelo.

Rao, Sirdeshmukh e Sadar (1958), em um trabalho extenso sobre a anatomia floral de Leguminosae, examinaram várias espécies cuja vascularização carpelar consiste de cinco traços principais ou é derivada desta condição; porém, não apresentaram uma interpretação sobre a filogenia do carpelo nessa família.

Corner (1976) considerou a similaridade na vascularização carpelar de Connaraceae, Rosaceae e Leguminosae como um “exemplo de convergência por meio de simplificação neotênica”.

Eyde (1970), ao discutir as relações filogenéticas de Brunelliaceae, tomou as semelhanças observadas na vascularização dos carpelos de *Brunellia* (Brunelliaceae) e *Acsmithia densiflora* (Cunoniaceae) como um dos parâmetros que unem as duas famílias. No entanto, Dickison (1975b) verificou que somente os carpelos de *Acsmithia* e *Spiraeanthemum* recebem cinco traços vasculares, enquanto que, nos demais gêneros de Cunoniaceae, a vascularização carpelar principal é derivada de três traços. Ao contrário de Rosaceae e Connaraceae, não há estádios intermediários entre esses padrões vasculares. Essa e outras disparidades anatômicas levaram o referido autor a sugerir a remoção de *Acsmithia* e *Spiraeanthemum* de Cunoniaceae.

Em Oxalidaceae, as flores são bissexuadas, radiais, usualmente heterostilas; com cinco sépalas livres; cinco pétalas distintas ou muito levemente conatas, geralmente convolutas; freqüentemente dez estames; filetes conatos basalmente, sendo os externos mais curtos que os internos; grãos de pólen geralmente tricolpados ou tricolporados; usualmente cinco carpelos conatos; ovário súpero, mais ou menos lobado, com placentação axial; geralmente cinco estiletos distintos; estigmas freqüentemente capitatos ou punctiformes; em

geral, vários óvulos por lóculo; néctar produzido pela base dos filetes ou por glândulas que se alternam com as pétalas (Judd *et al.*, 1999).

Estelita-Teixeira (1984) investigou a morfologia floral de *Oxalis latifolia*, *O. oxyptera* e *O. corymbosa*. Sauer (1933) destacou que a anatomia do carpelo em Oxalidaceae é similar àquela das sépalas. Matthews e Endress (2002) consideraram que o mesofilo das sépalas das Oxalidaceae, constituído por células especialmente grandes, representa uma autapomorfia para Oxalidales.

Estudos sobre a vascularização floral de Oxalidaceae conduzidos por Al-Nowaihi e Khalifa (1971), Narayana (1966), Kumar (1976) e Estelita-Teixeira (1980a) evidenciaram uma tendência à redução dos feixes carpelares dorsais. Em algumas famílias, como Meliaceae (Nair, 1963) e Malpighiaceae (Lorenzo, 1981), ocorre um processo evolutivo similar. Segundo Estelita-Teixeira (1980a), em *Oxalis latifolia*, *O. oxyptera* e *O. corymbosa*, observa-se a fusão de traços marginais de carpelos adjacentes, assim como de traços ventrais. Nos espécimes de *Oxalis* examinados por Al-Nowaihi e Khalifa (1971), Narayana (1966) e Kumar (1976), esses traços vasculares mostram-se conatos desde sua origem. Tendo em vista que os feixes ventrais apresentam orientação invertida em relação ao eixo floral, logo acima da base do ovário, Estelita-Teixeira (1980a) concluiu que há uma tendência à substituição da placentação parietal (Narayana, 1966; Kumar, 1976) pela axial.

A emissão de traços estaminais antepétalos em um nível inferior àquele de traços de estames antessépalos foi considerada uma confirmação anatômica da obdiplostemonia em Oxalidaceae (Al-Nowaihi e Khalifa, 1971; Narayana, 1966; Kumar, 1976; Estelita-Teixeira, 1980a). No entanto, Al-Nowaihi e Khalifa (1971) mencionam que, em *O. cernua*, o androceu obdiplostêmone somente é reconhecido do ponto de vista morfológico, pois os traços estaminais separam-se do cilindro central no mesmo nível. Ronse Decraene e Smets (1995) relataram que, em *taxa* obdiplostêmone, os traços de estames antepétalos divergem em um nível inferior, equivalente ou superior àquele dos traços antessépalos; portanto, não há uma correlação entre vascularização e obdiplostemonia.

O androceu obdiplostêmone representa uma interrupção da seqüência usual de alternância dos verticilos florais, devido à posição oposta às pétalas do verticilo externo de estames. Eames (1977) agrupou em três teorias as diversas interpretações sobre a obdiplostemonia, as quais explicam a sua origem pela adição de um novo verticilo de estames (teoria da intercalação), pela perda de um verticilo externo de estames (teoria da redução) ou pelo deslocamento ontogenético (teoria do deslocamento).

Recentemente, vários estudos sobre a ontogenia floral de *taxa* obdiplostêmones revelaram que os estames surgem na seqüência centrípeta usual. Desta forma, a obdiplostemonia foi interpretada como um fenômeno secundário causado pelo crescimento diferencial e deslocamento dos primórdios de estames. Esses resultados corroboram a teoria do deslocamento, proposta originalmente por Čelakovský em 1875 (Ronse Decraene e Smets, 1995; Weberling, 1992).

A partir da observação de casos de obdiplostemonia que não se ajustam às premissas de um deslocamento, Ronse Decraene e Smets (1995) propuseram a distinção entre três vias de desenvolvimento da obdiplostemonia: “obdiplostemonia primária” (os estames antepétalos surgem antes dos estames antessépalos e não há deslocamento secundário), “obdiplostemonia secundária” (as partes florais iniciam-se na seqüência acrópeta normal, mas os primórdios de estames antepétalos são deslocados para uma posição externa àquela dos estames antessépalos durante a ontogenia) e “obdiplostemonia centrífuga” (os primórdios de estames antepétalos surgem após os primórdios antessépalos e constituem o verticilo externo).

Em termos evolutivos, admite-se que a obdiplostemonia é uma condição intermediária na transição entre a diplostemonia e a haplostemonia ou, menos freqüentemente, na transição entre diplostemonia e obhaplostemonia (Ronse Decraene e Smets, 1995, 1997).

Heterostilia

Matthews e Endress (2002) citaram a ocorrência de heterostilia dimórfica e trimórfica em Connaraceae e Oxalidaceae e ressaltaram que o compartilhamento de heterostilia trimórfica é especialmente significativo, visto que é conhecida para poucas famílias de angiospermas. Contudo, Vuilleumier (1967), Ganders (1979) e Barrett (2002) consideraram que a heterostilia originou-se claramente em diversas ocasiões, especialmente em famílias com um grau intermediário de avanço evolutivo, as quais não formam um grupo estritamente relacionado.

Os relatos sobre heterostilia abrangem cerca de vinte e oito famílias de angiospermas. A maioria delas apresenta heterostilia dimórfica (distilia), enquanto que a heterostilia trimórfica (tristilia) é mais rara, sendo conhecida apenas em seis famílias (Barrett *et al.*, 2000).

As espécies portadoras de distilia caracterizam-se pela existência de plantas brevistilas e longistilas em suas populações, enquanto aquelas com tristilia têm populações constituídas por plantas brevistilas, medistilas (ou mesostilas) e longistilas. Em ambos os casos, há uma correspondência recíproca entre as posições de anteras e estigmas das formas

florais. No entanto, os padrões morfológicos que distinguem as formas florais podem incluir outros polimorfismos.

Em *Biophytum sensitivum* (Mayura Devi, 1966), *Oxalis tuberosa* (Gibbs, 1976) e *O. squamata* (Marco e Arroyo, 1998), os grãos de pólen maiores são produzidos pelos estames longos, o pólen de tamanho intermediário pelos estames médios e os grãos menores pelos estames curtos. Entretanto, esse trimorfismo é pouco característico em *Oxalis alpina* (Weller, 1976).

Em várias espécies tristilas, os estames médios e curtos não diferem entre si quanto à produção de pólen e os verticilos longos produzem quantidades consideravelmente menores; tais relações foram descritas para *O. squamata* (Marco e Arroyo, 1998). Em *O. alpina*, Weller (1976) verificou que os estames curtos produzem mais pólen que os médios e estes produzem mais que os longos.

Os estigmas das formas florais podem diferir na forma, tamanho ou, mais comumente, no tamanho das papilas estigmáticas. Em *Oxalis tuberosa*, os estigmas das três formas florais distinguem-se quanto a estes três parâmetros (Gibbs, 1976).

Marco e Arroyo (1998) registraram diferenças no comprimento de cálice e corola e pubescência estilar de *O. squamata*, as quais representam polimorfismos pouco comuns em plantas heterostilas.

Ao conjunto de caracteres morfológicos que distinguem as formas florais, associa-se um sistema de auto-incompatibilidade dialélico que previne fertilizações após autopolinizações ou polinizações entre anteras e estigmas situados em níveis diferentes (polinizações ilegítimas). Desta forma, o estabelecimento de sementes decorre, em geral, de polinizações entre formas com anteras e estigmas em níveis equivalentes (polinizações legítimas) (Ganders, 1979). Em espécies distilas, com dois verticilos de estames em cada forma floral, geralmente não há nenhuma diferenciação funcional entre eles (Ornduff, 1972). Apenas autopolinizações e polinizações entre flores da mesma forma floral são ilegítimas em populações com essa característica (Weller, 1976).

A reação de auto-incompatibilidade, no entanto, varia em diferentes *taxa* (Ganders, 1979). Em Oxalidaceae, as relações de incompatibilidade foram estudadas em *Biophytum sensitivum* (Mayura Devi, 1964), *Sarcotheca celebica* (Lack e Kevan, 1987), *Oxalis suksdorfii* (Ornduff, 1964), *O. priceae* (Mulcahy, 1964), *O. alpina* (Weller, 1976, 1981, 1986) e *O. squamata* (Marco e Arroyo, 1998). Em *Oxalis* seção *Corniculatae* (Ornduff, 1972), particularmente, quase toda estratégia evolutiva leva à ruptura da incompatibilidade

trimórfica e, em alguns casos, ao desenvolvimento da distília, semi-homostília e quase-homostília.

Em Connaraceae, as relações de incompatibilidade foram estudadas somente em *Byrsocarpus coccineus* (Baker, 1962), apesar da diversidade de tipos de heterostília descritos por Lemmens (1989). Segundo este autor, a heterostília em Connaraceae parece seguir duas tendências filogenéticas a partir da tristília: uma delas leva as espécies com cinco carpelos à homostília; a outra, atuando nas Connaraceae com gineceu unicarpelar, resulta na dioícia. Em ambas as vias, a distília representa um estágio intermediário.

Morfologia dos frutos

Os frutos de Connaraceae desenvolvem-se de gineceu unicarpelar ou apocárpico. Neste último caso, geralmente apenas um frutíolo é produzido. O pericarpo é seco ou mais ou menos carnoso, deiscente pela sutura ventral ou indeiscente em *Jollydora* e *Hemandradenia* (Jongkind, 1989). Externamente, os frutos são pubescentes a glabros. Em *Cnestis* e em muitas espécies de *Connarus*, o endocarpo é piloso. Neste último gênero, os tricomas podem ser glandulares, não-glandulares ou de ambos os tipos (Dickison, 1971; Corner, 1976; Forero, 1983; Jongkind, 1989; Forero e Costa, 2002). Segundo Jongkind (1989), em todas as espécies de *Connarus*, o desenvolvimento da semente é incipiente até a completa expansão do folículo. Um padrão similar de desenvolvimento foi observado em Leguminosae (Oliveira e Beltrati, 1993).

Informações sobre a anatomia dos frutos de Connaraceae restringem-se a algumas observações realizadas por Corner (1976), por ocasião do estudo das sementes de espécies dessa família.

Em Oxalidaceae, a estrutura do pericarpo de várias espécies de *Oxalis* foi descrita por Sauer (1933) e Estelita-Teixeira (1980b). O fruto de *Oxalis* é uma cápsula rimoso, a qual se caracteriza pela deiscência loculicida, sem a formação de valvas (Barroso *et al.*, 1999). Sua superfície pode ser glabra ou pilosa e várias espécies desenvolvem tricomas endocárpico (Lourteig, 1975, 1994, 2000; Fiaschi e Conceição, 2005). A anatomia do fruto de *Averrhoa*, classificado como um campomanesoídeo (Barroso *et al.*, 1999) foi analisada por Dave, Patel e Rupera (1975), Kumar (1975) e Rao e Kothagoda (1984).

Morfologia da semente

As sementes de Connaraceae derivam de óvulos hemítropos (Corner, 1976; Jongkind, 1989; Matthews e Endress, 2002), anátropos (Jongkind, 1989) ou quase ortótropos

(Matthews e Endress, 2002), bitegmentados e crassinucelados (Corner, 1976). Há dois óvulos colaterais por carpelo, mas na maioria das espécies somente um deles desenvolve-se em semente (Jongkind, 1989).

Uma característica comum a todas as Connaraceae é a suculência, pelos menos parcial, do tegumento (Jongkind, 1989). Esse tecido carnoso usualmente se desenvolve da rafe-calaza, estendendo-se como uma margem livre sobre parte da testa. Corner (1976) referiu-se a ele como um complexo arilo-sarcotesta calazal, considerando a base dessa excrescência de natureza sarcotestal e a sua porção livre, um arilo. Jongkind (1989) preferiu empregar o termo sarcotesta por entender que esse tecido é contínuo e derivado da testa. Esses pontos de vista refletem a controvérsia existente sobre a terminologia aplicada a apêndices carnosos de sementes, a qual foi revisada por Corner (1976), Kapil, Bor e Bouman (1980), entre outros. Em alguns gêneros, como *Jollydora*, *Hemandradenia* e *Manotes*, quase toda a testa torna-se carnosa.

Segundo Corner (1976), a semente de Connaraceae é uma das mais distintas entre dicotiledôneas. Suas principais características são a forma pré-rafeal, a qual se caracteriza por um grande distanciamento entre a micrópila e o hilo, a testa preta com paliçada exotestal firme mas não lignificada, o exotégmen fibroso, a presença de feixe vascular pré-rafeal, o arilo calazal, o embrião grande e o aroma semelhante ao de feijão exalado por tecidos triturados. O autor examinou a anatomia das sementes de dez espécies de Connaraceae, sendo este estudo a única referência sobre o assunto.

Jongkind (1989) destacou que a estrutura da semente com relação ao endosperma e cotilédones é muito variável. Em *Manotes* e algumas espécies de *Cnestis*, os cotilédones achatados, finos e pequenos estão envoltos por endosperma abundante, enquanto que as sementes exalbuminosas de *Agelaea*, *Connarus*, *Jollydora* e *Rourea* apresentam cotilédones plano-convexos. Combinações intermediárias ocorrem em *Burtia*, *Pseudoconnarus* e algumas espécies de *Cnestis*, que possuem cotilédones achatados, um tanto carnosos, embebidos em endosperma abundante, e em *Cnestidium*, *Ellipanthus*, *Hemandradenia* e *Vismianthus* com cotilédones plano-convexos e endosperma escasso.

De acordo com Corner (1976), as reservas das sementes de *Cnestis palala* e *Connarus grandis* consistem de óleos. Forero (1983) mencionou o acúmulo de taninos e óleos (*Rourea*) e proteínas e outras secreções características (*Connarus*) em sementes exalbuminosas. Na semente de *Pseudoconnarus*, o endosperma abundante continha óleos. Em *Cnestidium*, o endosperma, com espessura de duas camadas de células, e os cotilédones armazenaram amido.

As sementes das Oxalidaceae desenvolvem-se de óvulos anátropos, bitegumentados e tenuinucelados (Corner, 1976). A testa mucilagínosa é freqüentemente confundida com um arilo (Stevens, 2007). Em vários gêneros, podem ocorrer rumações nos tegumentos que podem atingir o endosperma (Corner, 1976; Boesewinkel, 1985).

Em *Oxalis* e *Averrhoa*, as rumações da semente são produzidas pela atividade mitótica de grupos de células da mesotesta; em *Biophytum*, são derivadas, exclusivamente, da expansão radial das células desse tecido (Boesewinkel, 1985; Werker, 1997).

Em *Biophytum* e *Oxalis*, ocorre um mecanismo incomum de dispersão das sementes, que envolve a ruptura brusca da testa e a ejeção da parte interna. A separação do tegumento externo é atribuída ao estiramento circunferencial da espessa membrana cuticular, durante o desenvolvimento da semente, e à turgescência elevada do parênquima mesotestal, resultante da degradação enzimática de amido pouco antes da maturação da semente. A tensão gerada por esses processos causa o rompimento das paredes das células com cristais, que constituem a endotesta, e a liberação balística da semente, revestida pelo tégmen e, parcialmente, pela endotesta (Corner, 1976; Werker, 1997). Com exceção de *Biophytum*, os demais gêneros de Oxalidaceae apresentam exotégmen fibroso. Corner (1976) sugeriu que Oxalidaceae relaciona-se filogeneticamente a outras famílias portadoras desse caráter, entre as quais Connaraceae.

O endosperma é formado por divisões nucleares livres, mas algumas espécies possuem sementes exalbuminosas (Corner, 1976). Salter (1952) mencionou que várias espécies de *Oxalis* da África do Sul não apresentam endosperma na semente madura. Barroso *et al.* (1999) classificaram o embrião de *Oxalis* como espatulado. Corner (1976) e Boesewinkel (1985) relataram que as reservas da semente consistem de óleos. Jones e Earle (1966) quantificaram o conteúdo de amido, óleos e proteínas das sementes de *Oxalis europaea*. Como resultado obteve-se 0; 47,6 e 21,9% dessas substâncias, respectivamente.

CAPÍTULO I¹

¹ Trabalho elaborado segundo as normas da Revista de Biologia Tropical

Tricomas glandulares em *Connarus suberosus* (Connaraceae): distribuição, organização estrutural e prováveis funções²

JOÃO DONIZETE DENARDI³, DENISE MARIA TROMBERT OLIVEIRA⁴ e ELDER ANTONIO SOUSA PAIVA^{4,5}

Título resumido: Tricomas glandulares em *Connarus suberosus*

². Parte da tese de doutorado do primeiro autor, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu.

³. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Coxim, Rua Pereira Gomes, 355, Vila Santa Maria, 79.400-000, Coxim, MS, Brasil.

⁴. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Avenida Antonio Carlos, 6627, Pampulha, Caixa Postal 486, 31.270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.

⁵. Autor para correspondência: epaiva@icb.ufmg.br

Resumo

Connarus suberosus Planch., Connaraceae típica de cerrado, apresenta inflorescências e ramos vegetativos jovens densamente revestidos por tricomas dendróides. Como parte do indumento desta espécie, relata-se, neste estudo, a ocorrência de tricomas glandulares (TGs), os quais foram analisados quanto à localização, origem e estrutura, por meio de técnicas usuais de microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e de transmissão. Os TGs ocorrem na face abaxial de folíolos, bractéolas e sépalas, assim como na superfície de pecíolos, ráquis foliares, caules, eixos de inflorescências e frutos, durante os estádios juvenis destes órgãos. Os TGs consistem de pedúnculo multicelular, unisseriado, cujas células se mostram fenólicas, e de uma porção glandular multicelular que, na fase secretora, apresenta acúmulo de compostos pécnicos, amido e gotas lipídicas. O acúmulo de óleo na forma de gotas dispersas no citosol é expressivo, ocupando grande parte do volume celular. As células secretoras possuem paredes delgadas, citoplasma denso e núcleo volumoso com nucléolo evidente. No citoplasma destas células predominam mitocôndrias, plastídios e dictiossomos. Na fase secretora, observa-se hidrólise do amido presente nos plastídios, redução na densidade do estroma plastidial e fusão de plastídios com vacúolos. Observam-se, ainda, indícios da conversão de plastídios em vacúolos. Testes histoquímicos indicam presença de secreção de natureza pécnica, tanto no citosol quanto no espaço subcuticular, entretanto, em pequenas quantidades. Nos estádios finais de atividade dos TGs, os quais são caducos, observou-se escurecimento protoplasmático em algumas células secretoras, o que sugere a ocorrência de morte celular programada. Em *C. suberosus*, a ocorrência de TGs nas superfícies expostas de órgãos em desenvolvimento, associada à natureza química dos produtos de secreção e reserva, sugere que estas estruturas possam atuar como corpos de alimentação. Estudos ecológicos são necessários para esclarecer o papel destes tricomas nestas supostas interações.

Palavras-chave: Cerrado, Connaraceae, corpos de alimentação, secreção, tricoma glandular, ultra-estrutura celular

Introdução

Os tricomas, projeções de natureza exclusivamente epidérmica, apresentam uma enorme diversidade morfológica tendo, assim, grande valor taxonômico (ver Solereder, 1908). Segundo Werker (2000), os estudos de ontogênese são importantes para a correta denominação destas estruturas, sobretudo pela similaridade morfológica observada entre tricomas e emergências.

Diversos autores separam os tricomas em dois grandes grupos: glandulares e não glandulares. Para os tricomas não glandulares ou tectores, a distinção entre diferentes tipos é feita, sobretudo, com base em caracteres morfológicos. Para os tricomas glandulares, a classificação leva em consideração, dentre outros aspectos, a composição química da secreção, seu modo de produção, a posição do tricoma no corpo vegetal e aspectos estruturais e funcionais (Werker 2000). Tricomas glandulares estão envolvidos na síntese de diversos compostos, tais como óleos, açúcares, sais, enzimas digestivas e outros, desempenhando importantes papéis na interação planta-ambiente (Fahn 1979).

Os tricomas, tanto na forma isolada quanto em agrupamentos, podem constituir estruturas secretoras diversas, como nectários, elaióforos e glândulas de sal (Fahn 1979). Outras estruturas envolvidas nas interações planta-ambiente, tais como coléteres (Renobales *et al.* 2001, Paiva e Machado 2006a) e corpos de alimentação ou similares (Rickson e Risch 1984) são, em algumas espécies, caracterizados como tricomas.

Estruturas secretoras podem ocupar várias posições nas diferentes partes do corpo do vegetal e podem ocorrer em todos os seus órgãos, em alguns destes ou, então, se restringir a apenas um órgão (Solereder 1908). Por vezes, diferentes estruturas secretoras estão presentes em diferentes partes de uma mesma planta (Fahn 1979, Metcalfe e Chalk 1979) e são de grande valor taxonômico, como ocorre com os tricomas glandulares (Solereder 1908).

No Brasil, considerado o centro de diversificação de Connaraceae nos Neotrópicos, há cerca de 64 espécies da família, sendo 30 pertencentes a *Connarus* (Forero 1983, Forero e Costa 2002). Segundo Ratter *et al.* (2001), *Connarus suberosus* Planch. é uma das espécies mais freqüentes da flora lenhosa de cerrado senso lato, ocorrendo em 75% dos levantamentos florísticos que os autores realizaram em dez estados brasileiros. Forero (1983) relatou que *C. suberosus* apresenta caracteres comumente encontrados em plantas de cerrado, como a casca espessa e suberosa, ramos tortuosos e pilosidade densa. De acordo com o autor, ramos vegetativos jovens, inflorescências e frutos em estádios iniciais de desenvolvimento mostram indumento ferrugíneo-tomentoso, denso, e tricomas glandulares que podem estar presentes em pétalas, estames e estilete.

No presente estudo, são descritos a localização, desenvolvimento, estrutura e aspectos ultra-estruturais e histoquímicos dos tricomas glandulares em *C. suberosus*, buscando dados que possam auxiliar na compreensão da função destas estruturas.

Material e métodos

Coleta de material para estudos morfológicos

As coletas foram realizadas em indivíduos adultos de *Connarus suberosus* Planch. ocorrentes na região de Botucatu, São Paulo (22° 53' 11,4"S, 48° 26' 07,8"W), em diferentes fases fenológicas. Foram coletados ápices vegetativos e reprodutivos, folhas e frutos em diferentes etapas de desenvolvimento, botões florais e flores em antese. As amostras foram estudadas ao microscópio estereoscópico para caracterização dos padrões de distribuição e ocorrência.

Microscopia de luz

Para ontogênese e caracterização anatômica, foram coletadas amostras de ápices caulinares e folhas em diferentes fases de desenvolvimento. O material foi fixado em solução de Karnovsky (Karnovsky 1965) por 24 horas, transferido para álcool etílico 70% (Jensen 1962), desidratado em série etílica (Johansen 1940) e submetido a pré-infiltração e infiltração em metacrilato (Leica®), segundo métodos usuais. Cortes transversais e longitudinais (5 µm) foram obtidos em micrótomo rotativo, montados em lâmina e corados com azul de toluidina 0,05% pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1964).

Testes histoquímicos

Foram utilizados material fixado e a fresco. Para a caracterização histoquímica, foram empregados os seguintes testes, com os respectivos controles: Sudan black B para lipídios em geral (Pearse 1980); lugol para identificação de amido (Johansen 1940); solução aquosa de vermelho de rutênio a 0,02% para detecção de substâncias pécticas (Jensen 1962).

Microscopia eletrônica de transmissão

Amostras foram fixadas em mistura de Karnovsky (Karnovsky 1965) por 24 horas, pós-fixadas em tetróxido de ósmio (1%, tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2) e processadas segundo métodos usuais (Roland 1978). As secções ultra-finas foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo e examinadas em microscópio de transmissão Philips CM 100 a 60 KV.

Microscopia eletrônica de varredura

Amostras foram fixadas em glutaraldeído 2,5% (tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2), desidratadas em série etílica, submetidas à desidratação em ponto crítico com CO₂ e metalizadas com camada de 10nm de ouro (Robards 1978). As amostras foram examinadas em microscópio eletrônico de varredura Quanta 200 (Fei Company), sendo as imagens obtidas digitalmente.

Resultados

Distribuição e ontogênese

As folhas de *Connarus suberosus* são compostas e, quando jovens, apresentam folíolos conduplicados. Os tricomas glandulares (TGs) ocorrem na face abaxial de folíolos, bractéolas e sépalas, assim como na superfície de caules, eixos de inflorescências e frutos, durante os estádios juvenis destes órgãos. Folhas jovens apresentam numerosos TGs na face abaxial de folíolos, especialmente na região ao longo da nervura mediana; essas estruturas secretoras também ocorrem, embora em menor número, na superfície do pecíolo e da ráquis, principalmente na face abaxial. Em caules jovens e eixos de inflorescências, a presença de TGs parece ser ocasional. Frequentemente, os TGs encontram-se ocultos em meio a tricomas dendróides (fig. 1A-C), que conferem ao indumento o aspecto ferrugíneo-tomentoso.

O desenvolvimento do tricoma glandular inicia-se com a expansão distal de uma célula epidérmica, produzindo uma saliência globosa na superfície do órgão. Como resultado da divisão periclinal da célula inicial, delimita-se a célula basal do TG e uma célula apical (fig. 2A). A célula basal, de formato afunilado, completa seu processo de diferenciação nesta fase. Da divisão periclinal da célula apical, forma-se, no sentido proximal, a célula inicial do pedúnculo, mantendo-se no ápice a inicial da porção secretora (fig. 2B). Da célula inicial do pedúnculo formam-se, por sucessivas divisões periclinais, o pedúnculo multicelular e unisseriado (fig. 2C). Neste estágio, a célula inicial da porção secretora permanece em interfase, reiniciando as divisões após a formação de pedúnculo. Desta célula, por divisões em planos diversos, resulta uma porção apical, secretora, multicelular (fig. 2D-F).

Aspectos estruturais e histoquímicos

As células do pedúnculo são curtas, de formato cilíndrico (fig. 2D-F); a parede anticlinal é cuticulada e impregnada por substâncias de natureza lipídica. Nos TGs maduros, as células do pedúnculo são vacuoladas, ficando o restante do citoplasma restrito a uma estreita faixa comprimida junto à parede celular. Não há, nestas células, acúmulo de

compostos de reserva e o vacúolo encerra grande quantidade de compostos de natureza fenólica.

As células secretoras estão dispostas de modo compacto e apresentam paredes delgadas, citoplasma denso e núcleo volumoso com nucléolo evidente (fig. 2E-F). Durante a fase secretora, observou-se, no citoplasma destas células, a presença de compostos pécnicos, amido e gotas lipídicas. Nas etapas finais de desenvolvimento dos TGs, observou-se aumento do vacuoma e escurecimento protoplasmático de algumas células secretoras, o qual evolui para as células vizinhas, culminando no encerramento da atividade secretora e na morte dos TGs, os quais são caducos.

O acúmulo de óleo nas células secretoras é expressivo em TGs maduros, ocorrendo na forma de gotas dispersas no citosol e ocupando grande parte do volume celular. Testes histoquímicos indicam presença de secreção de natureza pécica, tanto no citosol quanto no espaço subcuticular, entretanto, em pequenas quantidades. Nas observações em campo e laboratório, não foram encontrados sinais de extravasamento da secreção.

Ultra-estrutura e secreção

As células secretoras apresentam-se justapostas, com citoplasma denso, núcleo volumoso e nucléolo conspícuo (fig. 3A-B). No citoplasma de células secretoras ativas, observam-se mitocôndrias, dictiossomos, plastídios e ribossomos, tanto livres quanto associados a segmentos de retículo endoplasmático. As mitocôndrias possuem cristas bem desenvolvidas e, algumas vezes, encontram-se justapostas a plastídios (fig. 3C-D). O retículo endoplasmático aparece em estreita associação com os plastídios e, também, localizado muito próximo à membrana plasmática (fig. 3C).

Os plastídios, de formas variadas, apresentam sistema de membranas inconspícuo, estroma elétron-lucente e grãos de amido. Nos TGs maduros há evidências de hidrólise do amido, quando o estroma torna-se mais elétron-denso e floculado (fig. 3C). A ocorrência de fusões de plastídios com vacúolos foi observada em células secretoras (fig. 3E).

Observam-se indícios de ruptura da membrana interna dos plastídios, associada à redução da densidade do estroma e hidrólise dos grãos de amido. Os vacúolos, de tamanho similar ao dos plastídios, apresentam conteúdo amorfo que se assemelha ao estroma plastidial (fig. 3C).

Os dictiossomos constituem-se de quatro a sete cisternas, cujas porções periféricas liberam vesículas pequenas, pouco densas, que se dispersam na matriz citoplasmática. Outros aspectos ultra-estruturais que se destacam referem-se à presença de corpos lipídicos no

citoplasma, ao vacuoma pouco volumoso, ao espaço periplasmático bem desenvolvido e ao desprendimento de trechos da cutícula, originando pequenos espaços subcuticulares (fig. 3B). Ainda nas células secretoras, observa-se a presença de corpos vesiculares e indícios de secreção no espaço periplasmático.

Em muitos TGs, ao final do estágio secretor, as células exibem citoplasma denso e escuro, aumento da quantidade de retículo endoplasmático rugoso e dictiossomos ativos (fig. 3F-G). Nestas células os vacúolos apresentam inclusões membranares.

Discussão

Em *Connarus suberosus*, o indumento denso formado pelos tricomas dendróides parece constituir uma vantagem adaptativa, exercendo proteção contra a dessecação, função normalmente atribuída a este tipo de indumento (Fahn e Cutler 1992). Para órgãos em desenvolvimento, ainda não fotossintetizantes, o transporte de água pelo xilema não é eficiente (Nobel *et al.* 1994), o que os torna particularmente vulneráveis à dessecação. No caso de *C. suberosus*, esta vulnerabilidade é ainda mais relevante, uma vez que a espécie é típica de ambientes de cerrado, onde o clima é sazonal, com períodos de baixa umidade relativa, temperatura elevada e alta luminosidade (Franco 2002), o que parece favorecer a seleção de defesas estruturais contra a dessecação.

Estudos prévios sobre Connaraceae demonstraram a ocorrência de tricomas glandulares (TGs) em *Pseudoconnarus* (Schellenberg 1938), *Connarus*, *Rourea* (Forero 1983, Jongkind 1989), *Manotes* (Dickison 1973, Jongkind 1989), *Cnestis* e *Jollydora* (Jongkind 1989). Apesar destes relatos, pouco se sabe a respeito da organização estrutural destes tricomas, sendo que aspectos ultra-estruturais, a biologia da secreção, composição química da secreção e possíveis envolvimento em interações planta-ambiente são absolutamente desconhecidos.

A presença de compostos de natureza lipídica na parede anticlinal das células do pedúnculo, como observado nos TGs de *C. suberosus*, é característica de tricomas envolvidos em processos secretores (ver Fahn 1979); além de atuar impedindo o refluxo de secreção, indica que os precursores da secreção não chegam até as células secretoras pela rota apoplástica. Considerando-se os aspectos estruturais e histoquímicos das células do pedúnculo e a hidrólise do amido observada nas células secretoras, é possível inferir que o amido constitui uma fonte de energia para a secreção, tal como observado em outras estruturas

secretoras, onde o amido é a forma predominante de reserva energética (Fahn 1979, Paiva & Machado 2008).

A grande quantidade de mitocôndrias, como se observou no TG de *C. suberosus*, é uma característica marcante de células secretoras (Fahn 1988), estando relacionada a atividade metabólica intensa (Horner e Lersten 1968, Mohan e Inamdar 1986). Segundo Paiva e Machado (2008), a justaposição de mitocôndrias e amiloplastos pode evidenciar o requerimento de energia durante a hidrólise do amido. Na espécie aqui estudada, este processo parece fornecer precursores para a síntese de polissacarídeos, que ocorre nos dictiossomas (Andreeva *et al.* 1998). As vesículas que se desprendem dessas organelas, possivelmente, realizam o transporte dos produtos de secreção até a membrana plasmática; no entanto, os espaços periplasmático e subcuticular não apresentaram acúmulo desses materiais.

A observação da fusão de plastídios com vacúolos, verificada nas células secretoras dos TGs, e a similaridade entre o conteúdo vacuolar e o estroma plastidial, sugere a ocorrência de conversão de plastídios em vacúolos, como reportado para outros tipos de células secretoras (Paiva e Machado 2008). Pode-se inferir que este processo culmina na ampliação do vacuoma, outro fato marcante em diversos tipos de células secretoras (Fahn 1979). Deve-se ressaltar que esta conversão de plastídios é observada nos estágios finais de atividade celular e parece constituir-se num dos primeiros sinais de morte celular programada (MCP) que verificamos ocorrer nestas células.

Também o escurecimento protoplasmático, observado em algumas células secretoras dos TGs, parece constituir evidência de MCP, conforme descreveram Mohan e Inamdar (1986), Zer e Fahn (1992) e Paiva e Machado (2006a).

A morte celular observada nas células secretoras do TG não pode ser interpretada como apoptose, uma vez que características marcantes deste processo tais como vesiculações na carioteca e presença de corpos apoptóticos não foram observadas. Por outro lado, segundo Greenberg (1996), muitas das características da apoptose estão ausentes nas células vegetais que sofrem MCP. A co-existência de células em diferentes estádios de morte celular com células íntegras e de aspecto saudável reduz as possibilidades destas observações serem decorrentes de artefatos de técnica ou problemas de fixação e demonstra ser um processo normal no desenvolvimento destes TGs. A ocorrência de MCP em tricomas foi reportada por Paiva e Machado (2006a) em coléteres de *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae).

Os folíolos jovens de *C. suberosus*, ainda não expandidos, apresentam limbo conduplicado, deixando apenas a face abaxial exposta, o que parece explicar o padrão de distribuição de tricomas glandulares. Similarmente, bractéolas e sépalas, que constituem o

invólucro protetor de botões florais em diferentes estádios da ontogênese, apresentam a face abaxial exposta. Assim, a localização dos TGs nesta espécie parece corroborar a interpretação da função de proteção de órgãos em desenvolvimento (Mueller 1985, Thomas 1991), visto que ocorrem em superfícies expostas ao ambiente, as quais são revestidas também por tricomas tectores dendróides. Algumas das funções atribuídas a tricomas tectores e glandulares relacionam-se à regulação da temperatura, ao aumento da reflexão luminosa e à redução da transpiração (Wagner *et al.* 2004). O fato destes TGs ocorrerem apenas na fase juvenil dos órgãos, os tornam similares a coléteres, de acordo com os conceitos adotados por Thomas (1991).

Segundo Thomas (1991), o termo coléter é empregado para designar estruturas secretoras de origem mista, ou seja, formadas com a participação tanto da protoderme quanto do meristema fundamental. Renobales *et al.* (2001) consideraram que os tricomas de *Gentiana* podem ser interpretados funcionalmente como coléteres, pois embora se desenvolvam exclusivamente da camada dérmica, sua secreção é mucilaginoso. Há, na literatura, relatos da ocorrência de coléteres de origem exclusivamente protodérmica (Renobales *et al.* 2001, Paiva e Machado 2006a).

Os TGs presentes nos órgãos aéreos de *C. suberosus*, embora mostrem grande similaridade estrutural com coléteres e apresentem compostos pécticos e lipídicos comumente reportados nestas estruturas secretoras (Mohan e Inamdar 1986, Thomas e Dave 1989, Appezzato-da-Glória e Estelita 2000, Klein *et al.* 2004), não reúnem todos os atributos para serem considerados com tal, uma vez que não foi observado o extravasamento de secreção. A liberação, pelo coléter, de secreção péctica ou resinosa é fundamental para que ocorra a proteção contra dessecação e a lubrificação de órgãos em desenvolvimento. Fica, ainda, a possibilidade de se tratar de estrutura com perda de função ou, do ponto de vista oposto, de estrutura com processo evolutivo em curso; tendo por base esses aspectos, os TGs de *C. suberosus* poderiam ser considerados coléteres não funcionais. Estudos adicionais e prospecção de estruturas similares em Connaraceae são importantes para ajudar a elucidar estas hipóteses.

Em *C. suberosus*, a ocorrência dos TGs restrita à fase juvenil dos órgãos, associada à quantidade e natureza química dos compostos de reserva, constitui evidência de que estas estruturas atuam na proteção dos órgãos em desenvolvimento, função atribuída a corpos de alimentação em diversas espécies vegetais (O'Dowd 1980). A presença de reserva predominantemente lipídica é reportada para corpos de alimentação (O'Dowd 1980), embora

outros compostos ricos em energia ou proteína sejam oferecidos nestas estruturas (O'Dowd 1982).

A quantidade de óleo acumulado nos TGs de *C. suberosus* faz destas estruturas recursos alimentares interessantes. Assim, é possível que estes TGs atuem como mediadores de interações entre a planta e formigas, as quais exercem proteção contra herbivoria, como observado em diversas espécies vegetais portadoras de corpos de alimentação (Rickson 1980, Heil *et al.* 1998). Sabe-se que corpos de alimentação atuam na manutenção de relação mutualística entre planta e formigas, as quais beneficiam a planta por oferecerem proteção contra herbívoros (O'Dowd 1980, 1982).

A restrição temporal de oferta dos TGs de *C. suberosus*, os quais são limitados à fase juvenil dos órgãos, é característica de outras estruturas envolvidas em interações com formigas que oferecem proteção, como em nectários extraflorais (Paiva e Machado 2006b), além de corpos de alimentação. No caso dos nectários extraflorais, os órgãos jovens são protegidos por formigas nos estágios de maior vulnerabilidade à herbivoria, quando as defesas químicas e estruturais ainda não estão plenamente desenvolvidas (Paiva e Machado 2006b).

Diante destas considerações, observações em campo e estudos das interações planta-ambiente, bem como a análise química dos compostos de reserva são imprescindíveis para elucidar o possível envolvimento dos TGs, presentes em *C. suberosus*, como recompensa alimentar.

Agradecimentos – A Luciano C. Milhomens, por realizar a identificação da espécie, e à FAPESP (Programa BIOTA, proc. nº 00/12469-3), pelo apoio financeiro. João D. Denardi agradece à CAPES pela concessão da bolsa PICDT e D.M.T. Oliveira ao CNPq, pela bolsa de produtividade em pesquisa.

Literatura citada

- Andreeva, A.V., M.A. Kutuzov, D.E. Evans & C.R. Hawes. 1998. The structure and function of Golgi apparatus: a hundred years of questions. *Journal of Experimental Botany* 49: 1281-1291.
- Appezato-da-Gloria, B. & M.E.M. Estelita. 2000. Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 23:113-120.

- Dickison, W.C. 1973. Anatomical studies in the Connaraceae. III. Leaf anatomy. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society* 88: 120-136.
- Fahn, A. 1979. *Secretory Tissues in Plants*. Academic Press, New York, 302 p.
- Fahn, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* 108: 229-257.
- Fahn, A. & D.F. Cutler. 1992. *Xerophytes*. Gebrüder Borntraeger, Berlin. 176 p.
- Forero, E. 1983. Connaraceae. *Flora Neotropica Monograph* 36: 1-208.
- Forero, E. & C.B. Costa. 2002. Connaraceae, p. 85-92. *In*: M.G.L. Wanderley, G.J. Shepherd, A.M. Giulietti (Eds.). *Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo*. V. 2. FAPESP/HUCITEC, São Paulo, Brasil.
- Franco, A.C. 2002. Ecophysiology of woody plants, p. 178-197. *In*: P.S. Oliveira e R.J. Marquis (Eds.). *The cerrados of Brazil: ecology and nature history of a neotropical savanna*. Columbia University Press, New York.
- Greenberg, J.T. 1996. Programmed cell death: A way of life for plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 12094-12097.
- Heil, M., B. Fiala, W. Kaiser & K.E. Linsenmair. 1998. Chemical contents of *Macaranga* food bodies: adaptations to their role in ant attraction and nutrition. *Functional Ecology* 12: 117-122.
- Horner, H.T.J. & N.R. Lersten. 1968. Development, structure and function of secretory trichomes in *Psychotria bacteriophila* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 55: 1089-1099.
- Jensen, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W. H. Freeman, San Francisco. 408 p.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York. 523 p.
- Jongkind, C.C.H. 1989. Indumentum, p. 19-21. *In*: F. J. Breteler (Ed.). *The Connaraceae: a taxonomic study with emphasis on Africa*. Agricultural University Wageningen Papers, Wageningen, Netherlands.
- Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137A-138A.
- Klein, D.E., V.M. Gomes, S.J. Silva-Neto & M. Da Cunha. 2004. The structure of colleters in several species of *Simira* (Rubiaceae). *Annals of Botany* 94: 733-740.
- Metcalf, C.R. & L. Chalk. 1979. *Anatomy of the dicotyledons: Systematic anatomy of leaf and stem, with a brief history of the subject*. V. 1. Clarendon Press, Oxford. 294 p.
- Mohan, J.S.S. & J.A. Inamdar. 1986. Ultrastructure and secretion of extrafloral nectaries of *Plumeria rubra* L. *Annals of Botany* 57: 389-401.

- Mueller, R.J. 1985. Determinate branch development in *Alstonia scholaris* (Apocynaceae) - the plagiotropic module. *American Journal of Botany* 72: 1435-1444.
- Nobel, P.S., J.L. Andrade, N. Wang & G.B. North. 1994. Water potentials for developing cladodes and fruits of a succulent plant including xylem-versus-phloem implications for water movements. *Journal of Experimental Botany* 45: 1801-1807.
- O'Brien, T.P., N. Feder & M.E. McCully. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- O'Dowd, D.J. 1980. Pearl bodies of a neotropical tree, *Ochroma pyramidale*: ecological implications. *American Journal of Botany* 67: 543-549.
- O'Dowd, D.J. 1982. Pearl bodies as ant food: an ecological role of some leaf emergences of tropical plants. *Biotropica* 14: 40-49.
- Paiva, E.A.S. & S.R. Machado. 2006a. Ontogenesis, structure and ultrastructure of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae-Caesalpinioideae) colleters. *Revista de Biologia Tropical* 54: 943-950.
- Paiva, E.A.S. & S.R. Machado. 2006b. Ontogênese, anatomia e ultra-estrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Acta Botanica Brasilica* 20: 471-482.
- Paiva, E.A.S. & S.R. Machado. 2008. The floral nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae): structural aspects during floral development. *Annals of Botany* 101: 125-133.
- Pearse, A.G.E. 1980. *Histochemistry theoretical and applied*. V. 2. Longman Press, London.
- Ratter, J.A., S. Bridgewater & J.F. Ribeiro. 2001. Espécies lenhosas da fitofisionomia cerrado sentido amplo em 170 localidades do bioma cerrado. *Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer* 7: 7-112.
- Renobales, G., E. De Diego, B. Urcelay & A. López-Quintana. 2001. Secretory hairs in *Gentiana* and allied genera (Gentianaceae, subtribe Gentianinae) from the Iberian Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society* 136: 119-129.
- Rickson, F.R. 1980. Developmental anatomy and ultrastructure of the ant-food bodies (Beccarian bodies) of *Macaranga triloba* and *M. hypoleuca* (Euphorbiaceae). *American Journal of Botany* 67: 285-292.
- Rickson, F.R. & S.J. Risch. 1984. Anatomical and ultrastructural aspects of the ant-food cell of *Piper cenocladum* C.DC. (Piperaceae). *American Journal of Botany* 67: 543-549.

- Robards, A.W. 1978. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells, p. 343-403. *In: Electron Microscopy and Cytochemistry of Plant Cells*, J.L. Hall (ed.). New York: Elsevier.
- Roland, J.C. 1978. General preparations and staining of thin sections, p. 1-62. *In: Electron Microscopy and Cytochemistry of Plant Cells*, J.L. Hall (ed.). New York: Elsevier.
- Schellenberg, G. 1938. Connaraceae, p. 1-326. *In: A. Engler (Ed.). Das Pflanzenreich*, IV, 127. Engelmann, Leipzig.
- Solereder, H. 1908. Systematic anatomy of Dicotyledons. Clarendon Press, Oxford. 1182 p.
- Thomas, V. 1991. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Annals of Botany* 68: 287-305.
- Thomas, V. & Y. Dave. 1989. Histochemistry and senescence of colleters of *Alamanda cathartica* (Apocynaceae). *Annals of Botany* 64: 201-203.
- Wagner, G.J., E. Wang & R.W. Shepherd. 2004. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. *Annals of Botany* 93: 3-11.
- Werker, E. 2000. Trichome diversity and development, p. 1-35 *In: D.L. Hallahan and J.C. Gray (eds). Advances in Botanical Research: plant trichomes*. V. 31. Academic Press, San Diego, CA.
- Zer, H. & A. Fahn. 1992. Floral nectaries of *Rosmarinus officinalis* L. structure, ultrastructure and nectar secretion. *Annals of Botany* 70: 391-397.

Ilustrações

Figura 1. Limbo de *Connarus suberosus* observado ao microscópio eletrônico de varredura, destacando tricomas glandulares (TGs). **A.** Face abaxial do limbo foliolar, mostrando TGs (seta) em meio a tricomas tectores dendróides. **B.** Detalhe de TG jovem; notar aspecto laxo da cutícula, sugerindo formação de espaços subcuticulares. **C.** TG maduro, com porção secretora em forma de clava.

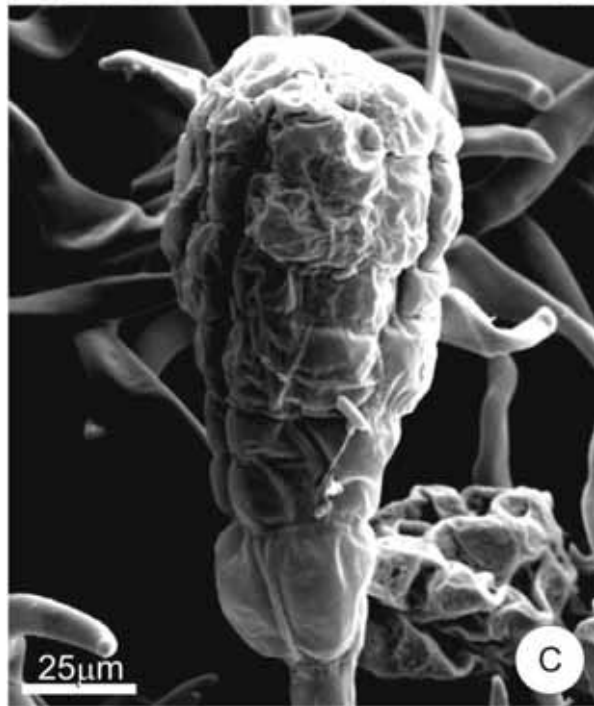
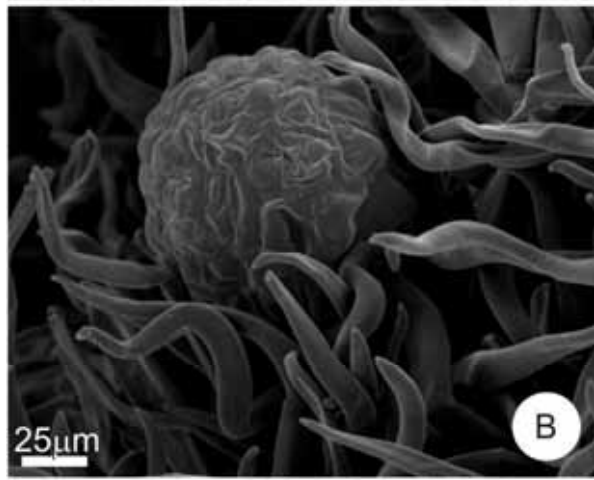
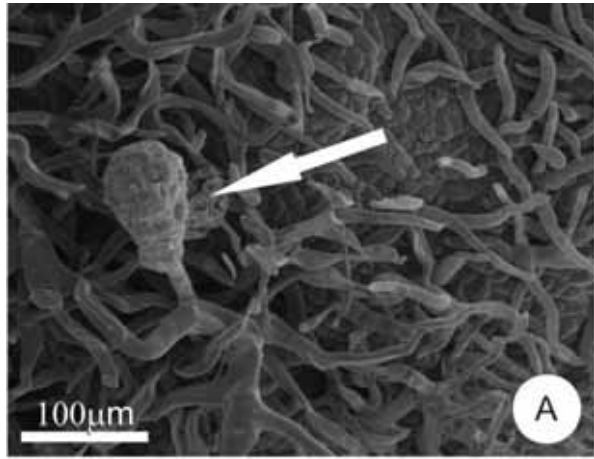


Figura 2. Desenvolvimento e estrutura dos tricomas glandulares (TGs) em *Connarus suberosus*. **A.** Estágio inicial de desenvolvimento, mostrando célula basal vacuolada e célula apical densamente citoplasmática (seta). **B.** Primeira divisão da célula apical, dando origem à célula inicial do pedúnculo e célula inicial da porção secretora (seta). **C.** Formação do pedúnculo; notar célula apical única, sem indícios de divisão. **D-E.** Estágio de divisões para formação da porção secretora. **F.** TG maduro, com células secretoras distintas daquelas do pedúnculo. (ca – célula apical, pe – pedúnculo).

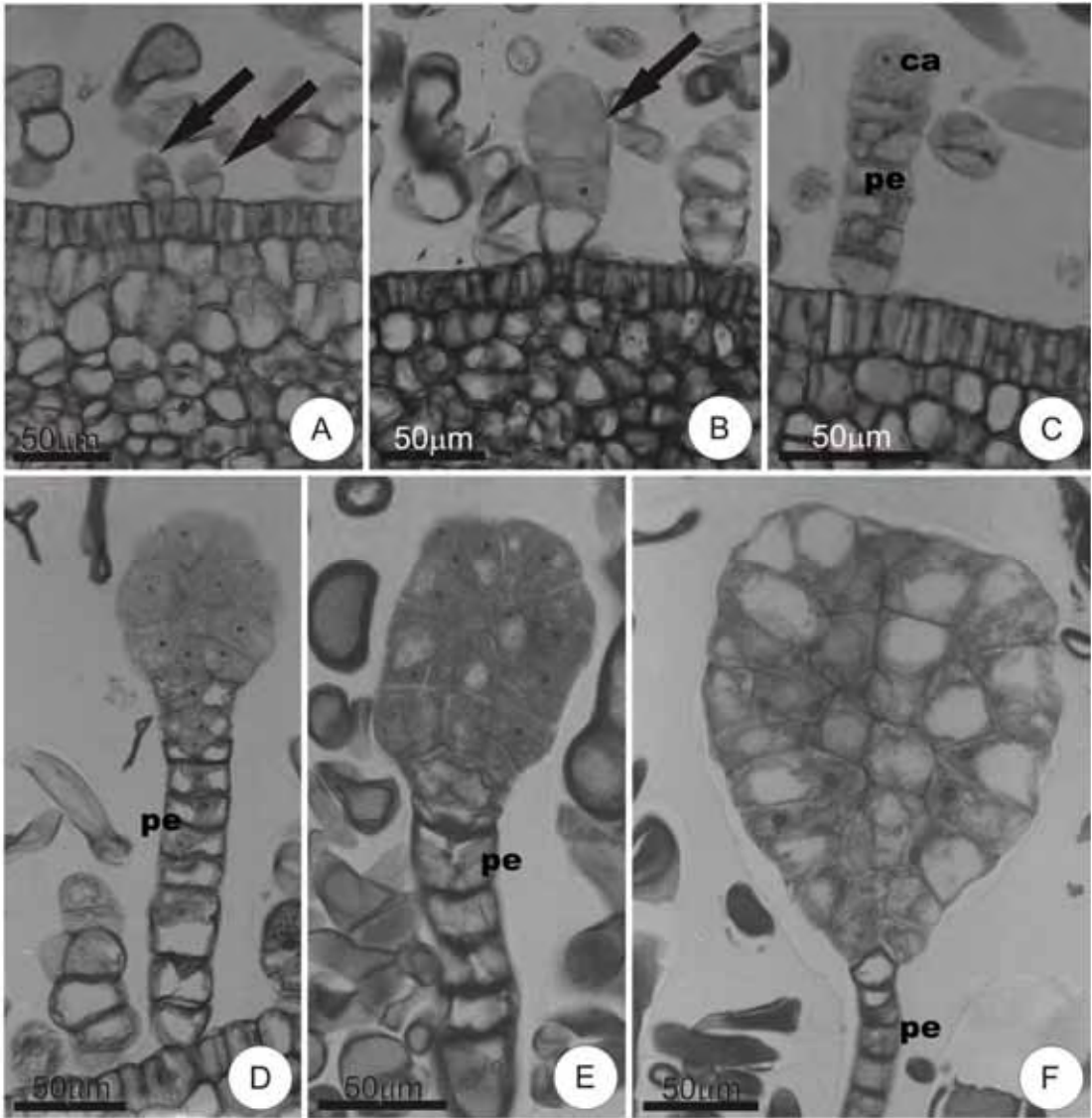
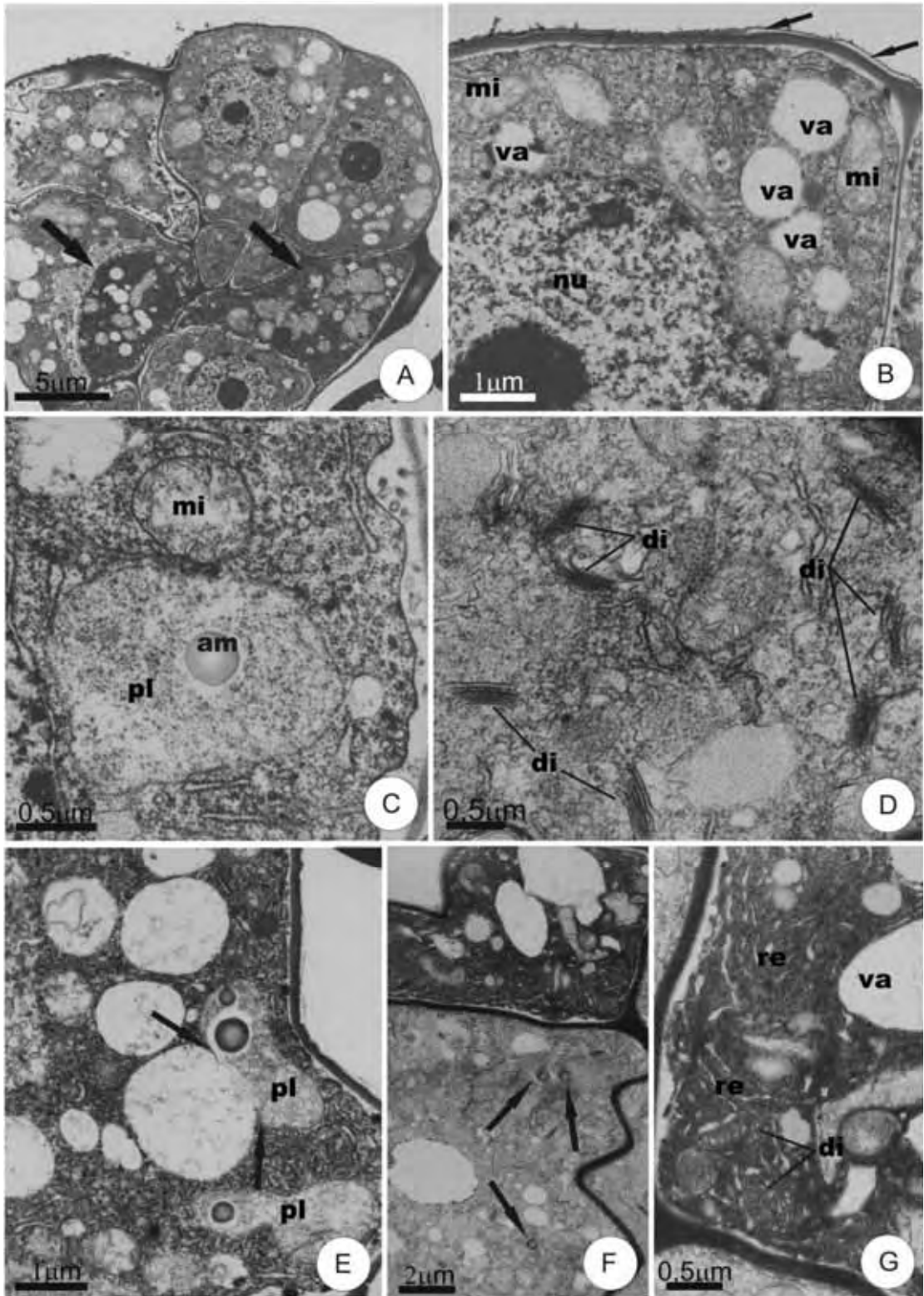


Figura 3. Organização ultra-estrutural das células secretoras dos tricomas glandulares (TGs) de *Conarus suberosus*. **A.** Aspecto geral da porção secretora do TG; notar células de citoplasma denso e núcleo volumoso (setas indicam células com escurecimento de protoplasto, ao lado de outras sem esta característica). **B.** Detalhe de célula periférica; notar a presença de cutícula e formação de espaço subcuticular (setas). **C.** Detalhe do citoplasma, mostrando plastídio com resíduo de grão de amido; neste estágio, a membrana interna mostra sinais de descontinuidade. **D.** Região citoplasmática, mostrando elevado número de dictiossomos. **E.** Detalhe de célula, mostrando fusão de plastídio com vacúolo (setas). **F-G.** Células com protoplasto escurecido, ao lado de células sem esta característica; em **F**, as setas indicam grãos de amido, associados a plastídios indistintos. (am – amido; di – dictiossomo; mi – mitocôndria; nu – núcleo; pl – plastídio; re – retículo endoplasmático; va – vacúolo).



CAPÍTULO II¹

¹ Trabalho elaborado segundo as normas de Plant Systematics and Evolution

Existem variedades de *Connarus suberosus*? Evidências morfoanatômicas da heterostilia e dioícia²

JOÃO DONIZETE DENARDI³, DENISE MARIA TROMBERT OLIVEIRA^{4,5} e SHEILA ZAMBELLO DE PINHO⁶

-
- ². Parte da tese de doutorado do primeiro autor, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu.
- ³. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Coxim, Rua Pereira Gomes, 355, Vila Santa Maria, 79.400-000, Coxim, MS, Brasil.
- ⁴. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Avenida Antonio Carlos, 6627, Pampulha, Caixa Postal 486, 31.270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.
- ⁵. Autor para correspondência: dmtoliveira@icb.ufmg.br
- ⁶. Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, Instituto de Biociências, Departamento de Bioestatística, Distrito de Rubião Jr., s/n, Caixa Postal 510, 18.618-000, Botucatu, SP, Brasil.

Resumo

Connarus suberosus Planch. é uma espécie típica do cerrado, cuja morfologia floral tem propiciado diferentes interpretações taxonômicas. Desta forma, investigou-se a morfoanatomia floral, visando, principalmente, a analisar a variabilidade estrutural em função dos tratamentos taxonômicos conferidos à espécie e identificar tendências morfológicas associadas à heterostilia e à dioícia. Do ponto de vista estrutural, *C. suberosus* possui heterostilia dimórfica, caracterizada pelas formas brevi- e longistila, as quais se mostraram funcionalmente masculina e feminina, respectivamente. Alguns caracteres morfológicos peculiares a cada forma floral, provavelmente estão associados à evolução da dioícia, como dimensões de sépalas e pétalas e distribuição de tricomas glandulares, que possivelmente atuam na atração de polinizadores. Nesta análise, provou-se que esses caracteres, aliados às diferenças de tamanho dos verticilos de estames das formas florais, foram utilizados equivocadamente na delimitação das duas variedades, *C. suberosus* var. *fulvus* e *C. suberosus* var. *suberosus*, que correspondem às formas brevistila e longistila, respectivamente. Entre as duas populações estudadas, ocorre certa variabilidade fenotípica intra-formas florais, relativa às dimensões das partes florais; independentemente da forma floral, foram constatadas variações no número de sépalas, pétalas e estames e uma tendência à restrição do tecido nectarífero aos setores antepétalos do tubo estaminal. A ocorrência de cavidades secretoras nas pétalas também não se correlacionou às formas florais, mas parece ter sido influenciada pela localidade.

Palavras chave: anatomia, *Connarus*, Connaraceae, dioícia, fragrância floral, heterostilia, nectário, tricoma.

Introdução

Connarus suberosus Planch. é uma Connaraceae arbórea de pequeno porte, que se desenvolve exclusivamente em áreas de cerrado de oito Estados brasileiros (Forero 1983, Forero e Costa 2002). Em 170 levantamentos florísticos rápidos da flora lenhosa de cerrado senso lato, realizados por Ratter et al. (2001), *C. suberosus* figura como uma das espécies mais freqüentes, ocorrendo em 75% das áreas inventariadas.

De acordo com Schellenberg (1938), *C. suberosus* distingue-se de *Connarus fulvus* devido à ausência de tricomas glandulares e pontos glandulares (cavidades secretoras) nas pétalas. Forero (1983), em sua revisão sobre Connaraceae neotropicais, concluiu que era

impossível manter essas espécies como entidades separadas, em virtude da existência de estados intermediários dos caracteres diagnósticos e de outros, como pilosidade dos filetes, forma e pubescência dos folíolos, entre outras; no entanto, considerou possível distinguir certas tendências. Desta forma, procedeu a nova combinação, reconhecendo para *C. suberosus* as variedades *suberosus* e *fulvus*. Para a identificação das mesmas, o autor propôs os seguintes caracteres: 1. *Connarus suberosus* var. *suberosus*: sépalas 3,5mm; pétalas 4x1,5mm; pontos glandulares ausentes ou inconspícuos; estames maiores 2,5mm, menores 1,5 mm, sem tricomas glandulares nos filetes, tricomas glandulares presentes no ápice do conectivo e no estilete; 2. *Connarus suberosus* var. *fulvus*: sépalas 2,6mm; pétalas 5-5,5x2mm, pontos glandulares conspícuos; estames maiores 4mm, menores 3mm, com tricomas glandulares nos filetes, tricomas glandulares ausentes no ápice do conectivo e no estilete.

Milhomens e Proença (2002), mediante análise de exsicatas determinadas por Forero, constataram que realmente existem as tendências morfológicas citadas por este autor, contudo a análise de gráficos de dispersão produzidos a partir dos caracteres diagnósticos não permitiu validar a divisão em variedades; assim sendo, recomendaram que a variedade *fulvus* fosse sinonimizada à variedade típica.

Forero (1983) e outros autores, como Schellenberg (1938) e Leenhouts (1958), que empreenderam importantes estudos taxonômicos sobre Connaraceae, dedicaram pouca atenção à ocorrência de heterostilia na família. Esse tema é tratado minuciosamente por Lemmens (1989), que identificou oito tipos de heterostilia em Connaraceae, baseado na análise de espécies africanas principalmente. Em *Connarus*, verificou-se a ocorrência de dois tipos de heterostilia dimórfica, ambos apresentando as formas medistila e longistila; contudo, o autor ressaltou que, nas espécies americanas deste gênero, a forma brevistila ainda está presente. Lemmens (1989) também mencionou que, nas espécies americanas de *Connarus*, parece ocorrer uma tendência em direção à dioícia.

Considerando que: 1) há poucos trabalhos sobre a morfologia floral de Connaraceae, os quais foram conduzidos por Baker (1962), Dickison (1971), Lemmens (1989), Matthews e Endress (2002); 2) em *C. suberosus*, a variação morfológica proveniente da heterostilia não é conhecida; 3) observações das flores de *C. suberosus*, realizadas no início desta investigação, apontaram possíveis incongruências nos tratamentos taxonômicos conferidos à espécie, além de haver indícios de dioícia funcional; os objetivos deste trabalho consistiram em descrever a morfoanatomia floral de *C. suberosus*, analisar a variabilidade

estrutural em função dos tratamentos taxonômicos propostos por Forero (1983) e Milhomens e Proença (2002) e identificar tendências morfológicas associadas à evolução da dioícia.

Material e métodos

As coletas de material botânico e o acompanhamento do período reprodutivo foram realizados entre 2004 e 2006, em vinte espécimes de *C. suberosus* Planch. da Fazenda Palmeira da Serra, Município de Pratânia, Estado de São Paulo, Brasil (P1) e de doze indivíduos localizados à margem da rodovia municipal (Estrada do Roberto) que liga a área urbana do Distrito de Vitoriana ao Rio Bonito Campo e Náutica, Município de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil (P2). Ramos férteis herborizados foram incorporados à coleção do Herbário “Irina Delanova Gemtchujnicov” (BOTU), do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências da UNESP, Câmpus de Botucatu, sob o número 24.415.

Para a realização do estudo anatômico, foram preparadas lâminas permanentes de botões florais em diversos estádios de desenvolvimento e flores em antese, a partir de amostras de ambas as formas florais fixadas em FAA 50 (Johansen 1940) e preservadas em etanol 70% (Jensen 1962), as quais foram submetidas à desidratação em série etanólica, incluídas em metacrilato Leica®, conforme o protocolo do fabricante, e seccionadas transversal e longitudinalmente no micrótomo rotativo com aproximadamente 8µm de espessura. As séries obtidas foram coradas com azul de toluidina 0,05%, pH 4,7 (O’Brien et al. 1964) e montadas em resina sintética. Os resultados da análise do laminário foram registrados digitalmente por meio de câmera Olympus C7070WZ acoplada a microscópio de luz Olympus BX41.

Testes qualitativos foram empregados para detecção de polissacarídeos ácidos, lipídios totais, amido e compostos fenólicos (Johansen 1940), mediante tratamento de secções semi-finas com vermelho de rutênio, Sudan IV, lugol e cloreto férrico, respectivamente. Os sítios de emissão de fragrâncias florais foram localizados pela exposição de flores intactas ao vermelho neutro (Pridgeon e Stern 1983).

Para microscopia eletrônica de varredura, flores em antese de ambas as formas florais foram preparadas conforme os procedimentos descritos por Robards (1978), os quais consistem na fixação da amostra em glutaraldeído 2,5%, pós-fixação em tetróxido de ósmio 1%, desidratação em série etanólica, secagem em ponto crítico usando CO₂ e na metalização com camada de ouro. As observações foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Quanta 200 (Fei Company), obtendo-se imagens digitais.

Para a análise morfométrica, flores conservadas em etanol 70% foram dissecadas sob estereomicroscópio, em meio contendo a mesma solução; as medidas das partes florais foram tomadas indiretamente, com auxílio de câmara clara e régua milimetrada, e calculadas mediante aplicação de regra de três. Para quantificar o número e as dimensões de sépalas e pétalas, foram amostradas oito flores de cada uma de três plantas de cada forma floral, selecionadas ao acaso de P1 e P2 (n = 24 flores/forma/localidade). O comprimento de estames e gineceu foi mensurado em cinco flores retiradas de cada uma de seis plantas de cada forma floral de P1 e de três plantas de cada forma floral de P2. Considerando que apenas os dados relativos a flores com dez estames foram utilizados para análise estatística, n equivale a 19 flores brevistilas e a 22 longistilas para P1, enquanto n corresponde a 13 flores brevistilas e a 12 longistilas para P2. O teste t de Student foi usado para comparar as dimensões de sépalas, pétalas, estames e gineceu entre as formas florais de uma mesma localidade (comparações inter-formas florais) e entre plantas de uma mesma forma floral de localidades distintas (comparações intra-formas florais). Aplicou-se, também, o referido teste nos seguintes casos: para confirmar a ocorrência de heterostilia, mediante a comparação entre os verticilos de estames curtos e longos e entre estes e o gineceu, em cada forma floral; para avaliar a reciprocidade entre as posições dos estigmas e um dos conjuntos de anteras, entre formas florais opostas de uma mesma localidade. As variações observadas no número de peças florais foram expressas em porcentagem, independentemente da forma floral e da localidade. As variações de caracteres qualitativos, como cavidades secretoras, foram tratadas percentualmente considerando sua presença ou ausência em cada forma floral de P1 e P2.

Resultados

Conarus suberosus apresenta heterostilia dimórfica, caracterizada pelas formas brevi- e longistila (Figs. 1-4), cujas flores, em geral, consistem de cinco sépalas, cinco pétalas e dez estames dispostos em dois verticilos; o gineceu, invariavelmente, é unicarpelar e unilocular. Em ambas as formas florais, o número de elementos do cálice e da corola varia de quatro a seis. Determinou-se que 15, 73 e 12% das flores possuem, respectivamente, quatro, cinco e seis sépalas, enquanto que 9, 90 e 1% delas apresentam quatro, cinco e seis pétalas, respectivamente. No androceu de ambas as formas florais, as alterações numéricas referem-se à supressão de um a quatro estames em cerca de 27% das amostras; no entanto, eventualmente, observaram-se flores com onze ou doze estames. É relativamente freqüente, a

ocorrência de um a dois estaminódios, a qual independe do número de estames que compõem o androceu.

Análise anatômica

No início do desenvolvimento, cada botão floral exibe uma bractéola decídua, que confere proteção aos órgãos internos; nos estádios seguintes, o cálice, que tem prefloração imbricada (Figs. 5-6), desempenha essa função. Na epiderme da face abaxial das sépalas, ocorrem estômatos (Fig. 7) e um revestimento ferrugíneo de tricomas dendróides (Figs. 5-6) que apresentam conteúdo fenólico e paredes septais comumente lignificadas e pontoadas; em botões florais, observam-se ainda tricomas glandulares, constituídos por pedúnculo multicelular, unisseriado e cabeça multicelular, que produzem mucilagem e lipídios. Essas estruturas secretoras, com certa frequência, também são observadas na superfície abaxial de brácteas. As células epidérmicas comuns são cubóides e fenólicas na face abaxial, enquanto que, adaxialmente, mostraram-se alongadas no sentido longitudinal e, muitas vezes, destituídas de substâncias fenólicas ao longo da região mediana da sépala (Fig. 7).

O mesofilo é parenquimático, com espaços evidentes e substâncias fenólicas acumulando-se principalmente nos estratos adjacentes à face abaxial da epiderme; o sistema vascular consiste de feixes colaterais envoltos por bainha parenquimática pouco diferenciada (Fig. 7). No mesofilo das sépalas de ambas as formas florais podem ocorrer cavidades secretoras delimitadas por uma camada de células epiteliais. Tanto o conteúdo quanto o epitélio dessa estrutura secretora produzem reação positiva para lipídios. Em material fresco e sob estereomicroscópio, essas cavidades são visualizadas como pontos glandulares vermelhos dispersos na superfície de sépalas e também de pétalas. A análise anatômica revelou que elas podem ser formadas nos demais órgãos florais (Fig. 10), inclusive em bractéolas, ginóforo, receptáculo e pedicelo.

A corola, que é amarelo-esverdeada, possui prefloração aberta (Fig. 6). Na região basal das pétalas de ambas as formas florais, as margens apresentam células epidérmicas e fundamentais com núcleo proeminente e citoplasma denso, isentas dos depósitos fenólicos, que ocorrem nas demais células comuns da epiderme e são usuais no mesofilo (Fig. 8). Na face abaxial, a epiderme é estomatífera. O mesofilo é parenquimático e lacunoso ao longo da maior parte da pétala, exceto na região basal, onde os espaços intercelulares são menos evidentes; o sistema vascular consiste de feixes colaterais envoltos por bainha parenquimática pouco evidente (Figs. 9-10). Sob estereomicroscópio, as cavidades secretoras presentes no mesofilo das pétalas mostram-se mais conspícuas que as das sépalas.

As flores brevistilas apresentam tricomas glandulares, multicelulares e unisseriados ao longo das margens das pétalas, nos filetes, nas anteras e, freqüentemente, no estilete (Figs. 11-16). Nas flores longistilas, eles sempre ocorrem no estilete; as pétalas e os filetes são desprovidos desses tricomas que, eventualmente, podem ser vistos nas anteras. Os tricomas glandulares de qualquer um desses órgãos coram-se intensamente quando expostos ao vermelho neutro, o que também ocorre com grãos de pólen e estigmas.

Os estames são conatos congenitamente na base (Fig. 20) e arranjados em dois verticilos (Figs. 12, 17). O verticilo externo consiste de estames antessépalos, que são mais longos e espessos que os antepétalos (Fig. 17); no tubo estaminal, entretanto, os setores antepétalos são os mais largos (Fig. 21). A base do tubo estaminal apresenta-se adnata ao ginóforo, às pétalas e às sépalas; a porção externa da parede é nectarífera e se constitui de epiderme fenólica e de células fundamentais com núcleo volumoso e citoplasma denso, permeadas por células fenólicas e cavidades secretoras (Figs. 20-22). Na região nectarífera ocorrem estômatos, mas não há terminações vasculares; o parênquima subjacente a ela contém cavidades secretoras e muitas células fenólicas, principalmente no entorno dos feixes estaminais (Figs. 20-21), que são anficrivais. A epiderme interna do tubo compõe-se de células fenólicas, um pouco mais volumosas que aquelas da epiderme externa (Fig. 21). Na região distal do tubo, apenas os setores antepétalos mostram-se nectaríferos (Fig. 21); por outro lado, nos setores antessépalos, os caracteres secretores são suprimidos a diferentes alturas. Acima das áreas nectaríferas e na porção livre dos filetes, não há estômatos; células fenólicas encontram-se principalmente na epiderme e no entorno do feixe estaminal (Fig. 23).

As anteras são cordadas (Fig. 18), dorsifixas e versáteis; na fase em que apresentam megasporocitos, os estratos parietais consistem de protoderme, camada precursora do endotécio, duas camadas médias e camada precursora do tapete; o conectivo exibe um cordão procambial envolto por várias camadas fenólicas (Fig. 24). Quando se formam as tétrades de micrósporos, as camadas médias apresentam-se mal definidas e o tapete diferenciado, os demais estratos pouco se modificam (Fig. 25). Os eventos seguintes da ontogênese diferem entre as formas florais. Em flores brevistilas, o desenvolvimento do microgametofito ocorre normalmente e é acompanhado das seguintes modificações na parede dos microsporângios: diferenciação da epiderme e das células do endotécio, que geralmente apresentam espessamentos parietais filiformes e lignificados, dispostos reticuladamente; reabsorção das camadas médias, do tapete (Figs. 26-27) e do septo que isola os dois microsporângios de cada teca. A antera madura é introrsa; a deiscência das tecas ocorre longitudinalmente, pela ruptura do estômio (Figs. 14, 27).

Em flores longistilas, o desenvolvimento do microgametofito é interrompido em ambos os verticilos, visto que os microsporos são reabsorvidos logo que se separam das tétrades (Fig. 28). Nos eventos seguintes da diferenciação da parede dos microsporângios, é notável a persistência do tapete, apesar da progressiva desorganização e colapso dessa camada, que, na antese, mostra-se parcialmente absorvida (Fig. 29). Outros caracteres da antera que se destacam, ao final da maturação, referem-se ao espessamento irregular do endotécio, à diferenciação e persistência das camadas médias (Fig. 29), à dissociação geralmente parcial do septo entre microsporângios adjacentes e a freqüente indeiscência das tecas.

O gineceu, que se dispõe sobre ginóforo curto, é ascidiado na região basal, a qual equivale a cerca de um quinto do comprimento do ovário; no nível da inserção ovular (Figs. 30-31) ou imediatamente abaixo desta ocorre a transição para a região plicada, onde as duas camadas epidérmicas coerentes delimitam a região sutural até o ápice do estilete. Externamente, a sutura é distinguível por uma reentrância (Figs. 30-33) que se prolonga até o ginóforo, onde é menos evidente.

O indumento do ovário consiste de tricomas dendróides (Figs. 15, 30-33), similares aos das sépalas, que lhe conferem aspecto ferrugíneo-tomentoso; eventualmente, os tricomas distribuem-se esparsamente ao longo do estilete, acompanhando os tricomas glandulares já referidos (Figs. 15-17, 19). Além de tricomas, a epiderme externa do gineceu possui estômatos; as células comuns contêm substâncias fenólicas, que também ocorrem nos demais tecidos, abrangendo camadas inteiras, como aquelas adjacentes à epiderme externa e a epiderme interna, ou células dispersas no mesofilo (Figs. 30-35). As células suturais e as adjacentes da epiderme interna raramente se mostram fenólicas (Fig. 33).

O mesofilo ovariano compreende três regiões (Fig. 34), distintas quanto ao número de camadas, formato e dimensões das células fundamentais, entre outros aspectos. O mesofilo externo tem cinco a oito camadas parenquimáticas, onde ocorrem cavidades secretoras geralmente separadas da epiderme por uma ou duas camadas de células. O mesofilo médio é vascularizado por um feixe dorsal (Fig. 35), por cordões e faixas procambiais que percorrem as paredes laterais e, na face ventral, por um par de feixes alas, por diversos feixes marginais secundários e pelo complexo ovular que emite os traços que suprem os óvulos (Fig. 31). Acima da placenta, feixes marginais secundários e alas constituem os complexos vasculares ventrais (Fig. 33). O mesofilo interno possui um número menor de camadas, comparado a outras regiões do mesofilo, e não se estende até a linha de fusão carpelar (Figs

32-. 33). Ao longo da região dorsal, geralmente não é possível diferenciar as camadas internas do mesofilo médio daquelas do mesofilo interno.

A epiderme interna do ovário é formada por uma camada de células menos volumosas que aquelas da epiderme externa (Fig. 34), algumas dispostas transversal e outras longitudinalmente.

No estilete, o mesofilo é relativamente homogêneo, apresentando cavidades secretoras, que se distribuem aleatoriamente; a vascularização compreende apenas o feixe dorsal e os dois complexos ventrais. O estilete não mostra tecido de transmissão, reconhecendo-se o canal estilar delimitado por epiderme (Figs. 36-37). As flores brevistilas aparentemente apresentam tendência à redução do estilete, pois em vários espécimes ele se mostra vestigial. Os estigmas diferem entre as formas florais quanto às dimensões e à forma. As flores brevistilas têm estigmas puntiformes (Fig. 15), menores que aqueles das flores longistilas, que são fendidos e volumosos (Fig. 17).

No ovário das flores longistilas, há dois óvulos colaterais, bitegmentados (Figs. 30, 32, 35) e hemítropos, arranjados em placentação sutural. Frequentemente, os óvulos diferem quanto às dimensões (Figs. 30, 32) e, eventualmente, um deles mostra-se abortado.

As flores brevistilas, em geral, não apresentam óvulos, tendo em vista que o desenvolvimento destes é inibido anteriormente ao surgimento dos primórdios de tegumento. Desta forma, na antese, o lóculo ovariano abriga apenas duas emergências da placenta, que recebem suprimento vascular (Fig. 38). Do grupo de plantas brevistilas acompanhadas durante o período reprodutivo, apenas um espécime produziu frutos e sementes; nos demais houve abscisão das flores algum tempo depois da antese.

Morfometria

O comprimento e a largura das sépalas de flores longistilas variam significativamente entre as localidades amostradas ($p < 0,05$), enquanto que as sépalas da forma brevistila são significativamente mais curtas que aquelas da forma longistila em P2 ($p < 0,0001$) (Tabela 1).

As dimensões das pétalas das flores brevistilas são significativamente maiores que aquelas das flores longistilas, quando comparadas as médias de comprimento obtidas das amostras de P1 ($p < 0,0001$) ou aquelas relativas à largura, determinadas para as flores de P2 ($p < 0,05$). Entre as localidades, as pétalas de flores longistilas diferem quanto a ambos os parâmetros ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Cavidades secretoras ocorrem nas pétalas de ambas as formas florais. Em P1, elas ocorrem em mais de 50% das flores brevi- e longistilas, enquanto, em P2, verifica-se a situação contrária.

Em P1 e P2, o comprimento dos verticilos de estames apresenta variações intra-formas florais significativas ($p < 0,0001$) (Tabela 2). Entre as formas florais, as médias de estames curtos e longos das flores brevistilas são maiores que as respectivas médias das flores longistilas ($p < 0,0001$); as variações entre diferentes verticilos também se mostram significativas ($p < 0,001$), exceto na comparação de estames curtos de flores brevistilas e estames longos de flores longistilas de P2 ($p = 0,37$) (Tabela 2). Entre as localidades amostrais, as diferenças intra-formas são significativas ($p < 0,0001$), menos entre estames curtos de flores longistilas ($p = 0,07$) e entre estames curtos e longos de flores brevistilas ($p = 0,16$) (Tabela 2).

As flores brevi- e longistilas diferem significativamente quanto ao comprimento do gineceu ($p < 0,01$), em cada uma das localidades. A comparação intra-forma das médias das amostras de P1 e P2 revela variação significativa apenas entre flores brevistilas ($p < 0,001$) (Tabela 2).

Independentemente da localidade, em cada forma floral, o comprimento médio do gineceu difere estatisticamente daquele de estames curtos ($p < 0,0001$) e longos ($p < 0,0001$) (Tabela 2). Em P1 e P2, as variações inter-formas florais relacionadas às médias de gineceu e estames de cada verticilo são significativas ($p < 0,05$), com exceção daquela entre gineceu de flores brevistilas e estames curtos de flores longistilas, ambas de P2 ($p = 0,07$) (Tabela 2).

Discussão

O cálice de *C. suberosus* apresenta prefloração imbricada, que é usual em Connaraceae (Schellenberg 1938). No entanto, é registrada certa variação no gênero, já que as espécies de *Connarus* examinadas por Jongkind (1989) possuem cálice mais ou menos valvar e, em *C. conchocarpus*, ele é quincuncial (Matthews e Endress 2002).

A prefloração aberta da corola de *C. suberosus* é singular na família, cujo padrão é imbricado (Jongkind 1989). Em Cunoniaceae, que é filogeneticamente afim (APG 2003), a prefloração aberta foi relacionada às dimensões reduzidas das pétalas (Matthews e Endress 2002); na espécie aqui estudada, atribui-se esse tipo de prefloração à expansão tardia da corola, que ocorre no início da antese.

Matthews e Endress (2002) não encontraram estômatos nas pétalas de Connaraceae e das demais Oxalidales analisadas, com exceção de *Crinodendron*

(Elaeocarpaceae). Não obstante, em *C. suberosus* a epiderme mostra-se estomatífera abaxialmente, enquanto em Oxalidaceae, família estritamente relacionada a Connaraceae, há registro de estômatos na superfície adaxial da corola de várias espécies de *Oxalis* (Estelita-Teixeira 1984).

Os caracteres das margens, observados na região basal das pétalas de *C. suberosus*, são similares àqueles de *C. conchocarpus*, os quais constituem indício de atividade meristemática ou secretora (Matthews e Endress 2002). Neste trabalho, assume-se que os mesmos relacionam-se à atividade secretora.

No tubo estaminal, a distribuição do tecido nectarífero de *C. suberosus* difere das Connaraceae até agora estudadas. Em *C. conchocarpus*, que possui apenas cinco estames antessépalos, as áreas nectaríferas ocupam integralmente os setores antepétalos; em *Cnestis ferruginea*, o tecido nectarífero restringe-se às regiões interestaminais do tubo, que é muito curto (Matthews e Endress 2002). Em *C. suberosus*, a porção externa do tubo é inteiramente nectarífera; entretanto, a extensão das áreas nectaríferas dos setores antepétalos é notavelmente maior que aquela dos setores antessépalos. Desta forma, parece existir uma tendência que leva à restrição do tecido nectarífero aos setores antepétalos, conforme acontece em *C. conchocarpus* e também em várias Oxalidaceae (Kumar 1976, Estelita-Teixeira 1980, Matthews e Endress 2002).

As anteras das flores brevistilas, cujo desenvolvimento transcorre normalmente, apresentam endotécio com espessamento reticulado, conforme se observou em Oxalidaceae (Denardi e Oliveira, neste volume); no entanto, em outras Connaraceae, os espessamentos têm formato de U como em Leguminosae, Rosaceae e Sapindaceae (Manning e Stirton 1994), que foram considerados grupos relacionados nas classificações pré-cladísticas (Cronquist 1981).

As flores longistilas possuem anteras estéreis, visto que o desenvolvimento dos microsporos é interrompido precocemente. De acordo com Frankel e Galun (1977), esta interrupção na microsporogênese deve-se a uma falha na deposição da primexina sobre os microsporos. Os autores consideraram a seqüência de eventos da maturação dos microsporos como um dos estádios da formação do microgametofito mais susceptíveis a processos abortivos. Nessa fase, os distúrbios que levam à esterilidade masculina foram relacionados à persistência do tapete. Nas flores longistilas aqui analisadas, além desse desenvolvimento anormal do tapete, ocorrem diferenciação e persistência das camadas médias e espessamento irregular do endotécio.

Considerando que pelo menos um dos óvulos das flores longistilas de *C. suberosus* é viável, essa forma floral é funcionalmente feminina. As flores brevistilas

mostram-se funcionalmente masculinas, uma vez que o desenvolvimento dos óvulos é interrompido precocemente; contudo, em P2, uma das plantas brevistilas coletadas produziu flores funcionalmente bissexuais. Portanto, nessa localidade, a população de *C. suberosus* pode ser classificada como polígama, enquanto aquela de P1 apresenta-se funcionalmente dióica. Segundo Lemmens (1989), que considera rara a dioícia em Connaraceae, *Ellipanthus beccarii* é uma espécie inquestionavelmente dióica, na qual também podem ocorrer flores bissexuais.

Diferentemente de outros grupos heterostilos, em muitas Connaraceae, os polimorfismos estigmáticos não se relacionam às formas florais, exceto nas espécies com flores funcionalmente unissexuais (Lemmens 1989), caso de *C. suberosus*, cujos estigmas das formas florais variam nas dimensões e no formato. Nesta espécie, a ocorrência de tricomas glandulares também está associada à diferenciação de gêneros entre as formas florais, visto que, invariavelmente, distribuem-se pelas superfícies de estames e carpelo férteis, onde atuam na emissão de compostos voláteis, que, possivelmente, estimulam a visitação desses órgãos, conforme sugerem Young et al. (1984), Werker (2000) e Effmert et al. (2005). Na corola, tais tricomas podem sinalizar a existência de recompensa na base das pétalas, que apresenta características secretoras, e/ou indicar a região nectarífera na face abaxial do tubo estaminal, o que explicaria a redução da área de tecido nectarífero nos setores antessépalos. No entanto, essas hipóteses subentendem diferenças na capacidade secretora das formas florais, ainda que não estabelecidas na população, tendo em vista que as pétalas das flores longistilas são glabras; além disso, é lógico admitir que a supressão de tricomas glandulares das pétalas dessa forma floral foi posterior à redução das áreas nectaríferas nos setores antessépalos. Também não é claro o significado da conservação de tricomas glandulares nos carpelos da maioria das flores brevistilas, os quais freqüentemente se mostram estéreis.

As diferenças relativas à distribuição de tricomas glandulares em *C. suberosus* foram interpretadas taxonomicamente por Schellenberg (1938) e, posteriormente, por Forero (1983), que as utilizou como um dos caracteres diagnósticos na delimitação de *C. suberosus* var. *suberosus* e *C. suberosus* var. *fulvus*. No entanto, em sua contribuição para “Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo”, Forero e Costa (2002) desprezaram as variações referentes à ocorrência de tricomas glandulares no estilete ou no ápice do conectivo da chave de identificação dessas variedades. Milhomens e Proença (2002) atribuíram à variação fenotípica ou genotípica certas tendências relacionadas à pilosidade de folíolos e de partes florais dessas variedades, as quais consideram insuficientes para caracterizar a especialização de linhagens.

As dimensões de sépalas e pétalas assinaladas por Forero (1983) para a identificação das variedades indicam que *C. suberosus* var. *suberosus* apresenta sépalas maiores e pétalas menores que a variedade oposta. No presente estudo, essas relações aplicam-se às flores longistilas e brevistilas, respectivamente, embora esses parâmetros tenham diferido estatisticamente em localidades distintas. Esses resultados evidenciam que as variações no tamanho do cálice e da corola, possivelmente, estão associadas à funcionalidade sexual dessas flores, visto que esses caracteres não se encontram totalmente fixados nas populações analisadas. A comparação das médias de comprimento das pétalas entre as formas florais de P1 corrobora observações que indicam que o tamanho da corola das flores masculinas geralmente é maior que o das femininas (Bell 1985, Delph 1996). As flores longistilas, por sua vez, tendem a apresentar cálice maior, provavelmente, em função de sua persistência no fruto, conferindo-lhe proteção no início do desenvolvimento.

A ocorrência de cavidades secretoras nas pétalas não se correlacionou às formas florais, mas parece ter sido influenciada pela localidade. Milhomens e Proença (2002) relataram que, em 80% das exsicatas de *C. suberosus* var. *fulvus*, as três flores examinadas por exsicata apresentavam pétalas com cavidades secretoras; enquanto em 66% das exsicatas de *C. suberosus* var. *suberosus* pelo menos duas flores por exsicata portavam esse caráter; assim, consideraram que a variedade *fulvus* tende a apresentar pétalas pontoadas por cavidades secretoras.

Nas análises aqui apresentadas, os verticilos de estames de flores brevistilas mostraram-se maiores que os equivalentes das longistilas, tanto em P1 quanto em P2. Essas relações são condizentes com as dimensões de estames curtos e longos de *C. suberosus* var. *fulvus* e *C. suberosus* var. *suberosus*, descritas por Forero (1983). Considerando que, em ambas as formas florais, os verticilos de estames diferem significativamente entre si, bem como do gineceu, *C. suberosus* possui heterostilia dimórfica do ponto de vista estrutural; contudo, não há correspondência recíproca do comprimento dos estames e do gineceu entre as formas florais, exceto entre gineceu de flores brevistilas e estames curtos de flores longistilas, ambas de P2. Nas espécies africanas e asiáticas de *Conarus*, Lemmens (1989) descreveu a ocorrência de heterostilia dimórfica caracterizada por formas florais com um estilete longo ou médio e dez estames férteis, além de um tipo provavelmente derivado deste, cujas formas florais apresentam um estilete longo ou médio, cinco estames férteis e cinco estames rudimentares.

A argumentação aqui apresentada parece suficiente para demonstrar que o reconhecimento de duas variedades de *C. suberosus* (Forero, 1983) consistiu de um equívoco

ocasionado pelos caracteres peculiares das formas florais, os quais freqüentemente aparecem associados à evolução da dioícia. Entretanto, é notável que, na chave proposta para a distinção das variedades, as dimensões dos verticilos de estames de cada uma delas não expressem variações decorrentes da heterostilia, apesar de Forero (1983) considerá-la “um caráter comum em todas as Connaraceae”.

Os resultados dessa investigação confrontados com os caracteres diagnósticos de *C. suberosus* var. *fulvus* e *C. suberosus* var. *suberosus* (Forero 1983) revelam que as ditas variedades correspondem às formas brevistila e longistila, respectivamente. Portanto, recomenda-se que a espécie não seja tratada em nível varietal. Milhomens e Proença (2002) propuseram que a variedade *fulvus* seja sinonimizada à variedade típica, visto que não constataram correlação entre os caracteres diagnósticos estabelecidos por Forero (1983) e respectivas variedades de *C. suberosus*, os quais mostraram um gradiente de estados ou não diferiram expressivamente entre as variedades; contudo, os autores não associaram esses resultados à ocorrência de heterostilia e à evolução da dioícia na espécie.

A comparação de parâmetros quantitativos entre as populações de P1 e P2 revelou variações intra-formas florais significativas nas dimensões de sépalas e pétalas de flores longistilas e de estames de ambas as formas florais, com exceção dos casos já mencionados. Interessantemente, Forero (1983) descreveu considerável variabilidade de forma, tamanho e pubescência de folíolos, observada em cada variedade. Assim sendo, pode-se considerar que ocorre certa variabilidade fenotípica intra-formas florais envolvendo órgãos vegetativos e reprodutivos; entretanto, não é claro se a evolução da dioícia ou modificações do número de peças florais influenciaram as variações nas dimensões de sépalas e pétalas de flores longistilas e de estames de ambas as formas florais. Certamente, a evolução da dioícia é a causa determinante da variação de comprimento do gineceu de flores brevistilas, observada entre as localidades amostrais, tendo em vista que se verificou uma tendência ao encurtamento do estilete nessa forma floral funcionalmente masculina.

Agradecimentos: Nós somos gratos a Luciano C. Milhomens, por realizar a identificação da espécie, e à FAPESP (Programa BIOTA, proc. n° 00/12469-3), pelo apoio financeiro. João D. Denardi agradece à CAPES pela concessão da bolsa PICDT e D.M.T. Oliveira ao CNPq, pela bolsa de produtividade em pesquisa.

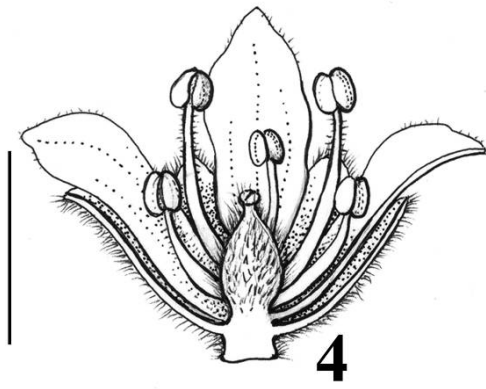
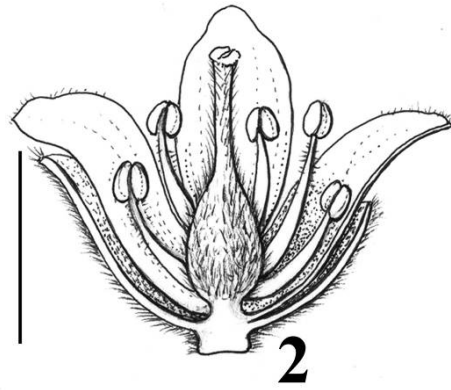
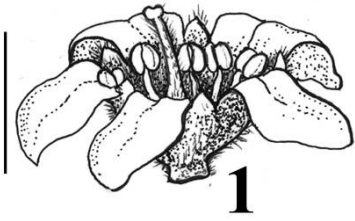
Referências

- APG (2003) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Bot. J. Linn. Soc. 141: 399–436.
- Baker H. G. (1962) Heterostyly in the Connaraceae with special reference to *Byrsocarpus coccineus*. Bot. gaz. 123: 206-211.
- Bell G. (1985) On the function of flowers Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. sci. 224: 223-265.
- Cronquist A. (1981) An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- Delph L. F. (1996) Flower size dimorphism in plants with unisexual flowers. In: Lloyd D. G., Barret S. C. H. (eds.) Floral biology: studies on floral evolution in animal-pollinated plants. Chapman & Hall, New York, pp. 217-237.
- Dickison W. C. (1971) Anatomical studies in the Connaraceae. I. Carpels. J. Elisha Mitchell Sci. Soc. 87: 77-86.
- Effmert U., Grobe J., Röse U. S. R., Ehrig F., Kägil R., Piechulla B. (2005) Volatile composition, emission pattern, and localization of floral scent emission in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). Amer. J. Bot. 92: 2-12.
- Estelita-Teixeira M. E. (1980) Floral vascularization in Oxalidaceae. Bol. Bot. 8: 75-85.
- Estelita-Teixeira M. E. (1984) Morfologia floral de três espécies de *Oxalis* L. Rev. Bras. Bot. 7: 41-48.
- Forero E. (1983) Connaraceae. Flora Neotrop. 36: 1-208.
- Forero E., Costa C.B. (2002) Connaraceae. In: Wanderley M. G. L., Shepherd G. J., Giulietti A. M. (eds.). Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo, FAPESP, HUCITEC, São Paulo, pp. 85-92.
- Frankel R., Galun E. (1977) Pollination mechanisms, reproduction and plant breeding. Monographs on Theoretical and Applied Genetics 2: 209-228.
- Jensen W. A. (1962) Botanical histochemistry: principles and practice. W. H. Freeman, San Francisco.
- Johansen D. A. (1940) Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- Jongkind C. C. H. (1989) Flowers. In: Breteler F.J. (ed.) The Connaraceae: a taxonomic study with emphasis on Africa. Agricultural University Wageningen Papers, Wageningen, pp. 42.
- Kumar A. (1976) Studies in Geraniales II. The floral anatomy. J. Indian Bot. Soc. 55: 233-253.

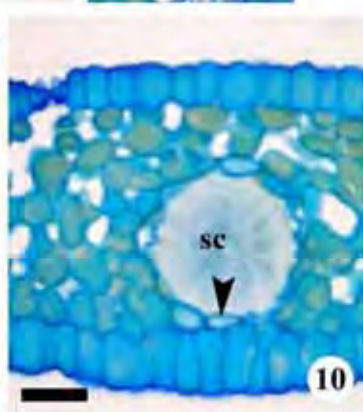
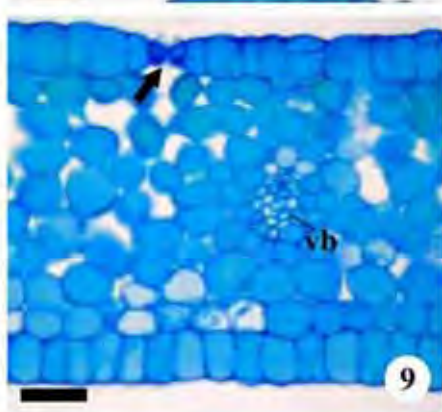
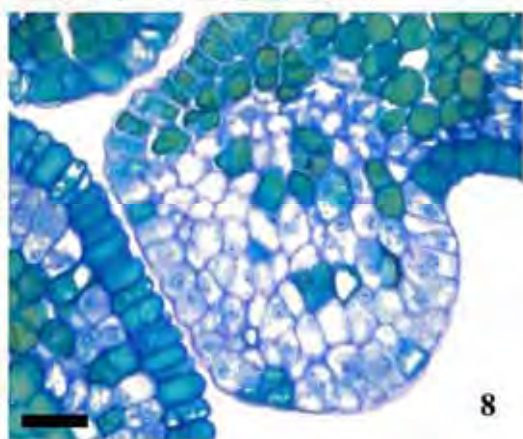
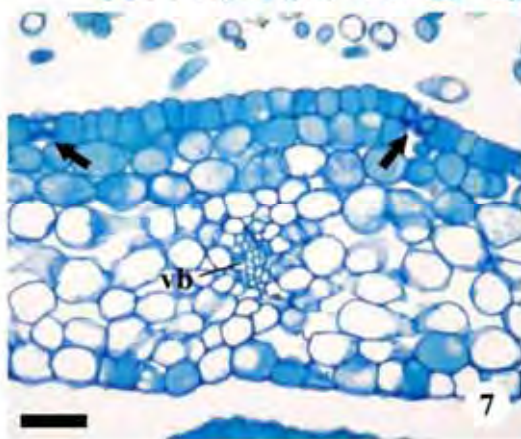
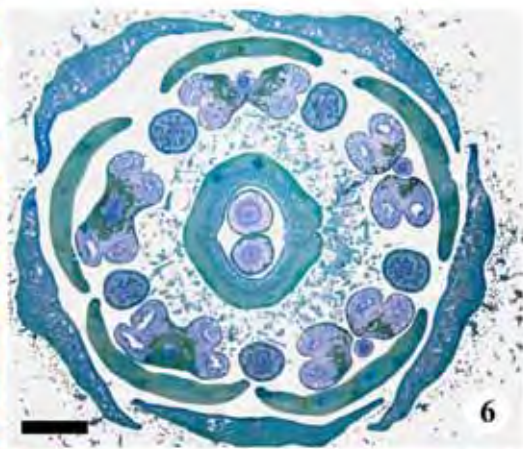
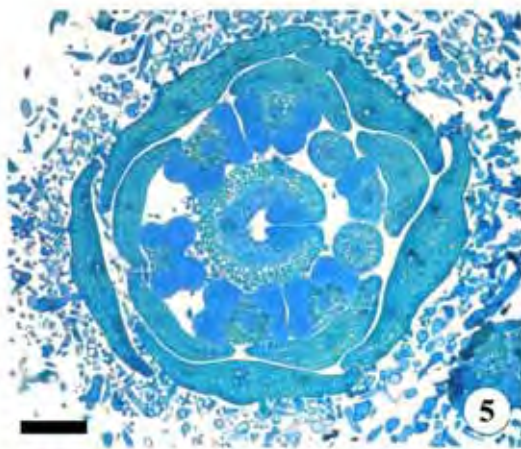
- Leenhouts P. W. (1958) Connaraceae. In: van Steenis C.G.G.J. Flora Malesiana 1(5): 495-591.
- Lemmens R. H. M. J. (1989) Heterostyly. In: Breteler F. J. (ed.). The Connaraceae: a taxonomy study with emphasis on Africa. Agricultural University Wageningen Papers, Wageningen, pp. 56-72.
- Manning J. C., Stirton C. H. (1994) Endothecial thickenings and phylogeny of the Leguminosae. In: Ferguson I. K., Tucker S. (eds.). Advances in legume systematics 6: structural botany. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 141-163.
- Matthews M. L., Endress P. K. (2002) Comparative floral structure and systematics in Oxalidales (Oxalidaceae, Connaraceae, Brunelliaceae, Cephalotaceae, Cunoniaceae, Elaeocarpaceae, Tremandraceae). Bot. J. Linn. Soc. 140: 321-381.
- Milhomens L. C., Proença C. E. B. (2002) Redução de *Connarus suberosus* var. *fulvus* (Planchon) Forero e *Rourea induta* var. *reticulata* (Planchon) Baker às respectivas variedades típicas. Bol. Herb. Ezechias Paulo Heringer 9: 5-22.
- O'Brien T. P., Feder N., McCully M. E. (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59: 368-373.
- Pridgeon A. M., Stern, W. L. (1983) Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). Amer. J. Bot. 70: 1233-1243.
- Ratter J. A., Bridgewater S., Ribeiro J. F. (2001) Espécies lenhosas da fitofisionomia cerrado sentido amplo em 170 localidades do bioma cerrado. Bol. Herb. Ezechias Paulo Heringer 7: 7-112.
- Robards A. W. (1978) An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In: Hall J. L. (ed.). Electron microscopy and cytochemistry of plant cells. Elsevier, New York, pp. 343-415.
- Schellenberg G. (1938) Connaraceae. In: Engler A. (ed.). Das Pflanzenreich. Engelmann, Leipzig, pp. 1-326.
- Werker E. (2000) Trichome diversity and development. Adv. Bot. res. 31: 1-35.
- Young A. M., Schaller M., Strand M. (1984) Floral nectaries and trichomes in relation to pollination in some species of *Theobroma* and *Herrania* (Sterculiaceae). Am. J. Bot. 71: 466-480.

Ilustrações

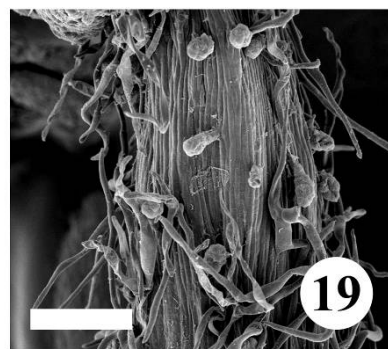
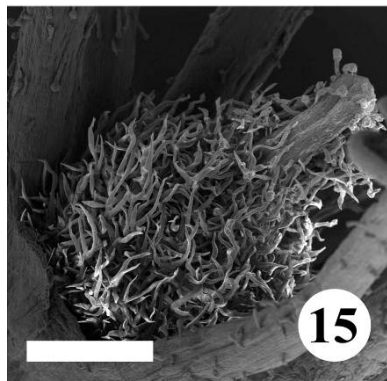
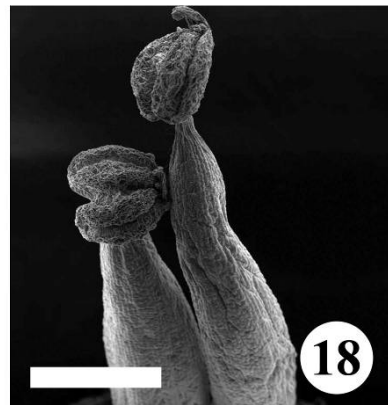
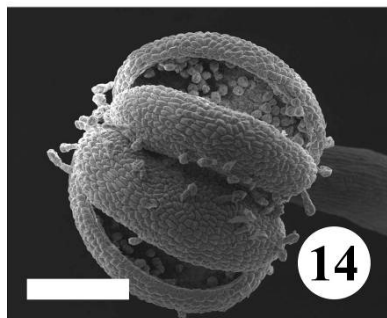
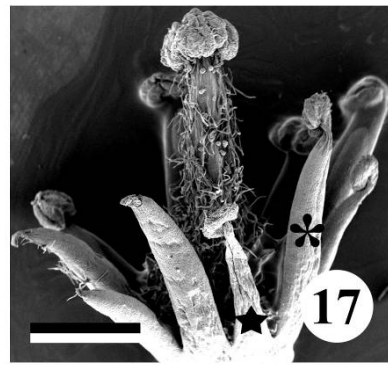
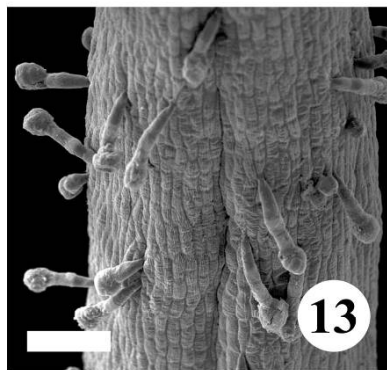
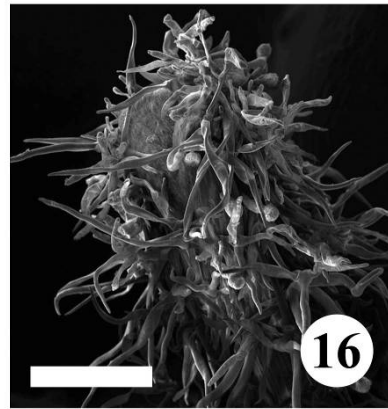
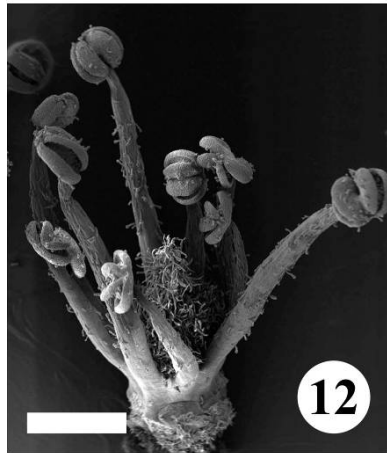
Figs. 1-4. *Connarus suberosus*. **Figs. 1-2.** Flor longistila. **Figs. 3-4.** Flor brevistila. Barras = 3mm (1-4).



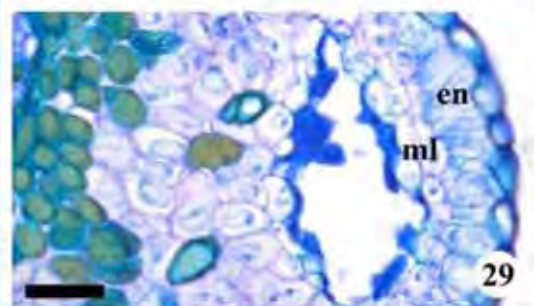
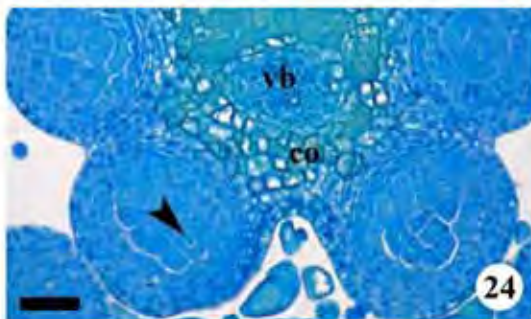
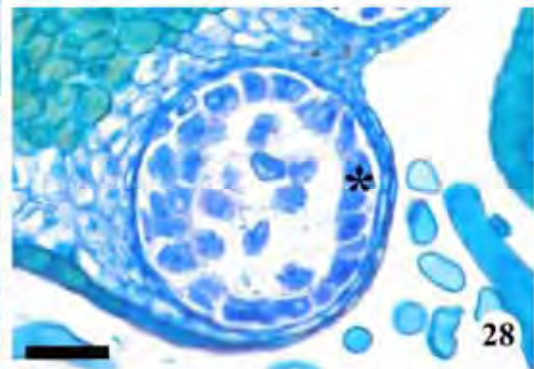
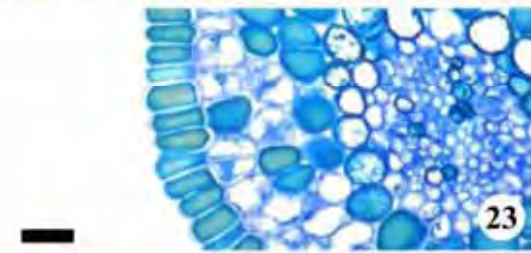
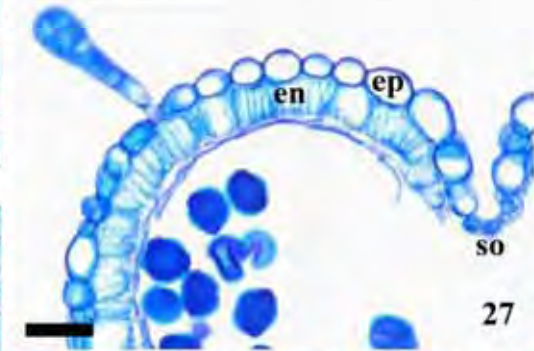
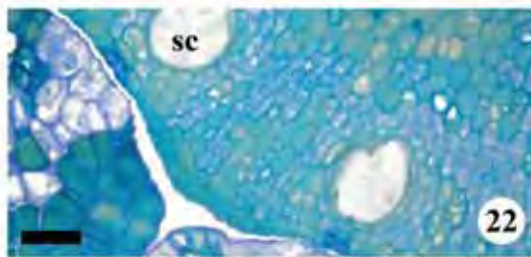
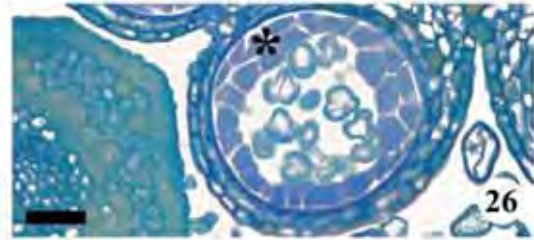
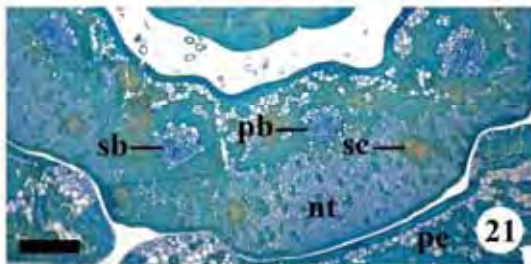
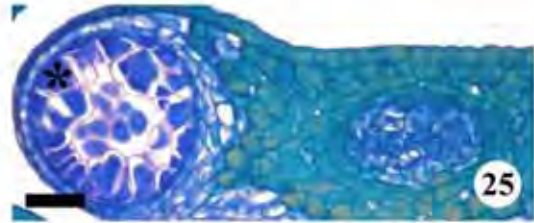
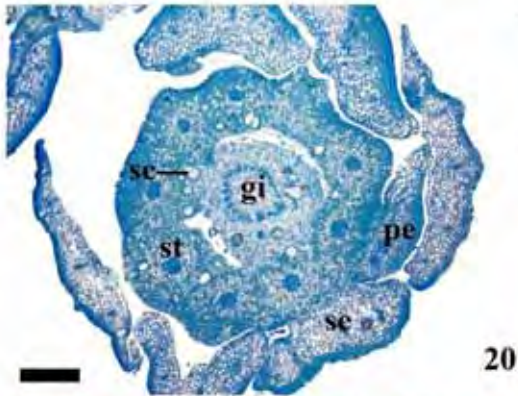
Figs. 5-11. *Connarus suberosus*. Secções transversais de botões florais e do perianto da flor em antese. **Figs. 5-6.** Botões florais em estádios sucessivos de desenvolvimento. **Fig. 7.** Detalhe da sépala. **Fig. 8.** Detalhe do bordo da pétala. **Figs. 9-10.** Detalhes da pétala em áreas intervenais. **Fig. 11.** Tricoma glandular. (sc = cavidade secretora; vb = feixe vascular; seta = estômatos na epiderme da face abaxial de sépala e pétala; ponta de seta = epitélio da cavidade secretora). Barras = 100 μm (5); 200 μm (6); 25 μm (7, 9-11); 10 μm (8).



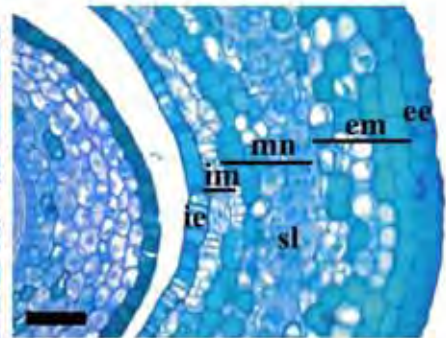
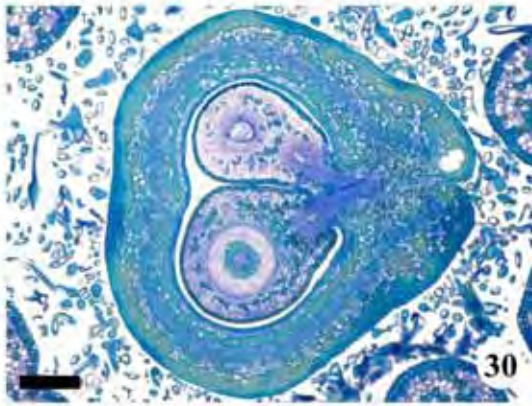
Figs. 12-19. *Connarus suberosus*. Estames e carpelo de flores brevistilas (Figs. 12-16) e longistilas (Figs. 17-19), em microscopia eletrônica de varredura. **Fig. 12.** Aspecto geral. **Fig. 13.** Detalhe do filete. **Fig. 14.** Detalhe da antera. **Fig. 15.** Detalhe do carpelo. **Fig. 16.** Detalhe do estilete. **Fig. 17.** Aspecto geral. **Fig. 18.** Detalhe de estames. **Fig. 19.** Detalhe do estilete. (Asterisco = estame longo; estrela = estame curto). Barras = 1 mm (12, 17); 100 μm (13); 250 μm (14-16); 500 μm (18); 200 μm (19).



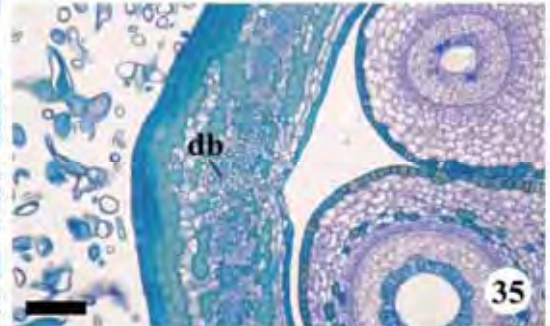
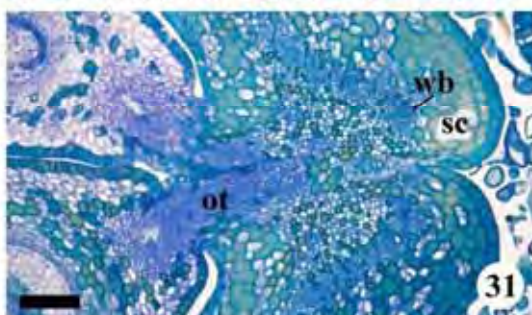
Figs. 20-29. *Conarus suberosus*. Secções transversais da base floral e do androceu. **Fig. 20.** Base floral, mostrando fusão do tubo estaminal a peças do perianto e ao ginóforo. **Fig. 21.** Detalhe do tubo estaminal, ilustrando a extensão dos setores antepétalos e antessépalos e a distribuição de tecido nectarífero. **Fig. 22.** Detalhe da área nectarífera observada na figura anterior; notar epiderme com estômatos. **Fig. 23.** Detalhe do filete. **Fig. 24.** Detalhe da antera com microsporocitos (ponta de seta). **Fig. 25.** Detalhe da antera na fase em que se observam tétrades de microsporos; notar tapete desenvolvido (asterisco). **Figs. 26-27.** Detalhes de anteras de flores brevistilas, ilustrando estádios sucessivos da diferenciação dos microsporângios. **Figs. 28-29.** Detalhes de anteras de flores longistilas mostrando, respectivamente, a degeneração dos microsporos e a diferenciação atípica da parede do microsporângio, que encerra resquícios do tapete. (co = conectivo; en = endotécio; ep = epiderme; gi = ginóforo; ml = camada média; nt = tecido nectarífero; pb = feixe estaminal antepétalo; pe = pétala; sb = feixe estaminal antessépalo; sc = cavidade secretora; se = sépala; so = estômio; st = tubo estaminal; vb = cordão procambial). Barras = 200 μm (20-21); 100 μm (22); 25 μm (23-29).



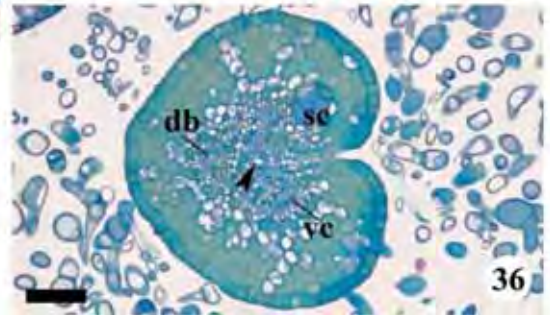
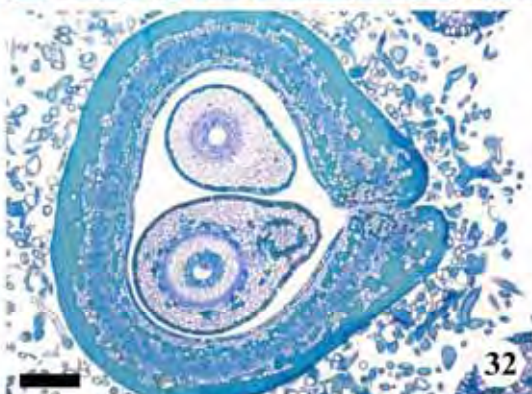
Figs. 30-38. *Connarus suberosus*. Secções transversais do gineceu da flor longistila (Figs. 30-37) e brevistila (Fig. 38). **Fig. 30.** Aspecto geral do ovário, no nível das inserções dos dois óvulos colaterais. **Fig. 31.** Detalhe da figura anterior, ilustrando a vascularização e a transição da zona ascidiada para plicada. **Fig. 32.** Aspecto geral do ovário na região plicada. **Figs. 33-35.** Respectivamente, detalhes das regiões ventral, lateral e dorsal do ovário visto na Fig. 32. **Figs. 36-37.** Aspecto geral e respectivo detalhe do estilete, no qual se destaca a vascularização e o canal estilar (ponta de seta). **Fig. 38.** Detalhe do ovário de flor brevistila, mostrando emergências placentárias vascularizadas. (db = feixe dorsal; ee = epiderme externa; em = mesofilo externo; ie = epiderme interna; im = mesofilo interno; mb = feixe marginal secundário; mm = mesofilo médio; ot = traço ovular; sc = cavidade secretora; sl = faixa procambial lateral; vc = complex vascular ventral; wb = feixe ala). Barras = 100 μm (30,32); 50 μm (31, 33, 35-36, 38); 25 μm (34, 37).



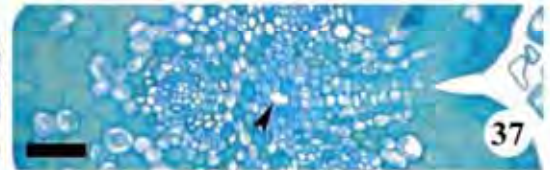
34



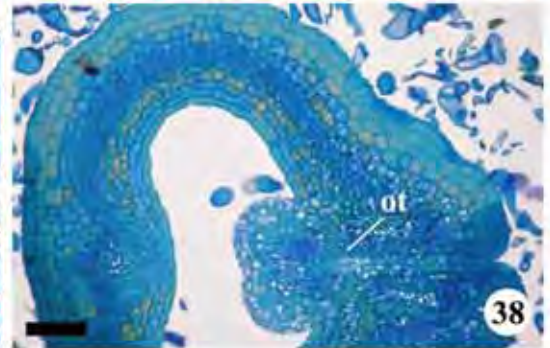
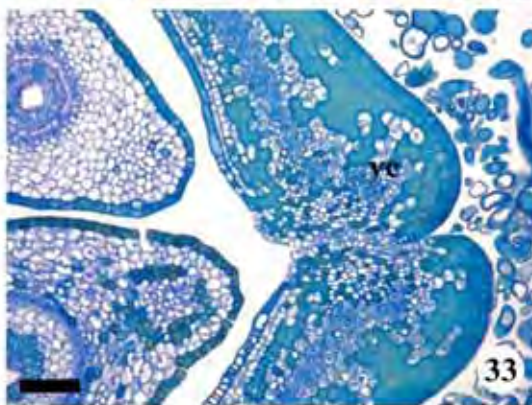
35



36



37



38

Tabela 1. Médias de comprimento e largura de sépalas e pétalas de ambas as formas florais (em mm), amostradas em P1 e P2, e respectivos valores de desvio-padrão, mostrados entre parêntesis.

| | P1 (Pratânia) | | P2 (Vitoriana) | |
|-------------------------------|----------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| | Brevistila | Longistila | Brevistila | Longistila |
| Comprimento de sépalas | 2,79 (0,50) | 2,71 (0,34) | 2,51 (0,26) | 2,86 (0,32) |
| Largura de sépalas | 1,32 (0,21) | 1,37(0,16) | 1,23 (0,14) | 1,23 (0,17) |
| Comprimento de pétalas | 4,20 (0,49) | 3,73 (0,43) | 4,13 (0,27) | 4,39 (0,70) |
| Largura de pétalas | 1,87 (0,18) | 1,78 (0,23) | 1,84 (0,21) | 1,64 (0,19) |

Tabela 2. Médias de comprimento de estames e gineceu de ambas as formas florais (em mm), amostradas em P1 e P2, e respectivos valores de desvio-padrão, mostrados entre parêntesis.

| | P1 (Pratânia) | | P2 (Vitoriana) | |
|-----------------------|----------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| | Brevistila | Longistila | Brevistila | Longistila |
| Estames curtos | 4,02 (0,59) | 1,97 (0,31) | 3,01 (0,55) | 2,21 (0,39) |
| Estames longos | 5,28 (0,33) | 2,52 (0,31) | 4,23 (0,44) | 2,94 (0,36) |
| Gineceu | 2,95 (0,88) | 3,60 (0,56) | 1,97 (0,21) | 3,85 (0,27) |

CAPÍTULO III¹

¹ Trabalho elaborado segundo as normas do periódico *Annals of Botany*.

**Morfoanatomia e desenvolvimento do pericarpo e da semente de *Connarus suberosus*
Planch. (Connaraceae)**

JOÃO DONIZETE DENARDI¹ E DENISE MARIA TROMBERT OLIVEIRA^{2*}

¹ *Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Coxim, Rua
Pereira Gomes, 355, Vila Santa Maria, 79.400-000, Coxim, MS, Brasil.*

² *Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de
Botânica, Avenida Antonio Carlos, 6627, Pampulha, Caixa Postal 486, 31.270-901, Belo
Horizonte, MG, Brasil.*

- *Justificativa e objetivos* *Connarus suberosus* é espécie de Connaraceae típica do cerrado, sobre a qual poucos dados estruturais estão disponíveis. Está incluída no subclado das eurosídeas I, no qual muitas relações permanecem não resolvidas. O presente trabalho foi realizado visando descrever, estrutural e ontogeneticamente, os frutos e sementes de *C. suberosus*, discutindo os resultados em comparação com grupos irmãos.
- *Métodos* Botões florais, flores em antese e frutos e sementes em várias fases de desenvolvimento foram caracterizados morfológicamente e analisados em preparações permanentes e semipermanentes, segundo as técnicas usuais.
- *Resultados principais* A vascularização carpelar mostra-se derivada em relação ao padrão descrito para Connaraceae, devido à formação de um complexo ovular mediante união parcial de traços ovulares àqueles derivados de feixes alas. O desenvolvimento do pericarpo e da semente, que pode ocorrer apomiticamente, não são concomitantes, visto que a diferenciação seminal inicia-se após a expansão do pericarpo, que alcança comprimento e largura finais. Ao término da diferenciação seminal, ocorre a maturação pericárpica, caracterizada pela expansão radial das células do mesocarpo externo e deiscência do folículo. A semente madura apresenta arilo que se desenvolve da região rafe-calazal, é hemítropa e vascularizada por um complexo de feixes que irriga as regiões rafeal e pré-rafeal; o tégmen é parcialmente absorvido. Diferentemente de outras Connaraceae, a endotesta e o exotégmen são multiplicativos; o mesotégmen mostra-se esclerificado, embora restrito à calaza. O

* Para correspondência. Email: dmtoliveira@icb.ufmg.br

endosperma, que é núcleo-celular, persiste como estrato irregularmente multisseriado, fortemente adnato ao tegumento, o que não é usual em *Connarus*.

• *Conclusões* Diversos aspectos estruturais observados são compartilhados com outras espécies de Oxalidales, especialmente de Oxalidaceae, família irmã de Connaraceae.

INTRODUÇÃO

Connaraceae é uma família pantropical, que abrange espécies arbóreas, arbustivas e lianas, caracterizadas por folhas alternas, imparipinadas, exestipuladas; gineceu formado por um ou cinco carpelos livres, pubescentes, bi-ovulados; fruto simples ou múltiplo, com uma ou duas sementes por cavidade seminal, as quais apresentam testa pelo menos parcialmente carnosas. No Brasil, considerado o centro de diversificação da família na região Neotropical, ocorrem 64 espécies, classificadas nos gêneros *Bernardinia*, *Connarus*, *Pseudoconnarus* e *Rourea* (Forero, 1983; Forero e Costa, 2002).

Os estudos taxonômicos sobre Connaraceae, realizados por Schellenberg (1938), Leenhouts (1958) e Breteler (1989) revelaram divergências consideráveis na delimitação dos *taxa* em níveis infrafamiliares. Também, várias interpretações taxonômicas foram apresentadas a respeito de suas relações interfamiliares (Heimsch, 1942; Hutchinson, 1969; Takhtajan, 1969, 1997; Dickison, 1971, 1972, 1973a,b; Corner, 1976; Cronquist, 1981; Behnke, 1982).

Recentemente, Connaraceae e Oxalidaceae constituíram um clado da ordem Oxalidales (APG, 2003), definido nas análises filogenéticas realizadas por Hufford (1992), a partir de dados morfológicos e químicos, bem como em estudos filogenéticos baseados em seqüências gênicas (Davies *et al.*, 2004; Savolainen *et al.*, 2000; Soltis *et al.* 2000; Zhang e Simmons, 2006) ou na combinação de dados moleculares e morfológicos (Nandi *et al.*, 1998).

No sistema APG (APG, 2003), Oxalidales, Malpighiales e Celastrales constituem um grande subclado de eurosídeas I, cujas relações permanecem não resolvidas. Stevens (2007) reconheceu como sinapomorfia para eurosídeas I o endosperma escasso. Para Oxalidales, o autor mencionou os seguintes caracteres relativos às sementes: micrópila formada por ambos os tegumentos, tegumento do óvulo multiplicativo, endotesta cristalífera e paliçádica, e exotégmen fibroso ou traqueoidal.

No presente trabalho, os frutos e sementes de *C. suberosus*, nas várias fases do desenvolvimento, são descritos morfoanatomicamente, discutindo-se os resultados em comparação com grupos irmãos de Connaraceae, em especial Oxalidaceae.

MATERIAL E MÉTODOS

Botões florais, flores em antese, frutos e sementes de *Connarus suberosus* em vários estádios de desenvolvimento foram coletados em espécimes ocorrentes na Fazenda Palmeira da Serra, Município de Pratânia, Estado de São Paulo, Brasil, e em espécimes localizados à margem da rodovia municipal (Estrada do Roberto) que liga a área urbana do Distrito de Vitoriana ao Rio Bonito Campo e Náutica, Município de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. Ramos férteis herborizados foram depositados no Herbário “Irina Delanova Gemtchujnicov” (BOTU), do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências da UNESP, Câmpus de Botucatu, registrados sob o número 24.415.

Os caracteres morfológicos de frutos e sementes foram analisados sob estereomicroscópio Leica®, a partir de 75 unidades de material fresco. As dimensões e o peso fresco de frutos e sementes foram determinados com auxílio de paquímetro e balança de precisão. Para cada parâmetro, calculou-se a média aritmética e o desvio padrão. A terminologia para descrição dos frutos e sementes baseou-se em Martin (1946), Corner (1976), Roth (1997) e Barroso *et al.* (1999).

O laminário permanente foi preparado a partir de amostras fixadas em FAA 50 (Johansen, 1940) e preservadas em etanol 70% (Jensen, 1962), as quais foram desidratadas em série etanólica e incluídas em metacrilato Leica®, conforme o protocolo do fabricante. Secções transversais e longitudinais com aproximadamente 8 μm de espessura, obtidas no micrótomo rotativo, foram coradas com azul de toluidina 0,05%, pH 4,7 (O'Brien *et al.*, 1964); alternativamente secções do pericarpo maduro foram tratadas com este corante e, em seguida, com solução aquosa de vermelho de rutênio 0,02%. Na montagem das lâminas utilizou-se resina sintética. A documentação dos resultados foi realizada digitalmente por meio de câmera Olympus C7070WZ acoplada a microscópio de luz Olympus BX41.

Nos testes histoquímicos, secções de materiais frescos foram expostas a lugol para evidenciar amido, Sudan IV para realçar substâncias lipídicas, vermelho de rutênio para detectar polissacarídeos ácidos, cloreto férrico para verificar a ocorrência de compostos fenólicos (Johansen, 1940), azul mercúrio de bromofenol para indicar a presença de proteínas (Mazia *et al.*, 1953), floroglucinol acrescido de ácido clorídrico para detectar estruturas lignificadas (Sass, 1951).

Pericarpos maduros, após remoção do endocarpo e mesocarpo interno, foram diafanizados segundo a técnica proposta por Fuchs (1963). Em outro ensaio, o pericarpo

maduro foi dividido ao longo do limite externo do mesocarpo interno, sendo as duas partes maceradas separadamente, conforme os procedimentos descritos por Franklin (1945) e modificados como descrito por Kraus e Arduin (1997).

RESULTADOS

O fruto de *C. suberosus* desenvolve-se de ovário súpero, unicarpelar e unilocular, disposto sobre ginóforo curto (Fig. 1A). Em botões florais, as margens carpelares são inicialmente livres (Fig. 1B), exceto na região basal do ovário, que é fechada congenitamente (Fig. 1C) e equivale a cerca de um quinto do comprimento desse órgão. Posteriormente, os bordos se unem mediante adesão cuticular. Assim, as duas camadas epidérmicas, coerentes ontogeneticamente, mantêm-se distintas até o ápice do estilete, delimitando a região sutural (Fig. 1D-E, G). Entretanto, no nível da inserção dos dois primórdios ovulares ou imediatamente abaixo dessa, ambos os processos de fusão concorrem para o fechamento do carpelo (Fig. 1C). Em toda sua extensão, a sutura é acompanhada externamente por uma reentrância (Fig. 1G) que se prolonga até o ginóforo, onde é menos evidente.

Na flor em antese, o ovário apresenta epiderme externa unisseriada, composta por estômatos e células comuns cubóides, revestidos por cutícula inconspícua (Fig. 1F-H). Tricomas dendróides (Fig. 1I) conferem o aspecto ferrugíneo-tomentoso ao ovário e inserem-se entre as demais células epidérmicas por meio de uma base constrita (Fig. 1H). As células desses tricomas contêm substâncias fenólicas e suas paredes septais são comumente lignificadas e pontoadas.

Na parede ovariana, há deposição de substâncias fenólicas em camadas inteiras, como a epiderme externa, camadas adjacentes e epiderme interna, ou localizada em células dispersas no mesofilo (Fig. 1E-H). As células suturais e as adjacentes da epiderme interna raramente acumulam essas substâncias (Fig. 1G).

No mesofilo ovariano, distinguem-se três regiões (Fig. 1E-H). O mesofilo externo consiste de células fundamentais de formato poligonal que, na face ventral, organizam-se em até oito camadas (Fig. 1G). Nesse tecido, ocorrem cavidades secretoras delimitadas por epitélio uniestratificado, as quais se separam da epiderme por uma ou duas camadas de células ou, menos freqüentemente, são subepidérmicas (Fig. 1F, H). Em material fresco e sob estereomicroscópio, a secreção dessas cavidades exhibe coloração vermelha; em seu lume, assim como no epitélio, foram detectados lipídios.

O mesofilo médio é formado por cerca de oito camadas de células poligonais, menores que aquelas do mesofilo externo. Sua metade externa é ocupada, principalmente, por procâmbio, com elementos vasculares pouco diferenciados (Fig. 1E-H). O sistema vascular consiste de um feixe dorsal, de cordões e faixas procambiais que percorrem as paredes laterais (Fig. 1F, H); na face ventral, observa-se um par de feixes alas, diversos feixes marginais secundários e um par de faixas procambiais ovulares parcialmente fundidas (Fig. 2B). Estas se formam no ginóforo, a partir de feixes próximos do dorsal, fundem-se pelas extremidades e migram para a face ventral desse órgão, deslocando para lá a vascularização lateral e deixando uma lacuna parenquimática subjacente ao lóculo ovariano (Fig. 2A-B). No ovário, o ponto de fusão das faixas procambiais ovulares alinha-se à reentrância ventral e a ele se unem faixas procambiais derivadas dos feixes alas, logo abaixo da placenta. Desse complexo vascular partem os cordões que suprem os óvulos (Fig. 2C-D). Os feixes marginais secundários derivam da vascularização lateral que foi deslocada para a região ventral do ginóforo durante a emissão das faixas procambiais ovulares (Fig. 2A-D). Acima da placenta, feixes marginais secundários e feixes alas constituem os complexos vasculares ventrais (Fig. 2B).

O mesofilo interno constitui-se de duas a três, eventualmente até cinco camadas de células alongadas periclinalmente, variavelmente dispostas nos sentidos horizontal e vertical, as quais não se estendem até a linha de fusão carpelar (Fig. 1E, G); contudo, o mesofilo interno tende a aumentar sua extensão em níveis sucessivamente superiores do ovário, no sentido ventral. Ao longo da região dorsal, a distinção entre as camadas de mesofilo médio subjacentes ao feixe dorsal e o mesofilo interno não é clara, ocorrendo células poligonais arredondadas, de tamanho reduzido (Fig. 1F); porém, na base do ovário, é possível discernir uma ou mais camadas típicas do mesofilo interno. A epiderme interna é unisseriada e apresenta células estreitas e alongadas periclinalmente, dispostas transversal ou longitudinalmente, e menos volumosas que aquelas da epiderme externa. Ao longo da região ventral, a epiderme interna mostra células com parede periclinal externa convexa.

O lóculo ovariano encerra dois óvulos colaterais, hemítropos (Fig. 3B), em placentação sutural (Fig. 1D-E). Frequentemente, um dos óvulos é menor (Fig. 1E) e, eventualmente, mostra-se abortado (Fig. 3A).

Os óvulos são bitegmentados, com micrópila definida pelo exóstoma e endóstoma (Fig. 3B). Na antese, o tegumento externo possui cerca de oito camadas de células, com epiderme externa unisseriada, coberta por cutícula delgada, constituída por células com conteúdo fenólico e formato cubóide ou poliédrico alongado tangencial ou radialmente. No mesofilo, as células são poliédricas e justapostas, de dimensões variáveis, algumas acumulando

substâncias fenólicas (Fig. 3B-C). Tanto na rafe quanto na pré-rafe, há ampliação do número de camadas fundamentais em torno do cordão procambial (Fig. 1E, G; 3A). A epiderme interna caracteriza-se por células cubóides, menores que as da epiderme externa e com citoplasma mais denso que as células dos tecidos adjacentes. Nesta camada, podem-se observar divisões periclinais esparsas. O limite entre os tegumentos externo e interno é definido por cutícula delgada, porém evidente (Fig. 3B-C).

O tegumento interno consiste de cinco camadas de células. Destas, a epiderme externa e o mesofilo apresentam células pouco diferenciadas, enquanto a epiderme interna constitui o endotélio, cujas células, alongadas radialmente, apresentam impregnação de substâncias fenólicas na parede celular, as quais se encontram também em pequenos vacúolos (Fig. 3C).

Os óvulos são crassinucelados, estando o megasporocito separado da epiderme nucelar por duas camadas parietais (Fig. 3D). Entretanto, o nucelo é consumido em um estágio próximo à antese.

Em alguns botões florais em pré-antese, observou-se endosperma em início de desenvolvimento, sem a ocorrência de fecundação, visto que nos mesmos botões as anteras encontram-se fechadas e os megasporos estão sendo absorvidos (Fig. 3E-G).

O desenvolvimento do pericarpo, independentemente do processo que o induziu, caracteriza-se, inicialmente, por uma fase em que predomina a atividade meristemática, no entanto as divisões são precedidas de certo grau de vacuolização das células (Fig. 4A). A atividade meristemática é mais intensa na face ventral, determinando seu maior desenvolvimento. Embora haja aumento significativo das dimensões do fruto, o estípite continua pouco distinto.

O exocarpo é unisseriado, visto que as células dividem-se apenas no plano anticlinal; há formação de estômatos e tricomas dendróides (Fig. 4A-D), além de tricomas glandulares providos de pedúnculo multicelular, unisseriado, e cabeça multicelular, os quais acumulam numerosas gotas lipídicas.

No mesocarpo externo e médio, células vacuoladas dividem-se aleatoriamente, ampliando o número de camadas desses tecidos (Fig. 4A-B). No mesocarpo externo, nota-se, ainda, o desenvolvimento de cavidades secretoras similares àquelas do mesofilo ovariano, geralmente localizadas próximas ao exocarpo (Fig. 4C). O sistema vascular encontra-se em diferenciação. As faixas procambiais ovulares e aquelas derivadas dos feixes alas dão origem a feixes que percorrem longitudinalmente diferentes extensões da região ventral acima da placenta (Fig. 4D), à exceção do complexo vascular ovular, cujos feixes dirigem-se para os

funículos. Os feixes proximais, derivados da vascularização ala, são os mais longos, enquanto aqueles originados das faixas procambiais ovulares extinguem-se gradativamente logo acima da placenta. No mesocarpo interno, ocorrem apenas divisões anticlinais que acomodam essa região ao crescimento do pericarpo (Fig. 4B-E).

O endocarpo mantém-se unisseriado, à exceção de alguns trechos em que mostra espessura de duas ou, algumas vezes, três células e extensão raramente superior à de cinco células dispostas lado a lado (Fig. 4E). Contudo, o endocarpo destaca-se por apresentar tricomas glandulares em desenvolvimento, constituídos por pedúnculo multicelular, unisseriado, com célula basal afunilada e cabeça multicelular ainda pouco diferenciada (Fig. 4F).

No estágio seguinte da ontogênese, ocorre abscisão das estruturas florais, com exceção das sépalas, e o pericarpo atinge comprimento e largura típicos do órgão maduro, inclusive com alongamento do estípite. Nesta fase, prevalece a expansão celular; no entanto, observam-se divisões aleatórias no mesocarpo externo e médio, cuja frequência diminui gradativamente. Em todas as camadas pericárpicas as células, em geral, concentram substâncias fenólicas (Fig. 5A-E).

No exocarpo, há senescência e queda dos tricomas glandulares e redução da densidade de tricomas dendróides, em função do alongamento das células comuns desse tecido. Estômatos são freqüentes, acompanhados por câmara subestomática inconspícua (Fig. 5A-B).

A expansão celular no mesocarpo restringe-se às regiões média e interna, visto que o volume das células do mesocarpo externo é pouco alterado, principalmente nas camadas periféricas (Fig. 5A-C). O sistema vascular mostra-se bem desenvolvido, porém ainda há elementos vasculares em diferenciação (Fig. 5C-D).

No endocarpo, estômatos desprovidos de câmara subestomática tornam-se evidentes (Fig. 5E) e tricomas glandulares iniciam a atividade secretora (Fig. 5F), ao lado de outros que principiam o seu desenvolvimento. Na fase secretora, estes tricomas possuem pedúnculo longo, cujas células acumulam substâncias fenólicas, e cabeça multicelular distinta. Em frutos frescos, a secreção produzida é vermelha, ao passo que o pedúnculo se mostra hialino. Os testes realizados não foram suficientes para precisar a natureza da secreção.

Simultaneamente, a semente encontra-se em atividade meristemática, que lhe proporciona um crescimento incipiente em comparação ao pericarpo. Na maioria das vezes, apenas uma semente se desenvolve. A exotesta é unisseriada e fenólica. A mesotesta é a região mais ampla do tegumento e consiste de células vacuoladas, com ou sem conteúdo fenólico, que, inicialmente, dividem-se aleatoriamente, em planos variados (Fig. 6A-C). Posteriormente, a

camada subexotestal divide-se periclinalmente, com frequência maior que as demais, mostrando células pouco volumosas (Fig. 6B-C).

Na região rafe-calazal, a proliferação de células mesotestais dos estratos situados entre a exotesta e o complexo vascular rafeal dá origem a um arilo com margem lobada e crenada. Esta emergência possui epiderme fenólica, portadora de estômatos; eventualmente, ocorrem pequenos tricomas tectores não ramificados. À medida que o arilo se desenvolve, as células fundamentais assumem arranjo radial, com fileiras parcialmente fenólicas (Fig. 6D-E).

Considerando a origem mista do suprimento vascular do óvulo, a vascularização da semente consiste de um complexo vascular que percorre o funículo e irriga a mesotesta nas regiões rafeal e pré-rafeal. O complexo vascular rafeal emite ramificações curtas, que se estendem para as laterais da semente e das quais partem traços que migram para a região proximal do arilo (Fig. 6D-E). O complexo pré-rafeal alcança o terço micropilar sem se ramificar (Fig. 6F).

A endotesta também é multiplicativa, mas sua atividade inicia-se tardiamente.

O tégmen é absorvido parcialmente (Fig. 6B-C; F-G). O exotégmen torna-se pontualmente bisseriado (Fig. 6G), mas em alguns trechos ele se desorganiza. No mesotégmen, há ampliação do número de camadas nas extremidades da semente (Fig. 6C), seguida da supressão desse estrato tegumentar (Fig. 6B), exceto nas regiões calazal e micropilar (Fig. 6G-H). O endotégmen persiste como uma camada vestigial, devido ao colapso e à absorção de suas células (Fig. 6C-F). Um estrato péctico amorfo, que se apresenta bastante espesso próximo à micrópila, interpõe-se entre o tégmen e o endosperma nuclear. Após esse evento, o embrião progride rapidamente para o estágio globular; periféricamente, inicia-se, a citocinese do endosperma (Fig. 6H). Nessa fase, a semente, cujo comprimento aproxima-se de 5 mm, ocupa uma cavidade seminal ampla, visto que o pericarpo alcança comprimento e largura finais.

À expansão do pericarpo segue-se a diferenciação de tecidos, não obstante no mesocarpo externo este processo seja parcial. No exocarpo, a cutícula torna-se espessa, apresentando flanges entre as células; sobre os estômatos, projeções elevadas recobrem incompletamente o ostíolo (Fig. 7A-B). Os tricomas dendróides mostram-se frágeis à ação mecânica, rompendo-se durante os procedimentos. As células epidérmicas comuns acumulam antocianina, que confere cor vermelho-alaranjada à superfície do fruto. As demais regiões do pericarpo são pardacentas, conservando os compostos fenólicos já relatados; entretanto, células esclerenquimáticas e aquelas do mesocarpo médio podem ser desprovidas desse conteúdo (Fig. 7A-D).

O mesocarpo externo exhibe as seguintes alterações: deterioração do epitélio que reveste as cavidades secretoras, formação de calotas de fibras gelatinosas na região ventral, contíguas ao tecido de separação (Fig. 7C-D), o qual foi originado pela epiderme sutural; diferenciação de esclereídes e fibroesclereídes, geralmente cristalíferas, isoladamente ou em pequenos grupos entre as demais células (Fig. 7B).

No mesocarpo médio, completa-se o desenvolvimento do sistema vascular. Percebe-se que as faixas procambiais laterais foram derivadas de cordões marginais secundários distais aos alas, visto que, lateralmente, a vascularização consiste de ramos, emitidos pelos feixes marginais secundários distais, percorrendo diagonal e ascendentemente o mesocarpo médio, os quais se ramificam profusamente nesse trajeto e constituem ampla rede vascular (Fig. 7E-F). Os feixes vasculares são envoltos por bainha de fibras gelatinosas septadas (Fig. 7G-H), à exceção daqueles derivados da vascularização ala e ovular (Fig. 7C-F). Essas bainhas são mais espessas voltadas para o floema e comumente interrompidas na porção que circunda o xilema (Fig. 7H). Frequentemente, há continuidade entre as bainhas que margeiam os feixes alas e as calotas de fibras adjacentes ao tecido de separação. Muitas vezes, as fibras gelatinosas associadas a este tecido e a feixes vasculares contêm substâncias fenólicas (Fig. 7C-D).

Na face ventral, parte do mesocarpo médio consiste de parênquima colenquimatoso, com células de paredes pouco e irregularmente espessadas, que se dispõem ao longo do tecido de separação, das fibras gelatinosas adjacentes a ele e de parte dos feixes vasculares provindos dos feixes alas (Fig. 7C). O restante desse estrato distingue-se como um parênquima com espaços intercelulares pequenos, porém evidentes. Nas demais regiões do pericarpo, o mesocarpo médio é formado somente por esse tipo de tecido parenquimático, onde se observam, algumas vezes, esclereídes isoladas e células com cristais prismáticos. Nas proximidades do feixe dorsal, esse parênquima exhibe redução gradual das dimensões celulares (Fig. 8A-C).

O mesocarpo interno diferencia-se como estrato esclerenquimático, composto por fibras de paredes espessas, pontoadas e lignificadas, que frequentemente apresentam conteúdo fenólico ou cristais prismáticos. A maioria das fibras dispõe-se obliquamente, embora haja orientações variadas (Fig. 8A-D).

No endocarpo, as principais mudanças relacionam-se à deposição de material péctico nas paredes celulares delimitantes da cavidade seminal, que se tornam levemente espessadas (Fig. 8C), e à obstrução dos estômatos.

A maturação completa do pericarpo ocorre durante os eventos finais da diferenciação da semente e caracteriza-se pelo alongamento radial das células parenquimáticas

do mesocarpo externo, que lhe confere espessura igual ou superior à do restante do pericarpo (Fig. 8D).

O fruto maduro é um folículo estipitado (Fig. 9A-C), irregularmente pubérulo externamente e com tricomas esparsos internamente, que apresenta coloração alaranjada a vermelha e cálice persistente. O ápice é oblíquo e mucronado (Fig. 9A) e a deiscência ocorre ao longo do tecido de separação (Fig. 9B). As dimensões e o peso da matéria fresca encontram-se na tabela 1.

A maturação dos tecidos seminais inicia-se quando o pericarpo se encontra parcialmente diferenciado. A semente madura tem testa preta e arilo amarelo, que recobre de um quarto a um terço da semente a partir da região rafe-calazal. É hemítropa, com hilo sub-basal e micrópila voltada para o ápice (Fig. 9D-E). As dimensões e o peso da matéria fresca são apresentados na tabela 2.

Na exotesta, as células expandem-se radialmente, constituindo uma paliçada curta, revestida por cutícula delgada. As paredes tangenciais externas dessas células tornam-se consideravelmente espessadas; nas paredes radiais, ocorre espessamento discreto. Compostos fenólicos impregnam as paredes celulares e são acumulados em vacúolos das células da exo- e mesotesta, que se torna aerenquimática (Fig. 10A-C).

No arilo maduro, a epiderme mantém-se fenólica; muitas vezes, no entanto, esse conteúdo apresenta aspecto floculado e reação menos intensa que a observada na estrutura jovem. Os estômatos mostram-se obliterados; tricomas tectores não foram encontrados nessa fase. No tecido fundamental, as células fenólicas avolumam-se e exibem dimensões geralmente maiores que as células com reservas (Fig. 10D-E), que contêm amido, lipídios e proteínas; contudo, a proporção destas é maior.

A atividade meristemática tardia na endotesta persiste por algum tempo, tornando-a irregularmente multisseriada, com espessura de uma a três células parenquimáticas aproximadamente (Fig. 10A, F). Na anti-rafe e adjacências, as células da camada interna desse tecido apresentam cristais prismáticos; nas demais regiões, a presença de cristais é menos comum (Fig. 10G). No tegumento maduro, a distinção entre endo- e mesotesta muitas vezes não é clara, devido à ausência dos cristais, a interrupções nas camadas endotestais e à deposição de compostos fenólicos nas paredes e vacúolos de suas células. Entretanto, é possível delimitar as camadas endotestais, pela sua posição, dimensões celulares geralmente menores que as de células mesotestais e menor volume de espaço intercelular (Fig. 10C).

O exotégmen, que é descontínuo (Fig. 10F), exceto na base do arilo, distingue-se como uma camada de fibras lignificadas, dispostas longitudinalmente. Em alguns pontos, o

exotégmen é bisseriado. O mesotégmen persiste apenas na calaza, constituindo-se de duas a três camadas de esclereídes. O endotégmen é absorvido completamente (Fig. 10H).

Após o embrião atingir o estágio globular, o endosperma celulariza-se rapidamente. A epiderme deste tecido destaca-se das demais camadas por apresentar células com citoplasma denso. Estas células e aquelas das camadas subjacentes próximas dividem-se periclinalmente, produzindo arranjos radiais. Frequentemente, os núcleos das células do endosperma são volumosos (Fig. 11A-C) e exibem dois a três nucléolos. Durante o desenvolvimento do embrião, o endosperma é consumido, com exceção da epiderme, que se mostra fortemente adnata ao tegumento. Na semente madura, o endosperma é pontualmente descontínuo, com espessura de uma a três células que possuem formatos variáveis, paredes pécticas e pequenos vacúolos com conteúdo fenólico (Fig. 10A-C).

O embrião tem coloração esverdeada e consiste de dois cotilédones plano-convexos, unidos pelo eixo hipocótilo-radícula espesso e curto (Fig. 11D, G), cujo ápice radicular apresenta primórdio de coifa (Fig. 11D-E) e posiciona-se no canal micropilar; a plúmula é rudimentar (Fig. 11F). A protoderme é revestida por cutícula evidente, acumula substâncias fenólicas e gotas lipídicas e, eventualmente, desenvolve alguns tricomas dendróides abaixo da inserção dos cotilédones (Fig. 11G). No meristema fundamental, ocorrem cavidades secretoras similares àquelas observadas no pericarpo (Fig. 11D, G-H). As células fundamentais possuem paredes impregnadas por compostos fenólicos, que também podem ser depositados em vacúolos, sobressaindo-se às reservas lipídicas e protéicas. As células predominantemente fenólicas constituem uma ou mais camadas contíguas à protoderme ou se encontram mais ou menos dispersas entre as células que armazenam lipídios e proteínas (Fig. 11H). No eixo embrionário, observam-se três traços vasculares divergindo do cilindro procambial em direção a cada cotilédone e deixando uma lacuna. Entretanto, dois traços adjacentes fundem-se quando começam a se separar do cilindro vascular. Desta forma, cada cotilédone recebe dois traços vasculares (Fig. 11G) que se ramificam na inserção deste órgão.

DISCUSSÃO

O fechamento ontogenético das margens carpelares, conforme se observou em *C. suberosus*, ocorre em outras Connaraceae (Dickison, 1971), Rosaceae (Sterling, 1969), Brunelliaceae (Eyde, 1970), Cunoniaceae (Dickison, 1975) e Fabaceae (Tucker e Kantz, 2001). Nestas famílias, com exceção de Cunoniaceae, a vascularização carpelar aparentemente evoluiu a partir de um padrão que consiste de um feixe dorsal, um par de feixes ovulares e um par de feixes alas, mediante fusão entre feixes ovulares e alas, em extensões variáveis, para formar os

feixes ventrais, condição esta geralmente relacionada ao fechamento dos primórdios carpelares (Sterling 1953, 1969; Eyde, 1970; Dickison 1971). Em Connaraceae, os avanços evolutivos raramente conduziram à fusão entre feixes ovulares e alas; entretanto, em algumas espécies, a fusão entre os ovulares resultou em três feixes principais na região ventral (Dickison, 1971). Diferentemente, *C. suberosus* apresenta um complexo ovular formado pela união parcial de faixas procambiais ovulares àquelas derivadas dos feixes alas, imediatamente abaixo da placenta.

A reentrância externa, que se estende ao longo da sutura até o ginóforo, em outros *taxa*, geralmente não é observada na porção do carpelo fechada congenitamente. Matthews e Endress (2002) referem-se a essa reentrância na zona de fusão congênita dos carpelos de Connaraceae, Brunelliaceae e *Acsmithia* (Cunoniaceae); também destacam que essa característica foi uma das quais subsidiou a associação anterior entre Connaraceae e Fabaceae.

Em *C. suberosus*, assim como nas demais Connaraceae e Brunelliaceae (Jongkind, 1989; Matthews e Endress, 2002), há dois óvulos colaterais por carpelo. A micrópila é formada por ambos os tegumentos, o que é usual em Connaraceae (Corner, 1976); no entanto, *C. conchocarpus* apresenta micrópila endostomal (Matthews e Endress, 2002). Na maioria das Connaraceae, apenas um óvulo desenvolve-se em semente; contudo, excepcionalmente, espécies unisseminadas podem apresentar duas sementes por fruto (Jongkind, 1989), conforme também se observou em *C. suberosus*. Aparentemente, parte das sementes desta espécie pode se originar por apomixia, visto que, em alguns botões florais em pré-antese de plantas longistilas, as quais se mostraram funcionalmente femininas (Denardi e Oliveira, Cap. II, neste volume), observou-se endosperma em início de desenvolvimento; porém não foram realizados experimentos de campo para avaliar a importância desse processo no sucesso reprodutivo da espécie.

O desenvolvimento inicial do pericarpo de *C. suberosus* decorre principalmente da atividade meristemática; no entanto, a maior frequência de divisões celulares na face ventral resulta em crescimento assimétrico, que coloca o estilete em posição quase horizontal. Eyde (1970) verificou desenvolvimento similar nos frutos de *Brunellia* spp. (Brunelliaceae), cujo ápículo mostra-se horizontal, divergente ou reflexo.

Durante a expansão do pericarpo, os tricomas endocárpicos iniciam a atividade secretora. Embora este tipo de tricoma tenha sido observado em várias espécies de *Connarus* (Corner, 1976; Forero, 1983; Jongkind, 1989; Forero e Costa, 2002), nenhuma investigação foi empreendida a respeito de suas funções. Considerando que, em *C. suberosus*, eles são formados durante todo o período que antecede à diferenciação das demais células do endocarpo,

mostrando-se ativos concomitantemente à redução da densidade dos tricomas exocárpicos e à expansão da cavidade seminal, sugere-se que tais tricomas internos conferem alguma proteção à semente em desenvolvimento contra microrganismos patogênicos ou a instalação de larvas de insetos. Em várias famílias, tricomas glandulares externos, muitas vezes, associam-se à defesa química de partes vegetais (Werker, 2000; Wagner *et al.*, 2004), o que corrobora a hipótese aqui apresentada.

A ocorrência de tricomas internos de natureza glandular, aparentemente, é rara; outros registros obtidos referem-se a tricomas intra-ovarianos em Araceae (French, 1987), os quais podem funcionar como obturador ou tecido de transmissão especializado, e em Elaeocarpaceae, filogeneticamente relacionada a Connaraceae (Matthews e Endress, 2002). Em Oxalidales *sensu* APG (2003), tricomas não-glandulares foram observados na epiderme interna do ovário de espécies de Oxalidaceae (Sauer, 1933; Estelita-Teixeira, 1984; Matthews e Endress, 2002), Elaeocarpaceae e Tremandraceae (Matthews e Endress, 2002); assim como no endocarpo de algumas *Oxalis* (Sauer, 1933; Lourteig, 1994; Fiaschi e Conceição, 2005; Denardi e Oliveira, Cap. V, neste volume) e *Connarus* (Dickison, 1971; Forero, 1983; Jongkind, 1989; Forero e Costa, 2002).

Outro caráter endocárpico compartilhado por estes dois gêneros refere-se à ocorrência de estômatos em *C. suberosus*, relatada neste estudo, e em algumas espécies de *Oxalis* (Sauer, 1933; Denardi e Oliveira, Cap. V, neste volume). Em *C. suberosus*, os estômatos somente foram detectados a partir da expansão do pericarpo, mostrando-se obliterados na maturidade deste órgão; assim, sua atividade, aparentemente, relaciona-se ao período de maior crescimento da semente, que se inicia após a expansão do pericarpo, durante o qual tais estruturas provavelmente promovem as trocas gasosas da cavidade seminal.

Segundo Jongkind (1989), em todas as espécies de *Connarus*, o desenvolvimento da semente é incipiente até a completa expansão do pericarpo. Esse padrão aplica-se a *C. suberosus*, com a ressalva que o mesocarpo externo alonga-se integralmente apenas na fase de maturação do pericarpo. Também em algumas Fabaceae, como *Inga fagifolia* (Oliveira e Beltrati, 1993), *Acacia paniculata* (Souza, 1993) e *Pterocarpus violaceus* (Nakamura e Oliveira, 2005), o desenvolvimento do pericarpo e da semente não são concomitantes, e a diferenciação seminal ocorre após a maturação do pericarpo. Segundo Nitsch (1953), a alternância entre o crescimento pericárpico e seminal indica que estes processos competem por nutrientes; Souza (1993) atribuiu essa defasagem à inexistência de um sistema estruturalmente adequado do pericarpo jovem de *A. paniculata* para proteger suas sementes imaturas, o qual só se constitui com a maturação dos tecidos esclerenquimáticos. O pericarpo de *C. suberosus*

dispõe de barreiras mecânicas e químicas que conferem alguma proteção à semente em desenvolvimento; assim a hipótese apresentada por Nitsch (1953) parece mais adequada a esta espécie, que ocorre em áreas de cerrado, onde os solos geralmente são distróficos.

Diferentemente das espécies de Fabaceae referidas acima, a maturação dos tecidos seminais de *C. suberosus* ocorre quando o pericarpo encontra-se parcialmente diferenciado, o qual reassume o crescimento, mediante expansão radial das células parenquimáticas do mesocarpo externo, ao término da diferenciação embrionária. A retomada do alongamento pericárpico após a maturação da semente é típica de frutos carnosos, especialmente os drupáceos (ver Roth, 1977).

Segundo Fahn e Zohari (1955), a deiscência ativa de frutos de Fabaceae requer a disposição cruzada de células esclerenquimáticas e/ou de suas micelas de celulose e a presença de um tecido de separação estendendo-se, na região de sutura, da epiderme interna à externa. Considerando que *C. suberosus* apresenta a maioria das fibras do mesocarpo interno e aquelas associadas aos feixes vasculares orientadas diagonalmente em relação ao eixo longitudinal do folículo, é provável que a expansão radial do mesocarpo externo represente parte de um mecanismo de turgor, que determina a deiscência do pericarpo. Os apontamentos sobre a anatomia do pericarpo de algumas Connaraceae, apresentados por Corner (1976), aparentemente indicam a ocorrência deste mecanismo na família, visto que o folículo de *C. monocarpus* é desprovido de um estrato esclerenquimático, enquanto *Jollydora duparquetiana*, cujos frutos são indeiscentes, possui mesocarpo interno não-especializado e a porção externa do mesocarpo esclereificada.

As observações realizadas por Corner (1976) parecem revelar a existência de uma estrutura pericárpica fundamental em *Connarus*, representada por seis estratos: epiderme externa unisseriada; córtex externo parenquimático, com numerosas células pétreas e grupamentos dispersos de células contendo resina; uma faixa estreita de numerosos feixes vasculares revestidos por fibras; córtex interno aerenquimatoso; endocarpo fibroso ou não-especializado; e epiderme interna. Tomada a devida cautela quanto à terminologia utilizada pelo autor, pode-se inferir que *C. suberosus* ajusta-se ao referido padrão.

Corner (1976) destacou que a semente das Connaraceae é uma das mais distintas entre dicotiledôneas. Suas principais características são a forma pré-rafeal, a testa preta com paliçada exotestal firme mas não lignificada, o exotégmen fibroso, a presença de feixe vascular pré-rafeal, o arilo calazal, o embrião grande e o aroma semelhante ao de feijão exalado por tecidos triturados.

Segundo Corner (1976), a semente pré-rafeal está em via de se tornar ortótropa; assim, a construção hemítropa observada em *C. suberosus*, a qual preserva a vascularização pré-rafeal, parece representar um estágio transicional posterior à forma pré-rafeal. Corner (1976) referiu-se à semente de *C. semidecandrus* como hemítropa e vascularizada por vigoroso feixe pré-rafeal. Interessantemente, *C. suberosus* possui semente vascularizada por um complexo de feixes que irriga as regiões rafeal e pré-rafeal.

A excrescência carnosa da semente de *C. suberosus*, a qual se desenvolve sobre a rafe e calaza, foi tratada neste trabalho como arilo, que é um termo aplicado genericamente a apêndices carnosos de sementes, por autores como Corner (1976) e Kapil, Bor e Bouman (1980); em Connaraceae, no entanto, tais estruturas foram indistintamente consideradas como complexos arilo sarcotesta-calazal (Corner, 1976), arilóides (Forero, 1983) ou sarcotestas (Jongkind, 1989). Cabe destacar que as espécies estudadas por Corner (1976) não apresentaram arilo vascularizado; em *C. suberosus*, ele recebe terminações vasculares na região proximal.

Segundo Corner (1976), as sementes de Connaraceae são exotestais, com exotégmen mais ou menos desenvolvido; o mesofilo de ambos os tegumentos é multiplicativo, mas o tégmen é reabsorvido durante o desenvolvimento, com exceção do exotégmen, que se mantém como uma camada, às vezes interrupta, de fibras lignificadas, dispostas longitudinalmente. Nas sementes de *C. suberosus*, além destas características, observou-se que a endotesta e o exotégmen são multiplicativos, diferenciando-se, respectivamente, como um extrato parenquimático, irregularmente multisseriado, e uma camada de fibras lignificadas, descontínua e pontualmente bisseriada. Ainda de acordo com Corner (1976), o exotégmen fibroso relaciona Connaraceae a famílias como Oxalidaceae, ambas pertencentes a Oxalidales; Boesewinkel (1985) apontou, ainda, a ocorrência de endotesta cristalífera em ambas as famílias, característica também verificada neste trabalho.

Connarus suberosus também difere das espécies examinadas por Corner (1976), devido à ocorrência de camadas mesotégmicas esclerificadas e à adnação da epiderme endospermica ao tegumento.

Na região rafe-calazal, os estratos esclerenquimáticos apresentam-se mais conspícuos que em outras partes da semente de *C. suberosus*, constituindo-se de exotégmen contínuo e comumente bisseriado, subtendido na calaza, por esclereídes de origem mesotégmica. Considerando que o arilo tem origem rafe-calazal, a presença de tecido mecânico nesta região reduz a vulnerabilidade do embrião.

Corner (1976) e demais autores referidos neste trabalho não mencionaram o tipo de desenvolvimento do endosperma de Connaraceae. Em *C. suberosus*, observou-se que a

formação do endosperma progride, inicialmente, de forma nuclear, sendo ampliado, após a citocinese, mediante atividade meristemática que se instala nas células epidérmicas e derivadas próximas. As divisões periclinais dessas células determinam o arranjo radial observado na porção externa deste tecido. Este tipo de endosperma, denominado núcleo-celular, foi recentemente descrito por Oliveira (2007) e também ocorre em *Oxalis cytisoides* (Denardi e Oliveira, Cap. V, neste volume).

Freqüentemente, as células endospérmicas de *C. suberosus* exibem núcleos volumosos, com dois a três nucléolos. Vijayaraghavan e Prabhakar (1984) e Werker (1997) relataram que o aumento de tamanho dos núcleos endospérmicos geralmente é ocasionado por poliploidia, mediante endoreduplicação, inibição mitótica no decorrer da prófase ou metáfase, entre outros processos; contudo, o número de nucléolos não constitui um índice do nível de ploidia. Os autores evidenciaram, também, que a endopoliploidia é um mecanismo controlado geneticamente, que aumenta a síntese de macromoléculas, principalmente proteínas e carboidratos, requeridas para o desenvolvimento do endosperma e do embrião.

Quase todo endosperma de *C. suberosus* é consumido, durante o desenvolvimento do embrião, exceto a epiderme, que se torna fortemente adnata ao tegumento. O estrato péctico amorfo, observado na fase precedente à celularização dos núcleos endospérmicos, provavelmente, é responsável por essa concrecência. Na semente madura, as células do endosperma possuem paredes pécticas, pequenos vacúolos com conteúdo fenólico e nenhum depósito de material nutritivo. Segundo Werker (1997), em certos *taxa*, o endosperma relaciona-se à proteção física do embrião ou favorece a embebição da semente, dependendo, respectivamente, da natureza rígida ou mucilaginosa do espessamento parietal. Em *C. suberosus*, parece pouco provável que este tecido tome parte importante na absorção de água durante a germinação, tendo em vista que as paredes celulares não apresentam espessamento significativo e a natureza hidrofóbica dos compostos fenólicos acumulados nos vacúolos. A ocorrência de camadas endospérmicas em sementes de *Connarus* não foi relatada em estudos prévios e a ausência delas foi interpretada por Forero (1983) como um dos caracteres que distinguem *Connarus* de *Cnestidium*. É possível que o endosperma residual esteja presente em outras espécies de *Connarus*, mas sua observação seja prejudicada pela junção entre ele o tegumento.

O embrião de *C. suberosus* é plano-convexo, do tipo invaginado, e apresenta radícula posicionada no canal micropilar. Jongkind (1989) relatou que, em parte das espécies de *Rourea* e *Connarus*, a radícula localiza-se mais ou menos ventral ou dorsalmente, enquanto a

micrópila é apical, como nas demais Connaraceae. Em *C. staudtii* e *C. congolanus*, o autor observou a radícula no centro da semente, envolta por cotilédones peltados.

Alguns caracteres estruturais de *C. suberosus*, observados neste estudo, como a ocorrência de tricomas, compostos fenólicos e cavidades contendo resinas, são considerados xeromorfos (Fahn e Cutler, 1992); assim possuem valor adaptativo em condições como as do cerrado. Os tricomas dendróides que revestem sépalas, ovário e fruto são típicos de *Connarus*, no âmbito das Connaraceae (Dickison, 1973a). O arranjo compacto desses tricomas, especialmente na superfície do ovário e frutos jovens, sugere que atuem como uma barreira mecânica contra herbívoros e patógenos, excesso de luminosidade, temperaturas extremas e transpiração excessiva (Werker, 2000; Wagner *et al.*, 2004). Os compostos fenólicos, os quais se mostraram amplamente distribuídos nos tecidos pericárpicos e seminais durante o desenvolvimento, fornecem proteção contra fungos e bactérias, mas também representam importantes dissuasores alimentares de herbívoros (Swain, 1979). A presença de tais substâncias em vacúolos e paredes celulares do tegumento seminal maduro, conforme se observou em *C. suberosus*, confere-lhe, além da coloração enegrecida, dureza e impermeabilidade à água (Werker, 1997). O número elevado de cavidades contendo resina, as quais ocorrem em todos os órgãos estudados, pode se relacionar à redução de perdas hídricas (Fahn e Cutler, 1992), ou à defesa química (Farrell *et al.*, 1991). No pericarpo, a retenção de água também é assegurada pela cutícula espessa (Fahn e Cutler, 1992) e por fibras gelatinosas (Paviani, 1978) associadas a feixes vasculares ou ao tecido de separação.

AGRADECIMENTOS

Nós somos gratos a Luciano C. Milhomens, por realizar a identificação da espécie, e à FAPESP (Programa BIOTA, proc. nº 00/12469-3), pelo apoio financeiro. João D. Denardi agradece à CAPES pela concessão da bolsa PICDT e D.M.T. Oliveira ao CNPq, pela bolsa de produtividade em pesquisa.

LITERATURA CITADA

- APG. 2003.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141(4).
- Barroso GM, Morim MP, Peixoto AL, Ichaso CLF. 1999.** *Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.

- Behnke HD. 1982.** Sieve-element plastids of Connaraceae and Oxalidaceae. A contribution to the knowledge of P-type plastids in dicotyledons and their significance. *Botanische Jahrbücher für Systematik* 103: 1-8.
- Boesewinkel FD. 1985.** Development of ovule and seed-coat in *Averrhoa* (Oxalidaceae) with notes on some related genera. *Acta Botanica Neerlandica* 34: 413-424.
- Breteler FJ. 1989.** *Connaraceae: a taxonomic study with emphasis on Africa*. Wageningen: Agricultural University Wageningen Papers.
- Corner E.J.H. 1976.** *The seeds of dicotyledons* Vol. 1. Cambridge: University Press.
- Cronquist A. 1981.** *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press.
- Davies JT, Barraclough G, Chase MW, Soltis PS, Soltis DE, Savolainen V. 2004.** Darwin's abominable mystery: insights from a supertree of the angiosperms. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Biological Sciences* 101: 1904-1909.
- Dickison WC. 1971.** Anatomical studies in the Connaraceae. I. Carpels. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society* 87: 77-86.
- Dickison WC. 1972.** Anatomical studies in the Connaraceae. II. Wood anatomy. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society* 88: 120-136.
- Dickison WC. 1973a.** Anatomical studies in the Connaraceae. III. Leaf anatomy. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society* 88: 120-136.
- Dickison WC. 1973b.** Anatomical studies in the Connaraceae. IV. The bark and young stem. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society* 89: 166-171.
- Dickison WC. 1975.** Studies on the floral anatomy of the Cunoniaceae. *American Journal of Botany* 62: 433-447.
- Estelita-Teixeira ME. 1984.** Morfologia floral de três espécies de *Oxalis* L. *Revista Brasileira de Botânica* 7: 41-48.
- Eyde RH. 1970.** Anatomy. In: Cuatrecasas J, ed. *Brunelliaceae. Flora Neotropica Monographs* 2: 32-43.
- Fahn A, Cutler DF. 1992.** *Xerophytes*. Berlin: Gebrüder Borntraeger.
- Fahn A, Zohary M. 1955.** On the pericarpial structure of the legumen, its evolution and relation to dehiscence. *Phytomorphology* 5: 99 -111.
- Farrel BD, Dussourd DE, Mitter C. 1991.** Escalation of plant defense: do latex and resin canals spur plant diversification? *The American Naturalist* 138: 881-900.

- Fiaschi P, Conceição AA. 2005.** Oxalidaceae. In: Wanderley MGL, Shepherd GJ, Melhem TS, Martins SE, Kirizawa M, Giulietti AM, eds. *Flora fanerogâmica do estado de São Paulo* Vol. 3. São Paulo: Rima, 301-315.
- Forero E. 1983.** Connaraceae. *Flora Neotropica Monograph* 36: 1-208.
- Forero E, Costa CB. 2002.** Connaraceae. In: Wanderley MGL, Shepherd GJ, Giulietti AM, eds. *Flora fanerogâmica do estado de São Paulo* Vol. 2. São Paulo: FAPESP/HUCITEC, 85-92.
- Franklin GL. 1945.** Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature* 155: 51.
- French JC. 1987.** Structure of ovular and placental trichomes of Araceae. *Botanical Gazette* 148: 198-208.
- Fuchs CH. 1963.** Fuchsin staining with NaOH clearing for lignified elements of whole plants or plants organs. *Stain Thecnology* 38: 141 - 144.
- Heimsch C. 1942.** Comparative anatomy of the secondary xylem in the Gruinales and Terebinthales of Wettstein with reference to taxonomic grouping. *Lilloa* 8: 83-198.
- Hufford L. 1992.** Rosidae and their relationships to other non-magnoliid dicotyledons: a phylogenetic analysis using morphological and chemical data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 79: 218-248.
- Hutchinson J. 1969.** *Evolution and Phylogeny of Flowering Plants*. London: Academic Press.
- Jensen WA. 1962.** *Botanical histochemistry: principles and practice*. San Francisco: W. H. Freeman.
- Johansen DA. 1940.** *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill.
- Jongkind CCH. 1989.** Fruits and seeds. In: Breteler FJ, ed. *The Connaraceae: a taxonomic study with emphasis on Africa*. Wageningen: Agricultural University Wageningen Papers, 43-48.
- Kapil RN, Bor J, Bouman F. 1980.** Seed appendages in Angiosperms. I. Introduction. *Botanische Jahrbucher fur systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 101: 555-573.
- Kraus JE, Arduin M. 1997.** *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Seropédica: EDUR.
- Leenhouts PW. 1958.** Connaraceae. In: van Steenis CGGJ, ed. *Flora Malesiana* 5: 495-541.
- Lourteig A. 1994.** *Oxalis* L. subgênero *Thamnoxys* (Endl.) Reiche emend. Lourt. *Bradea* 7: 1-199.

- Martin AC. 1946.** The comparative internal morphology seeds. *The American Midland Naturalist* 36: 513-660.
- Matthews ML, Endress PK. 2002.** Comparative floral structure and systematics in Oxalidales (Oxalidaceae, Connaraceae, Brunelliaceae, Cephalotaceae, Cunoniaceae, Elaeocarpaceae, Tremandraceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 140: 321-381.
- Mazia JC, Bremer PA, Alfert M. 1953.** The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. *Biological Bulletin* 110: 57-67.
- Nakamura AT, Oliveira DMT. 2005.** Morfoanatomia e ontogênese da sâmara de *Pterocarpus violaceus* Vogel (Fabaceae: Faboideae). *Revista Brasileira de Botânica* 28: 375 - 387.
- Nandi O, Chase MW, Endress PK. 1998.** A combined cladistic analysis of angiosperm using *rbcL* and non-molecular data sets. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 85: 137-212.
- Nitsch JP. 1953.** The physiology of fruit growth. *Annual Review of plant physiology* 4: 199-236.
- O'Brien TP, Feder N, McCully ME. 1964.** Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- Oliveira DMT, Beltrati CM. 1993.** Aspectos anatômicos dos frutos e sementes em desenvolvimento de *Inga fagifolia* (Fabaceae: Mimosoideae). *Revista Brasileira de Biologia* 53: 625-636.
- Oliveira JHG. 2007.** Morfoanatomia e ontogênese do fruto e semente de *Manihot caerulescens* e *M. tripartita* (Euphorbiaceae). Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Paviani TI. 1978.** Anatomia vegetal e cerrado. *Ciência e Cultura* 30: 1076-1086.
- Roth I. 1977.** *Fruits of Angiosperms*. Berlin: Gebrüder Borntraeger.
- Sass JE. 1951.** *Botanical microtechnique*. Ames: Iowa State University.
- Sauer H. 1933.** Blüte und frucht der Oxalidaceen, Linaceen, Geraniaceen, Tropaelaceen und Balsaminaceen, vergleichend-entwicklungsgeschichtliche untersuchungen. *Planta* 19: 417-481.
- Savolainen V, Fay MF, Albach DC, Backlund A, Bank VDM, Cameron KM, Johnson SA, Lledo MD, Pintaud JC, Powell M, Sheahan MC, Soltis DE, Weston P, Whitten WM, Wurdack KJ, Chase MW. 2000.** Phylogeny of the eudicots: a nearly complete familial analysis based on *rbcL* gene sequences. *Kew Bulletin* 55: 257-309.

- Schellenberg G. 1938.** Connaraceae. In: Engler A, ed. *Das Pflanzenreich*, IV, 127. Leipzig: Engelmann.
- Soltis DE, Soltis PS, Chase MW, Mort ME, Albach DC, Zanis M, Savolainen V, Hahn WH, Hoot SB, Fay MF, Axtell M, Swensen SM, Prince LM, Kress WJ, Nixon CK, Farris JS. 2000.** Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, rbcL, and atpB sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 133: 381-461.
- Souza LA. 1993.** Morfo-anatomia do desenvolvimento do fruto de *Acacia paniculata* Willd. (Leguminosae). *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 36: 851 -871.
- Sterling C. 1953.** The affinities of *Prinsepia* (Rosaceae). *American Journal of Botany* 50: 693-699.
- Sterling C. 1969.** Comparative morphology of the carpel in the Rosaceae. X. Evaluation and summary. *Osterreichische Botanische Zeitschrift* 116: 46-54.
- Stevens PF. 2007.** Angiosperm Phylogeny Website. Version 8. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (acesso em 10/11/2007).
- Swain T. 1979.** Tanins and lignins. In: Rosenthal GA, Janzen DH, eds. *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. New York: Academic Press, 657-682.
- Takhtajan A. 1969.** *Flowering plants, origin and dispersal*. Edinburgh: Oliver & Boyd.
- Takhtajan A. 1997.** *Diversity and Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Tucker SC, Kantz KE. 2001.** Open carpels with ovules in Fabaceae. *International Journal of Plant Sciences* 162: 1065-1073.
- Vijayaraghavan MR, Prabhakar K. 1984.** The endosperm. In: Johri BM, ed. *Embriology of angiosperms*. Berlin: Springer 319 -376.
- Wagner GJ, Wang E, Shepherd RW. 2004.** New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. *Annals of Botany* 92: 2-11.
- Werker E. 1997.** *Seed anatomy*. Berlin: Gebrüder Borntraeger.
- Werker E. 2000.** Trichome diversity and development. *Advances Botanical Research* 31: 1-35.
- Zhang L, Simmons MP. 2006.** Phylogeny and delimitation of the Celastrales inferred from nuclear and plastid genes. *Systematic Botany* 21: 122-137.

Ilustrações

Fig. 1. Ovário de botões florais e flores em antese de *Connarus suberosus*. Secção longitudinal (A); secções transversais (B-H). (A) Detalhe do ginóforo e região basal do ovário na antese. (B-D) Ovário de botões florais mostrando, respectivamente, margens carpelares livres, parcialmente fundidas congenitamente e completamente fechadas ontogeneticamente. (E) Aspecto geral do ovário, cujos óvulos diferem quanto às dimensões. (F-H) Detalhes das regiões dorsal, ventral e lateral do ovário, respectivamente; notar que a cavidade secretora é delimitada por epitélio. (I) Detalhe de um tricoma dendróide. (db, feixe dorsal; ie, epiderme interna; im, mesofilo interno; ls, cordão vascular lateral; mm, mesofilo médio; oe, epiderme externa; om, mesofilo externo; sc, cavidade secretora; ponta de seta, sutura; seta, reentrância). Barras de escala = 100 μm (A, E); 25 μm (B, F, H); 50 μm (C-D, G, I).

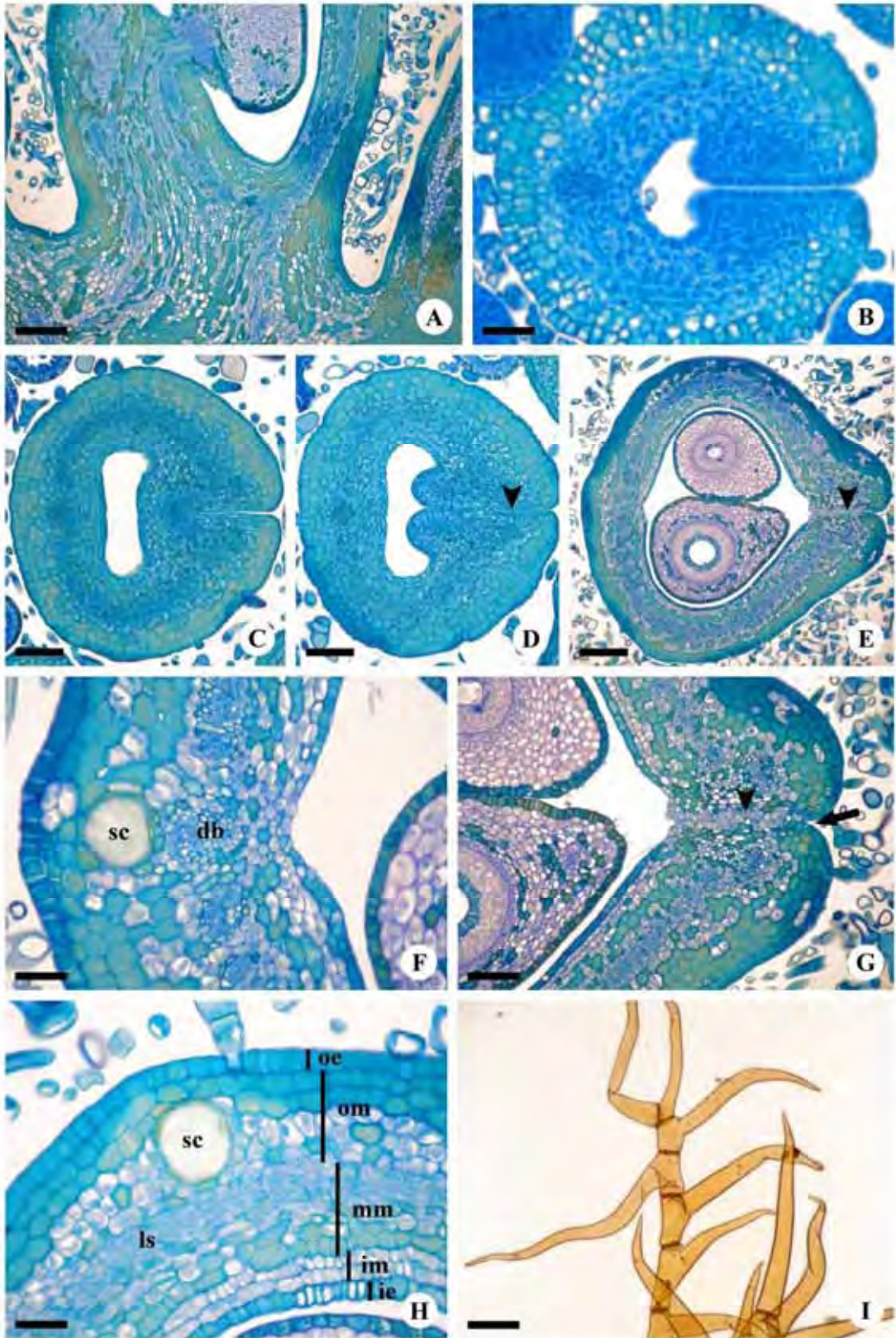


Fig. 2. Diagramas de secções transversais do ginóforo (A) e ovário (B-E) de flor longistila de *Connarus suberosus* no início da antese, ilustrando a vascularização destes órgãos. (A) Emissão de traços ovulares a partir de feixes próximos do dorsal, originando uma lacuna parenquimática no cilindro vascular. (B) Região basal do ovário, onde se observa o início da diferenciação do lóculo, acima da lacuna parenquimática, ampliada em decorrência da migração dos traços ovulares para a região ventral, que também é vascularizada pelos traços alas e traços de feixes marginais secundários. (C) Região basal do ovário, abaixo da placenta, ilustrando a emissão de traços vasculares, a partir dos feixes alas (seta). (D) Ovário seccionado no nível das inserções ovulares, destacando o complexo ovular resultante da fusão das faixas ovulares àquelas derivadas dos feixes alas. (E) Ovário seccionado acima das inserções ovulares, mostrando os complexos vasculares ventrais produzidos pela fusão de feixes alas aos feixes marginais secundários. (db, feixe dorsal; dt, traço dorsal; lo, lóculo; ls, faixa procambial lateral; mb, feixe marginal secundário; mt, traço marginal secundário; oc, complexo vascular ovular; ot, traço ovular; ov, óvulo; pl, lacuna parenquimática; vc, complexo vascular ventral; wt, traço ala). Barras de escala = 100 μm (A-E).

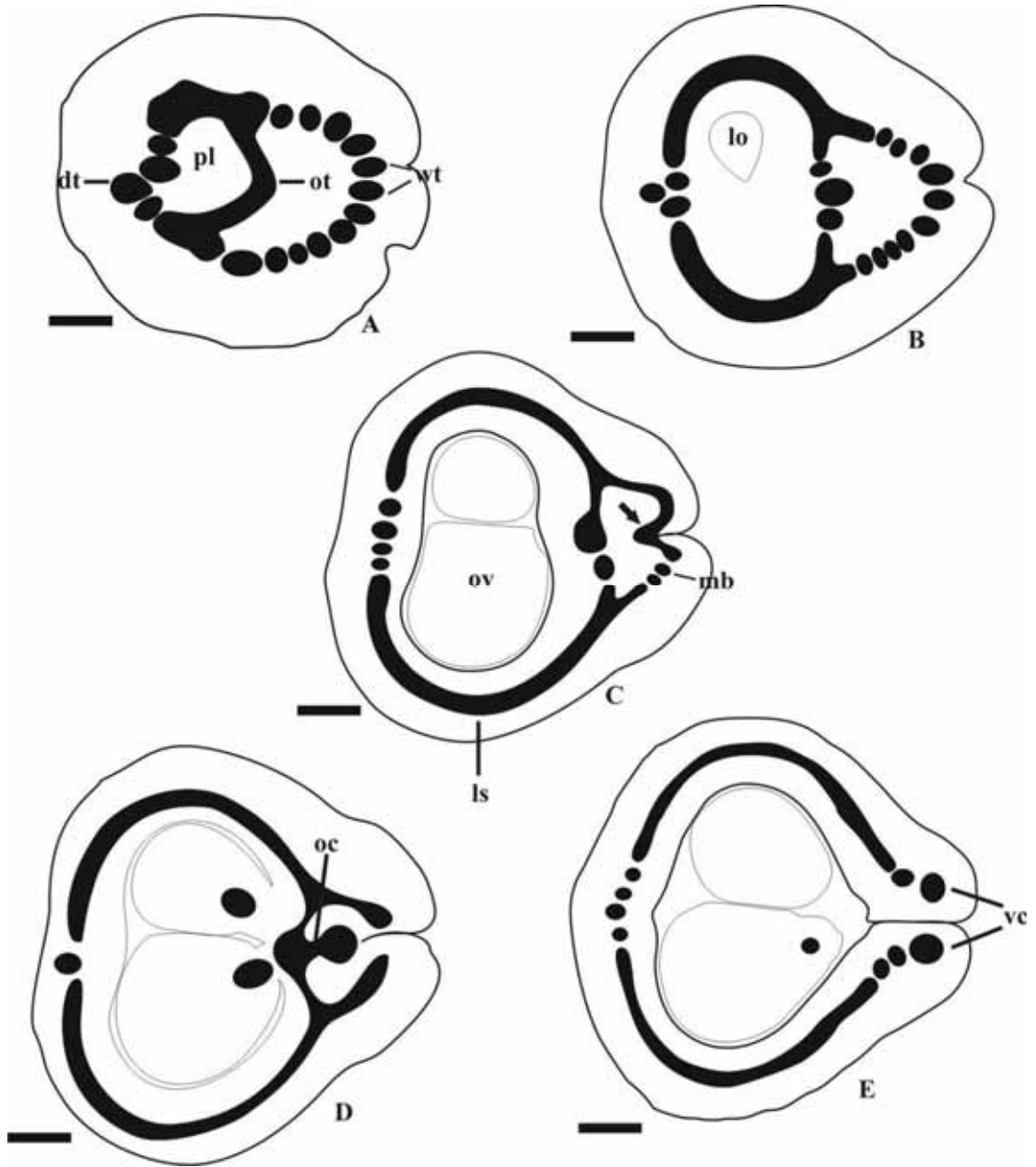


Fig. 3. Botões florais e flores em antese de *Connarus suberosus*. Secções transversais (A, C, E-G) e longitudinais (B, D). (A) Aspecto geral do ovário de flor em antese, apresentando um óvulo abortado. (B-C) Detalhes de óvulos férteis. (D) Detalhe de um primórdio ovular, mostrando o megasporocito. (E) Aspecto geral de um botão floral, mostrando anteras cujo pólen foi absorvido e ovário com óvulo apresentando endosperma em desenvolvimento. (F-G) Respectivamente, detalhes de uma antera e do óvulo com núcleos endospermicos, vistos em (E). (en, endóstoma; eu, núcleo endospermico; ex, exóstoma; nu, nucelo; oe, tegumento externo; oi, tegumento interno; rb, feixe rafeal). Barras de escala = 100 μm (A-B, E); 25 μm (C, G); 10 μm (D); 50 μm (F).

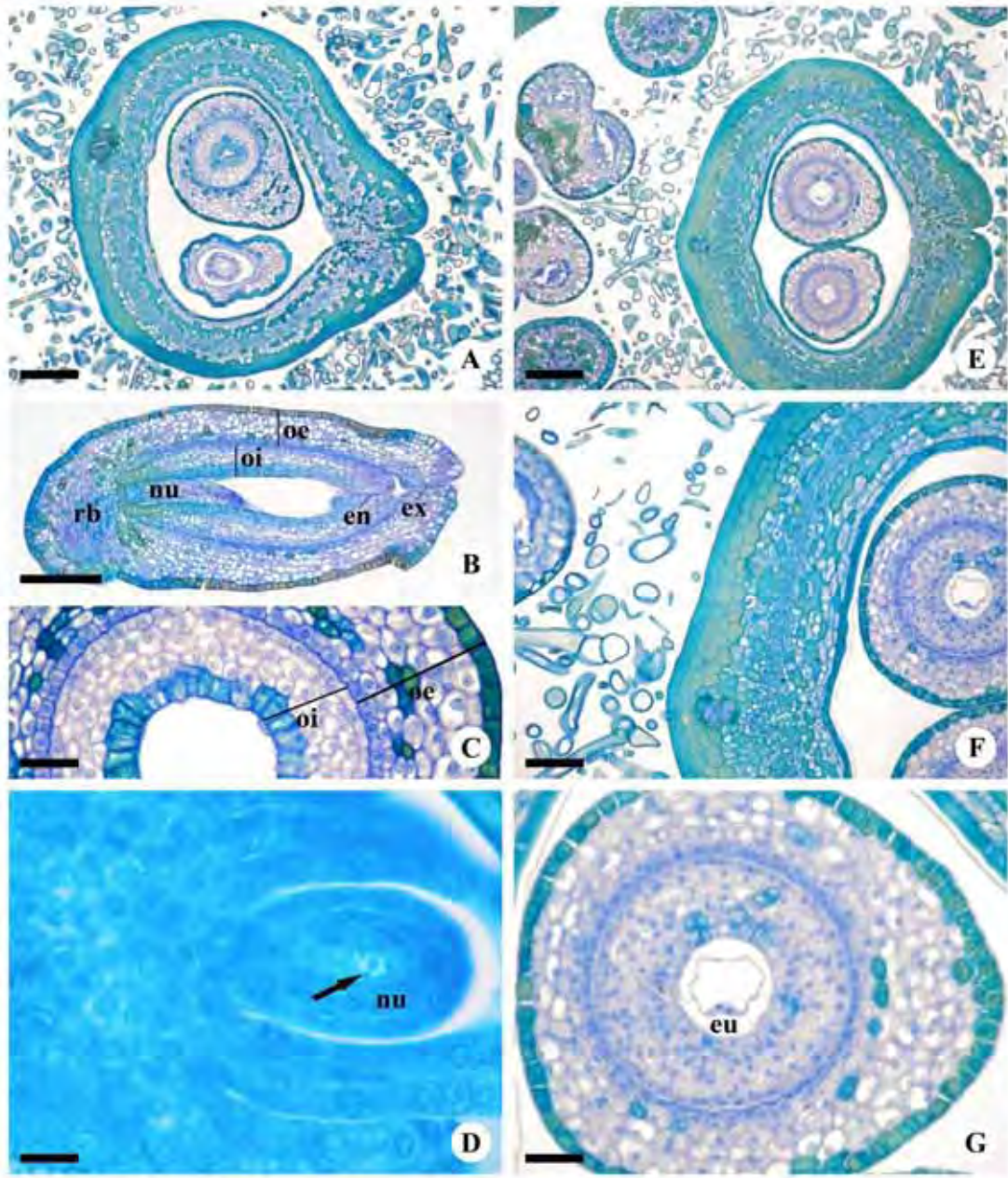


Fig. 4. Secções transversais do pericarpo de *Connarus suberosus* em atividade meristemática. (A) Detalhe da região dorsal; notar tricomas dendróides em desenvolvimento no exocarpo e divisões anticlinais das células comuns; no mesocarpo externo, notar inúmeras divisões em planos aleatórios. (B) Detalhe da região lateral. (C) Detalhe do exocarpo e mesocarpo externo. (D) Detalhe da região ventral, logo acima da inserção da semente; notar feixes vasculares derivados da vascularização ala (seta escura) e das faixas ovulares (seta clara). (E) Detalhe do mesocarpo médio, mesocarpo interno e endocarpo, no qual se observa um trecho multisseriado (ponta de seta). (F) Tricoma endocárpico em desenvolvimento. (dm, mesocarpo médio; is, mesocarpo interno; om, mesocarpo externo; sc, cavidade secretora). Barras de escala = 50 μm (A-B); 25 μm (C-E); 100 μm (D); 10 μm (F).

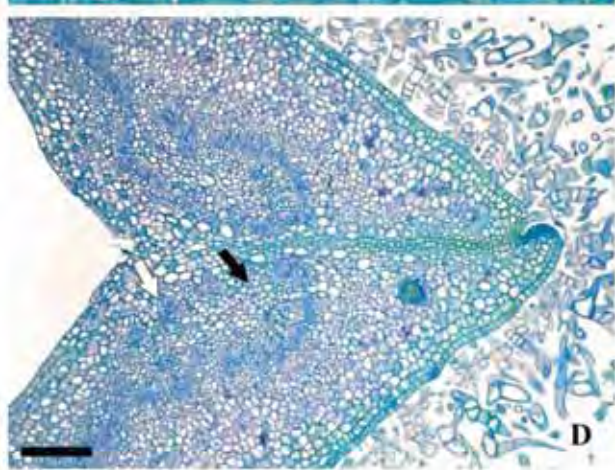
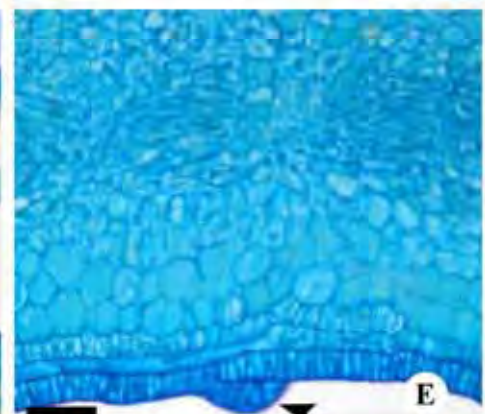
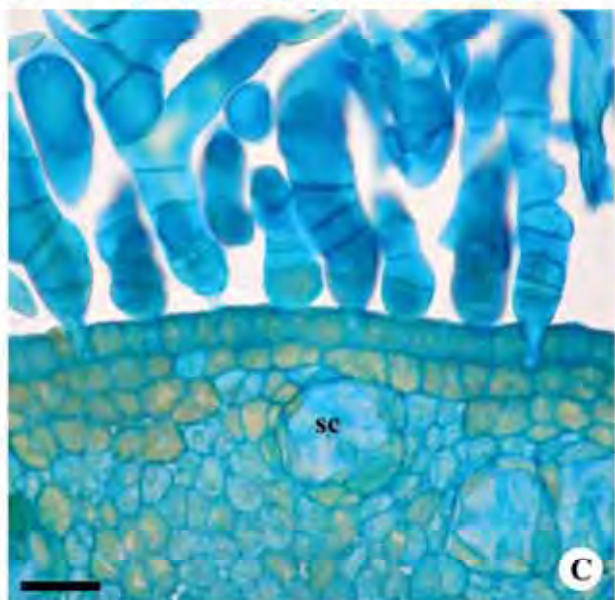
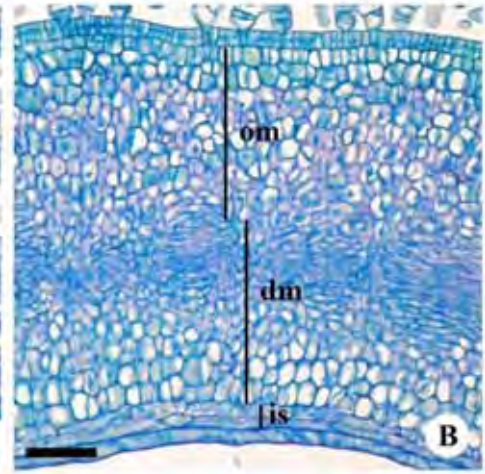
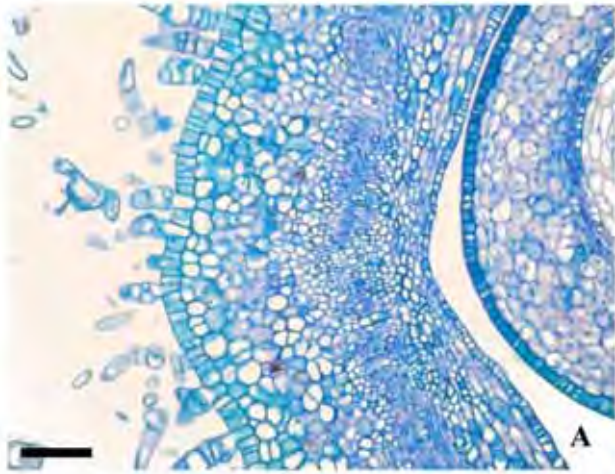


Fig. 5. Secções transversais do pericarpo de *Connarus suberosus* parcialmente expandido. (A) Aspecto geral da região lateral. (B) Detalhe do exocarpo e mesocarpo externo, com ampla cavidade secretora; notar estômato, com projeções cuticulares recobrimdo parcialmente o ostíolo. (C) Detalhe do mesocarpo médio e estratos subjacentes; notar feixes laterais parcialmente diferenciados. (D) Região ventral do pericarpo. (E) Detalhe das camadas internas do mesocarpo médio, mesocarpo interno e endocarpo com estômato (seta). (F) Tricoma endocárpico em fase secretora. (dm, mesocarpo médio; lb, feixe lateral; om, mesocarpo externo; sc, cavidade secretora; vc, complexo vascular ventral). Barras de escala = 100 μm (A); 25 μm (B, E); 50 μm (C); 100 μm (D); 10 μm (F).

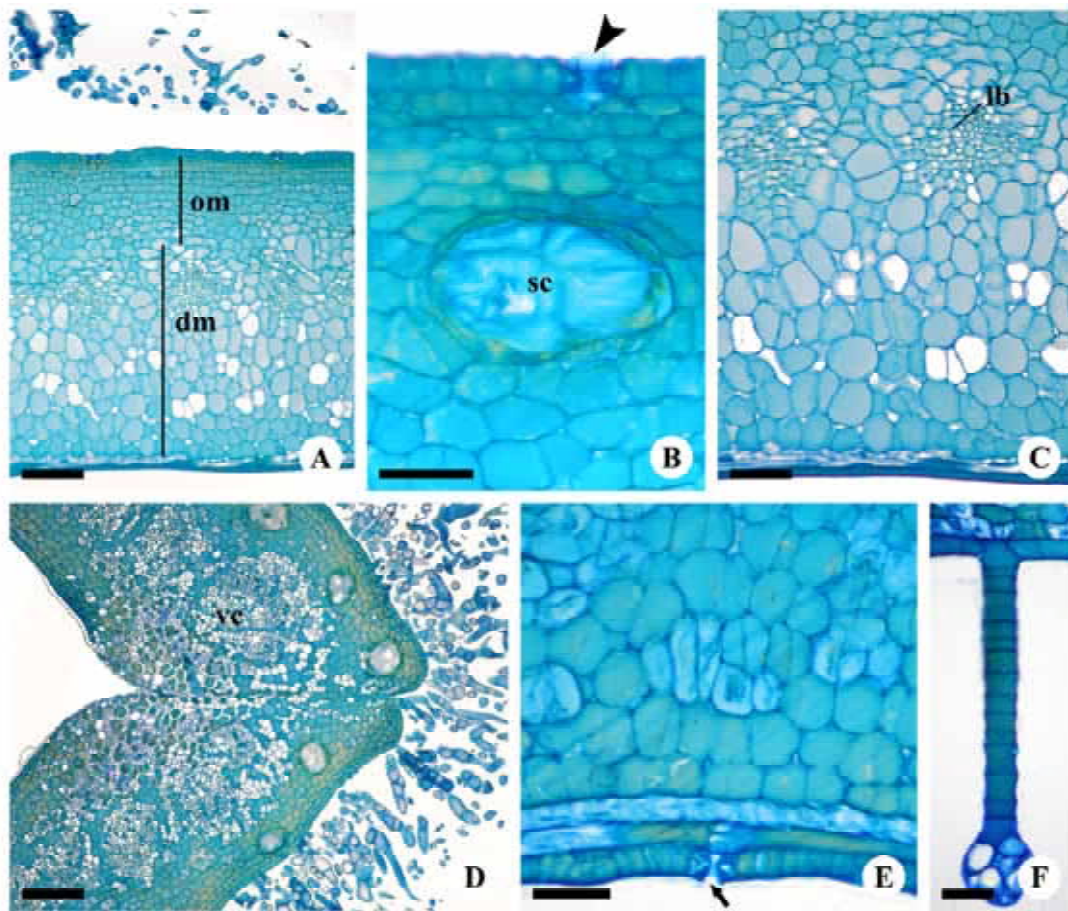


Fig. 6. Semente de *Connarus suberosus* em fase inicial de desenvolvimento, com predomínio de atividade meristemática. Secções transversais (A-C, F-G) e longitudinais (D-E, H). (A-B) Detalhes ilustrando a progressão da atividade meristemática na testa e a reabsorção do tégmen. (C) Detalhe da região calazal, onde o mesotégmen é multiplicativo; notar divisões periclinais na camada subexotestal (ponta de seta clara) e endotégmen colapsado (seta escura). (D) Aspecto geral do arilo rafe-calazal; notar arranjo radial de células fenólicas. (E) Detalhe do arilo, com terminações vasculares (seta clara) na porção proximal. (F) Detalhe do tegumento na região do complexo pré-rafeal; notar tégmen parcialmente colapsado e reabsorvido, onde se reconhece o exotégmen, algumas células colapsadas do mesotégmen e resquícios fenólicos do endotégmen, margeados internamente pelo endosperma nuclear. (G) Detalhe do tegumento na região calazal, no qual se evidencia um pequeno trecho bisseriado do exotégmen. (H) Detalhe da região micropilar, mostrando o estrato péctico (asterisco) que se interpõe entre o tégmen e o endosperma. (cr, complexo rafeal; eg, exotégmen; em, embrião; eo, endotesta; ep, endosperma; et, exotesta; mg, mesotégmen; mt, mesotesta; pc, complexo pré-rafeal; te, testa; tg, tégmen). Barras de escala = 25 μm (A-B); 50 μm (C); 100 μm (D-E); 50 μm (F); 25 μm (G-H).

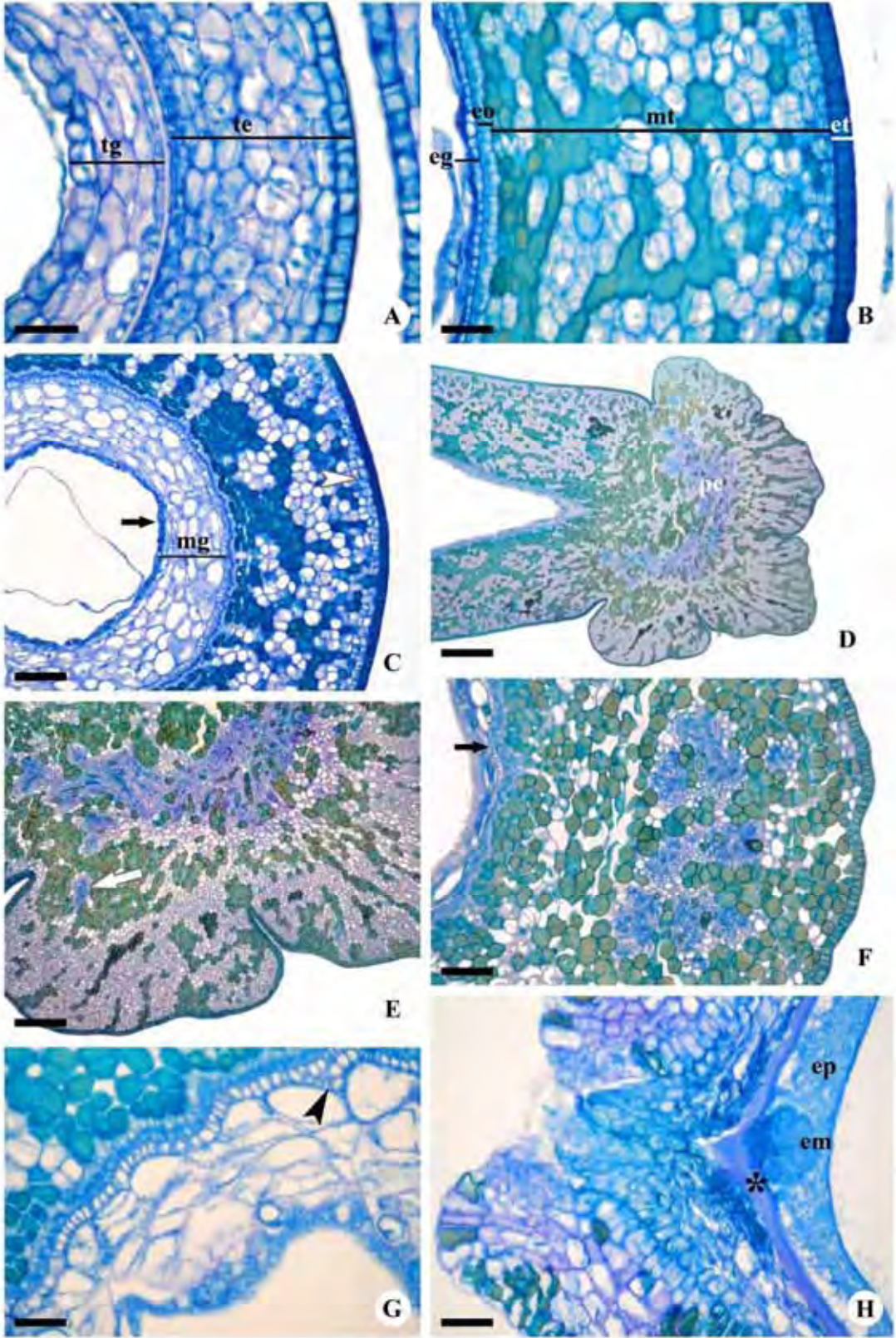


Fig. 7. Pericarpo de *Connarus suberosus* parcialmente diferenciado. Secções transversais (A-D, H); secções diagonais (F-G). (A) Aspecto geral da região lateral. (B) Detalhe do exocarpo, estômato (ponta de seta), mesocarpo externo e das fibras gelatinosas associadas a feixes vasculares. (C) Detalhe da região ventral; notar tecido de separação (dupla ponta de seta) e feixes derivados da vascularização ala (asterisco). (D) Detalhe das calotas de fibras gelatinosas que ladeiam o tecido de separação; notar conteúdo fenólico em várias fibras. (E) Aspecto do pericarpo diafanizado; observar disposição diagonal dos feixes laterais. (F) Detalhe da vascularização na região basal do pericarpo, evidenciando a origem de um feixe lateral, a partir do feixe marginal secundário distal; notar feixes derivados da faixa ovular (seta). (G) Detalhe de feixe lateral, com fibras gelatinosas septadas. (H) Detalhe de feixe lateral. (cf, calota de fibras; dm, mesocarpo médio; el, esclereídes; is, mesocarpo interno; lb, feixe lateral; mb, feixe marginal secundário; om, mesocarpo externo; sf, fibra gelatinosa septada; vc, complexo vascular ventral). Barras de escala = 100 μm (A, C); 25 μm (B, H); 50 μm (D, G); 3 mm (E); 200 μm (F).

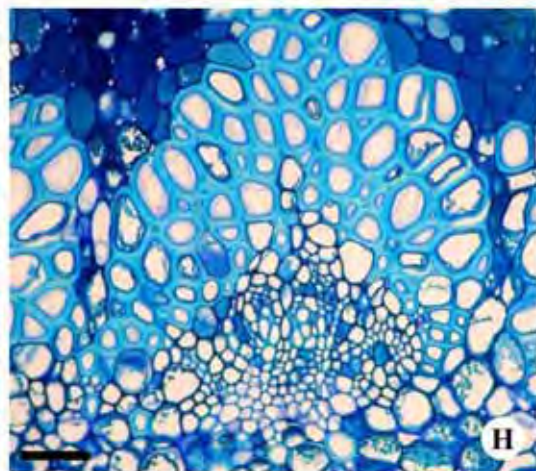
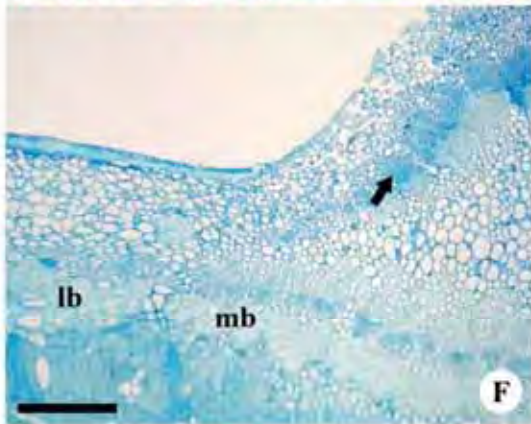
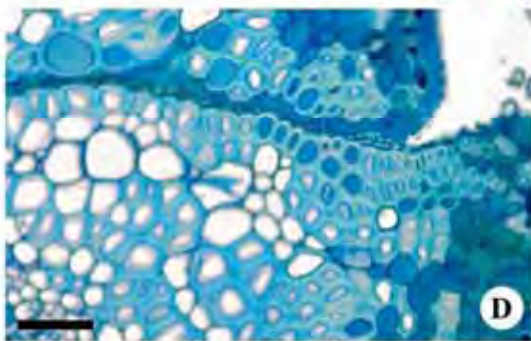
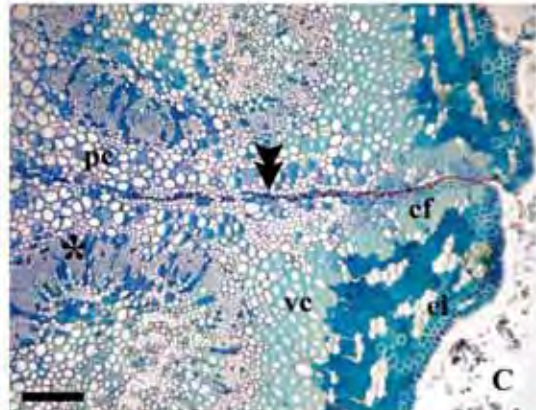
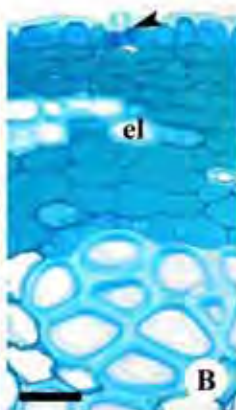
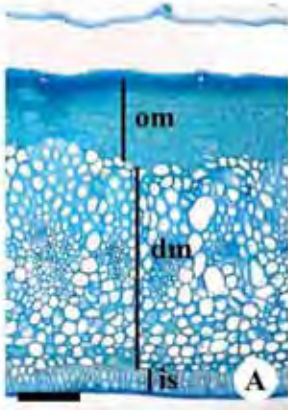


Fig. 8. Secções transversais do pericarpo maduro de *Connarus suberosus*. (A) Detalhe do mesocarpo médio e camadas subjacentes na região próxima ao feixe dorsal; notar esclereídes dispersas no tecido parenquimático (ponta de seta). (B-C) Detalhes das camadas internas do mesocarpo médio, mesocarpo interno e endocarpo; notar fibras com conteúdo fenólico (seta) e endocarpo pontualmente bisseriado (asterisco). (D) Aspecto geral da região lateral, alongada em comparação com a fase anterior (ver Fig. 7A). (dm, mesocarpo médio; is, mesocarpo interno; om, mesocarpo externo). Barras de escala = 50 μm (A-B); 25 μm (C); 100 μm (D).

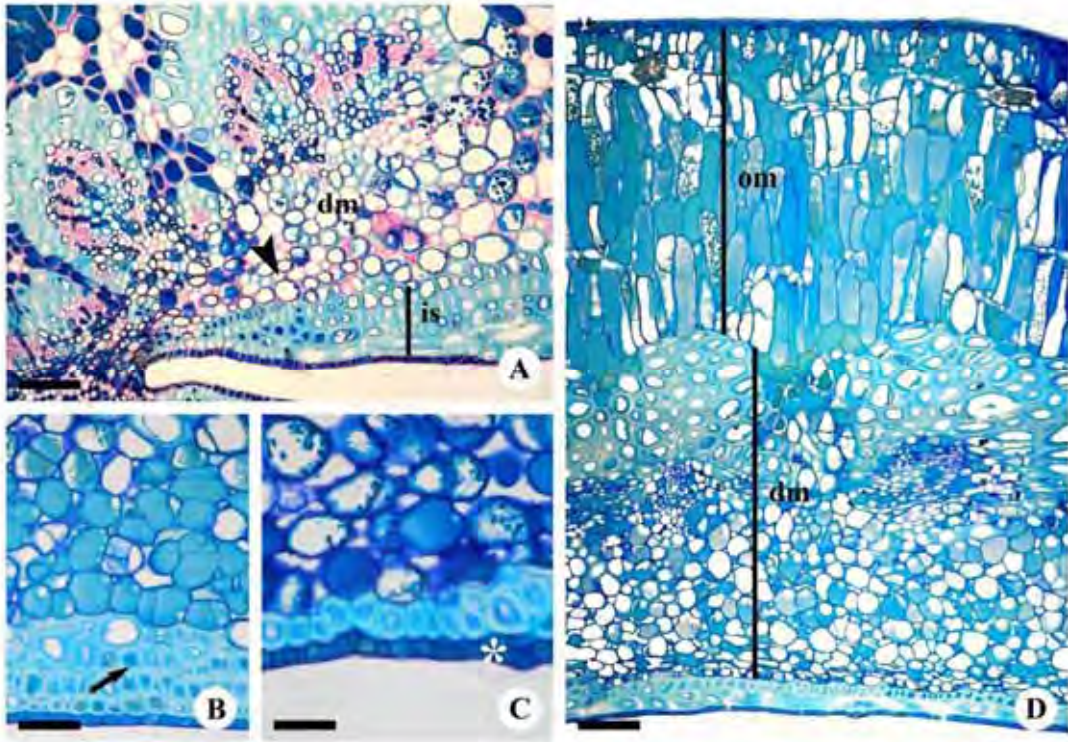


Fig. 9 Aspectos gerais do fruto (A-C) e da semente (D-E) maduros de *Connarus suberosus*. (A) Vista lateral. (B) Vista ventral do pericarpo após a deiscência. (C) Secção longitudinal mediana, expondo a semente. (D) Vista lateral; notar micrópila voltada para o ápice, hilo sub-basal e arilo rafe-calazal. (E) Vista hilar. Barras de escala = 10 mm (A-E).

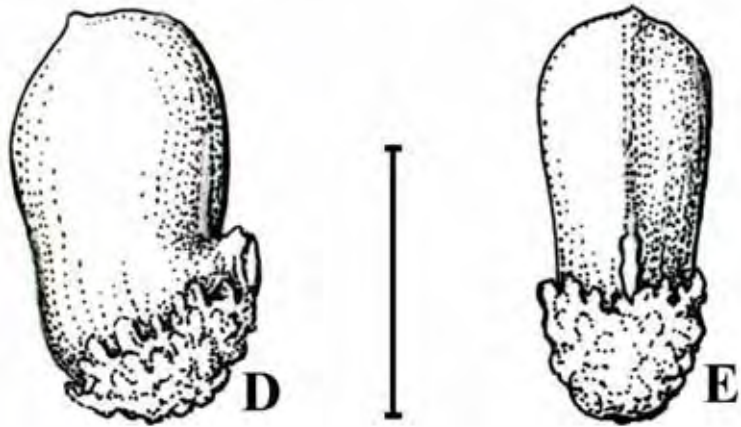
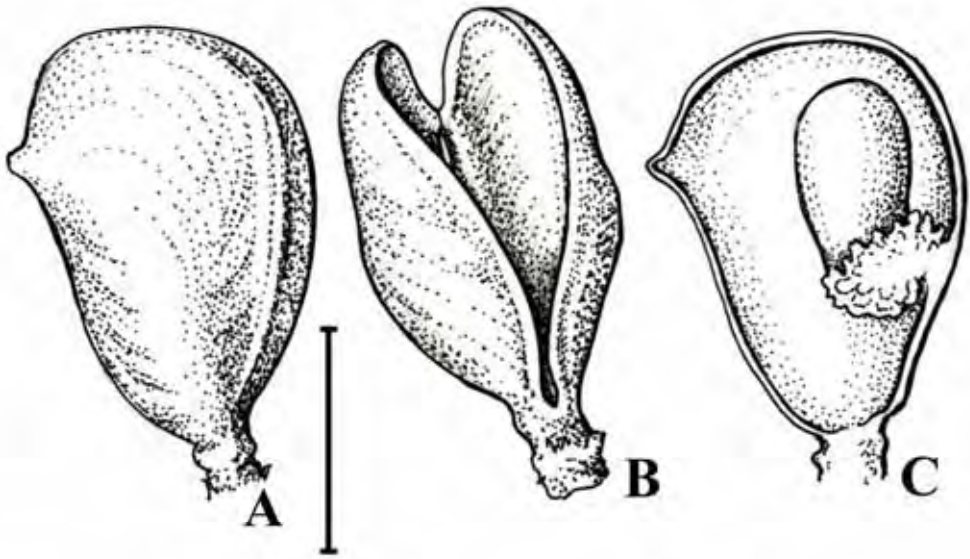


Tabela 1. Dimensões médias (cm) e peso fresco (g) do fruto de *C. suberosus*, seguidos dos respectivos valores de desvio-padrão e da amplitude de variação de cada parâmetro.

| | Média | Desvio padrão | Amplitude de variação |
|--------------------|--------------|----------------------|------------------------------|
| Comprimento | 2,67 | 5,81 | 1,42-3,47 |
| Largura | 1,41 | 2,95 | 0,95-1,93 |
| Espessura | 1,26 | 2,00 | 0,95-1,66 |
| Peso | 1,53 | 0,48 | 0,71-2,27 |

Tabela 2. Dimensões médias (cm) e peso fresco (g) da semente de *C. suberosus*, seguidos dos respectivos valores de desvio-padrão e da amplitude de variação de cada parâmetro.

| | Média | Desvio padrão | Amplitude de variação |
|--------------------|--------------|----------------------|------------------------------|
| Comprimento | 1,50 | 2,06 | 1,09-1,97 |
| Largura | 0,79 | 0,64 | 0,58-0,90 |
| Espessura | 0,58 | 0,45 | 0,50-0,70 |
| Peso | 0,49 | 0,07 | 0,29-0,65 |

Fig. 10. Semente de *Connarus suberosus* em diferenciação (A-B, F-G) e madura (C-E, H). Secções transversais (A-C, E-H) e longitudinal (D). (A-C) Detalhes do tegumento e tecidos subjacentes, ilustrando sucessivas modificações estruturais; notar camadas endospermicas adnatas ao tegumento (B-C), indicadas pela seta clara. (D-E) Respectivamente, aspecto geral e detalhe do arilo. (F) Detalhe de camadas mesotestais, endotesta multiplicativa, exotégmen e camadas endospermicas. (G) Aspecto geral da semente sob luz polarizada, mostrando cristais prismáticos na endotesta (seta escura), principalmente na anti-rafe e adjacências; as cavidades secretoras dos cotilédones e o xilema também se mostram refringentes. (H) Detalhe do tegumento na região calazal, abrangendo camadas mesotestais, complexo vascular rafeal, exotégmen, mesotégmen e camadas endospermicas adnatas (seta clara). (co, cotilédone; eg, exotégmen; eo, endotesta; ep, endosperma; et, exotesta; mg, mesotégmen; mt, mesotesta). Barras de escala = 50 μm (A-B, H); 25 μm (C, E-F); 200 μm (D); 400 μm (G).

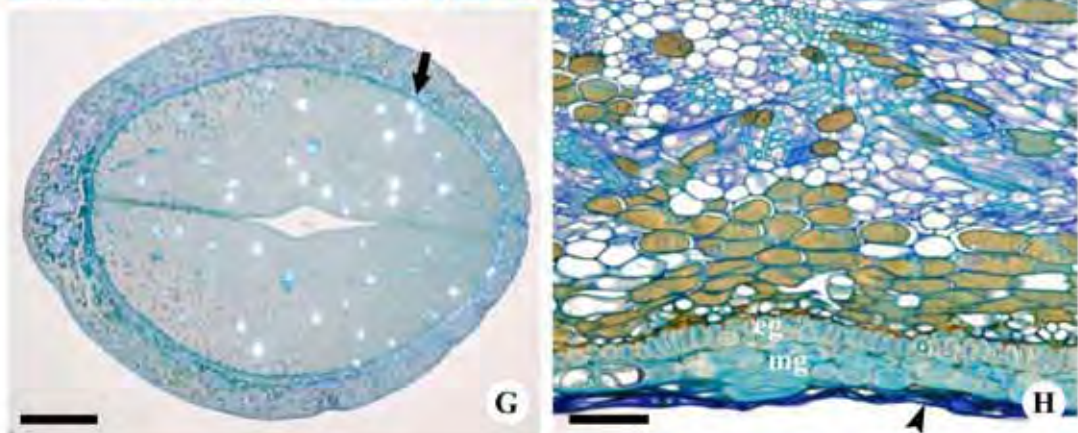
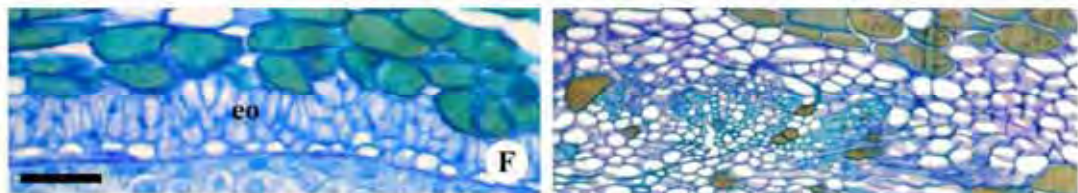
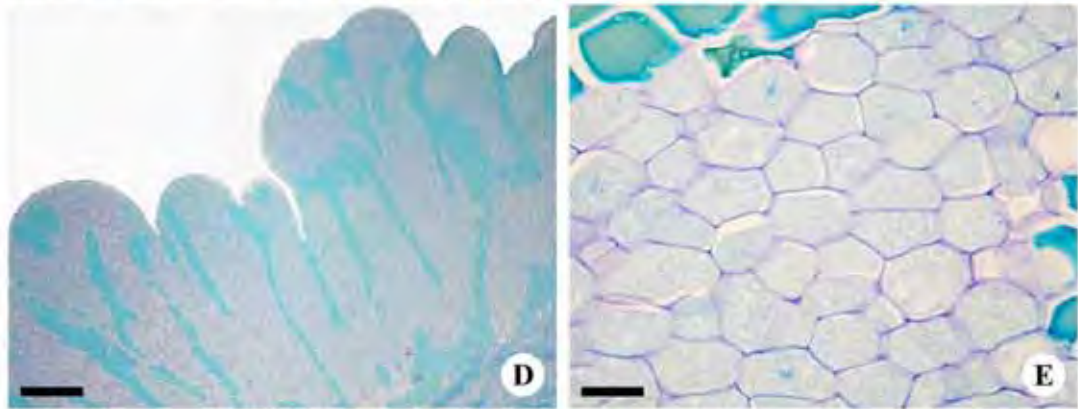
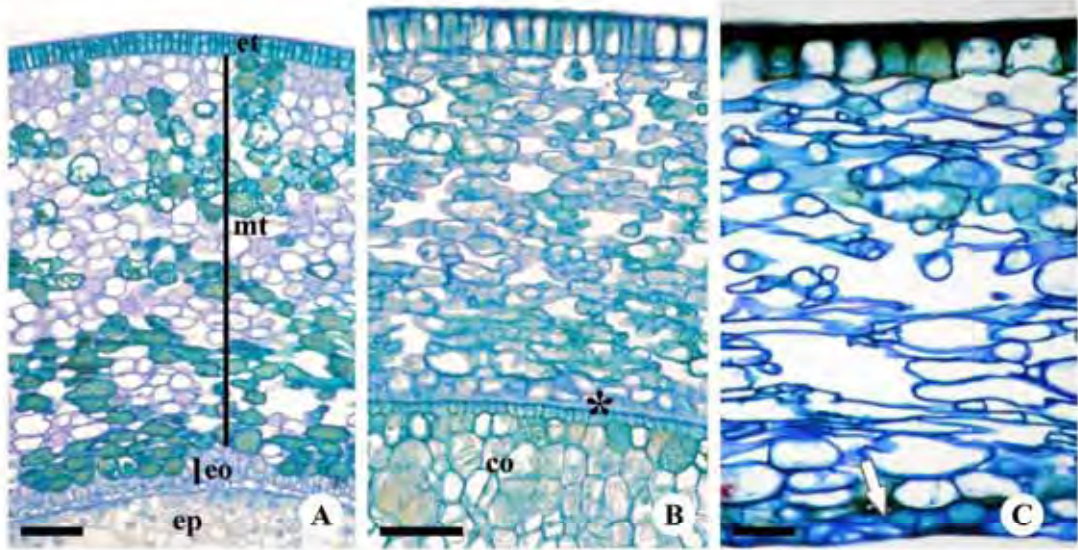
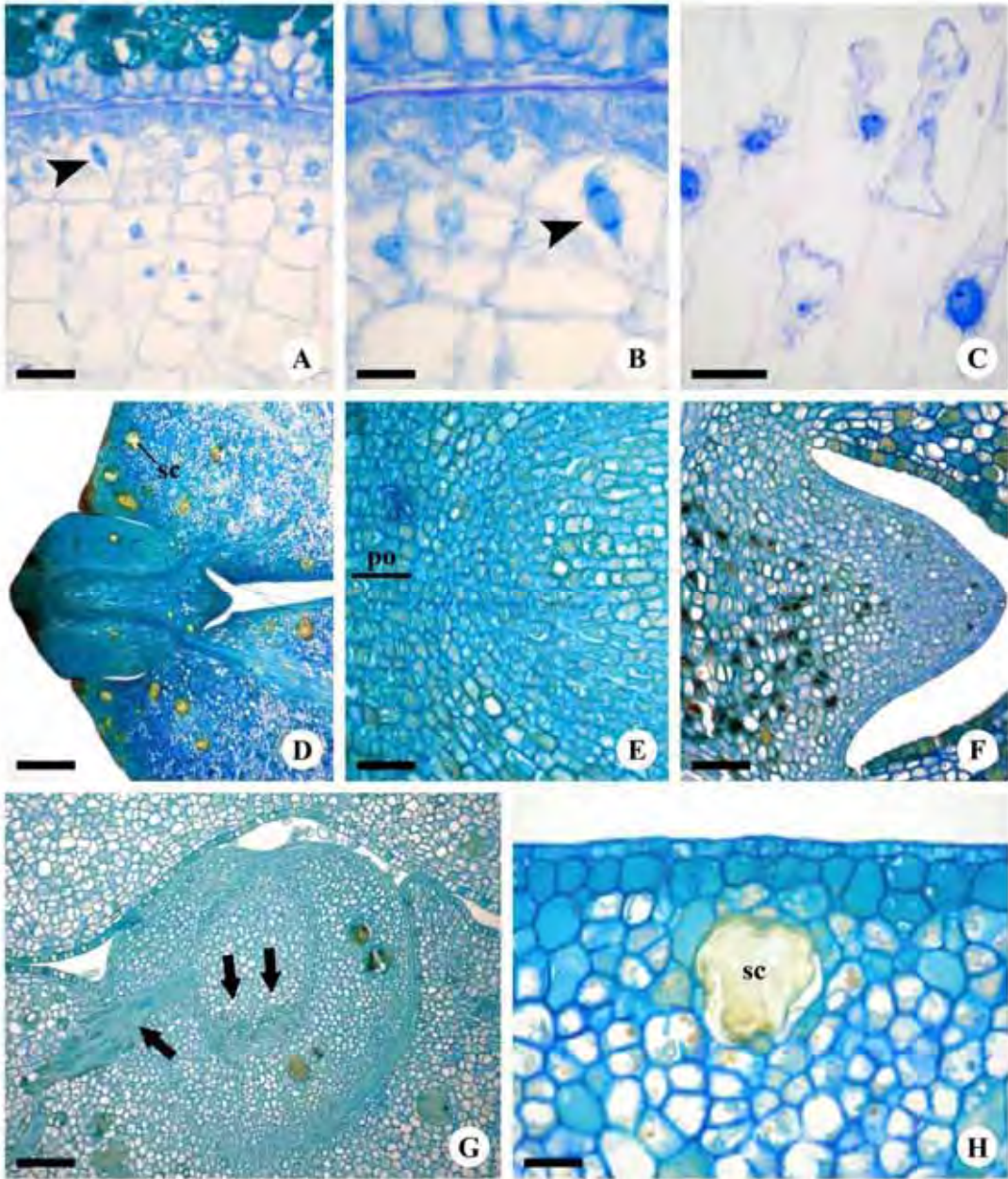


Fig. 11. Semente em diferenciação (A-C) e embrião maduro (D-H) de *Connarus suberosus*. Secções transversais (A-C, G-H) e longitudinais (D-F). (A-B) Detalhe de estratos tegumentares internos e endosperma, com células dispostas radialmente (A), em função de divisões periclinais; notar a ocorrência de mitose (ponta de seta). (C) Detalhe de células endospérmicas, evidenciando distintos tamanhos de núcleos. (D) Aspecto geral do eixo embrionário e inserção dos cotilédones. (E-F) Detalhes do ápice radicular e plúmula, respectivamente. (G) Detalhe do nó cotiledonar, mostrando a emissão de traços vasculares (setas). (H) Detalhe de cotilédone. (po, primórdio de coifa; sc, cavidade secretora). Barras de escala = 25 μm (A, C, E, G); 10 μm (B); 200 μm (D); 50 μm (F); 100 μm (H).



CAPÍTULO IV¹

¹ Trabalho elaborado segundo as normas da Revista Brasileira de Botânica.

Morfologia e Anatomia Floral de *Oxalis cytisoides* Zucc. (Oxalidaceae)²

JOÃO DONIZETE DENARDI³ e DENISE MARIA TROMBERT OLIVEIRA^{4,5}

Título resumido: Morfoanatomia floral de *Oxalis cytisoides*

². Parte da tese de doutorado do primeiro autor, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu.

³. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Coxim, Rua Pereira Gomes, 355, Vila Santa Maria, 79.400-000, Coxim, MS, Brasil.

⁴. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Avenida Antonio Carlos, 6627, Pampulha, Caixa Postal 486, 31.270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.

⁵. Autor para correspondência: dmtoliveira@icb.ufmg.br

RESUMO - (Morfologia e anatomia floral de *Oxalis cytisoides* Zucc. (Oxalidaceae)). *Oxalis* é o maior gênero de Oxalidaceae, sendo o único com ocorrência natural no estado de São Paulo. Poucas espécies do gênero tiveram as flores estudadas morfoanatomicamente, embora tais dados sejam relevantes para a compreensão de relações filogenéticas nas Oxalidales. Com o objetivo de descrever a anatomia floral de *O. cytisoides* com ênfase na vascularização, botões florais e flores em antese foram fixados e incluídos em metacrilato, produzindo-se laminário permanente pelas técnicas usuais. *Oxalis cytisoides* apresenta tristilia, com flores muito similares, que diferem apenas na posição relativa de estames e carpelos. A morfologia floral é típica de Oxalidaceae, destacando-se que as pétalas expandem-se apenas após a diferenciação dos demais verticilos, sendo livres na base e no ápice, conatas em pequena extensão. Na base do androginóforo, cinco nectários antepétalos são observados, o que constitui uma variação dos padrões referidos na literatura para a família. Da análise da vascularização, destaca-se que a flor apresenta traços de estames antepétalos emitidos previamente aos antessépalos, de modo que existe obdiplostemonia primária. Anatomicamente, o que mais se destaca é similaridade entre o mesófilo de sépalos e carpelos, ambos com ampla extensão ocupada por volumosas células aquíferas; também chama a atenção a presença, nos quatro verticilos, de tricomas tectores e glandulares. Os óvulos são anátropos, bitegmentados e tenuinucelados, típicos de Oxalidaceae.

Palavras chave – anatomia, flor, heterostilia, morfologia, *Oxalis*, tristilia

Introdução

As eurosídeas I constituem um amplo subclado incluindo Oxalidales, Malpighiales e Celastrales que, segundo o APG (2003), apresenta muitas relações não resolvidas. Matthews & Endress (2005) descreveram, com base na morfoanatomia floral, caracteres que evidenciam a associação entre Celastrales e Malpighiales, bem como potenciais sinapomorfias e tendências apomórficas entre as três ordens de eurosídeas I.

Na flora brasileira, Oxalidales (*sensu* APG 2003, Stevens 2007) está representada pelas famílias Connaraceae, Cunoniaceae, Elaeocarpaceae e Oxalidaceae (Souza & Lorenzi 2005). Oxalidaceae é constituída por cinco gêneros e cerca de 800 espécies; *Oxalis* é, expressivamente, o maior gênero, abrangendo aproximadamente 700 espécies (Stevens 2007). São, em geral, ervas bulbosas, raramente arbustos ou árvores, com distribuição tropical e subtropical. No Brasil, ocorrem dois gêneros (*Biophytum* e *Oxalis*) e cerca de 150 espécies

(Souza & Lorenzi 2005). No Estado de São Paulo, está naturalmente representada apenas por *Oxalis*, embora *Averrhoa carambola* seja muito cultivada em função dos frutos comestíveis (Fiaschi & Conceição 2005).

O gênero *Oxalis* encontra-se dividido em quatro subgêneros: *Oxalis*, *Thamnoxys*, *Monoxalis* e *Trifidus*. O subgênero *Oxalis* caracteriza-se pelo hábito herbáceo e por suas folhas trifolioladas digitadas, enquanto os representantes de *Thamnoxys* são arbustivos ou subarbustivos e apresentam folhas trifolioladas pinadas. Os demais subgêneros abrangem apenas duas espécies cada um (Lourteig 1994, 2000).

Em Oxalidaceae, as flores são bissexuadas, radiais, usualmente heterostilas, com cinco sépalas livres e cinco pétalas distintas ou muito levemente conatas, geralmente convolutas; freqüentemente, ocorrem dez estames com filetes conatos basalmente, os externos mais curtos que os internos; observa-se a produção de néctar pela base dos filetes ou por glândulas que, usualmente, se alternam com as pétalas; encontram-se cinco carpelos conatos; o ovário é súpero, mais ou menos lobado, com placentação axial; distinguem-se, geralmente, cinco estiletos e os estigmas são freqüentemente capitatos ou puntiformes; em geral, ocorrem vários óvulos por lóculo (Judd *et al.* 1999).

Estudos sobre a morfologia e anatomia floral de espécies de Oxalidaceae são escassos, podendo-se referir os trabalhos de Sauer (1933), Estelita-Teixeira (1984) e Matthews & Endress (2002). Aspectos da vascularização floral de espécies da família foram relatados por Narayana (1966), Al-Nowaihi & Khalifa (1971), Kumar (1976) e Estelita-Teixeira (1980).

Para o presente estudo, selecionou-se *Oxalis cytisoides* Zucc., espécie que ocorre em campos e locais úmidos até 950 m de altitude, desde o Ceará até o Rio Grande do Sul e na Argentina. De acordo com Fiaschi & Conceição (2005), são subarbustos eretos, com até 1 m, folhas trifolioladas e pinadas; as inflorescências são cimeiras dicasiais; as sépalas são pubescentes e a corola é rosa; os filetes maiores são apendiculados e pilosos, e os menores são glabros; os estiletos são também pilosos; os carpelos são glabros e formam-se cápsulas elipsóides a globosas, glabras, com três sementes por cavidade seminal. Lourteig (1994), porém, mencionou a ocorrência de pilosidade em ambas as superfícies da cápsula e duas a três sementes por cavidade seminal.

Oxalis cytisoides inclui-se no subgênero *Thamnoxys*, cujas espécies evoluíram principalmente nos campos e cerrados do Brasil (Lourteig, 1994) e para as quais não foram empreendidos estudos anatômicos com os órgãos reprodutivos. A espécie foi escolhida em função de sua ocorrência na região de Botucatu, estado de São Paulo, Brasil, e o trabalho foi

desenvolvido visando a descrever a anatomia floral de *O. cytisoides* com ênfase na vascularização, comparando com o relatado na literatura para as Oxalidales.

Material e métodos

As coletas de material botânico foram inicialmente realizadas em um fragmento de mata seca à margem da rodovia municipal (Estrada do Roberto) que liga a área urbana do Distrito de Vitoriana ao Rio Bonito Campo e Náutica, Município de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. Considerando a vulnerabilidade desta área de ocorrência de *Oxalis cytisoides* Zucc. (Oxalidaceae) ao pisoteio por bovinos, sementes maduras foram coletadas e colocadas para germinar em sacos de plantio contendo substrato do local de coleta, os quais foram irrigados e mantidos em casa de vegetação coberta por sombrite 50%, possibilitando o acompanhamento diário dos eventos da reprodução. Ramos férteis foram herborizados e registrados no Herbário “Irina Delanova Gemtchujnicov” (BOTU), do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências da UNESP, Câmpus de Botucatu, sob o número 24.172.

Lâminas permanentes de botões florais em diversos estádios de desenvolvimento e flores em antese foram preparadas a partir de amostras das três formas florais fixadas em FAA 50 (Johansen, 1940) e conservadas em etanol 70% (Jensen, 1962). As amostras foram desidratadas em série etanólica, incluídas em metacrilato Leica®, conforme o protocolo do fabricante, e seccionadas transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo com aproximadamente 8 µm de espessura. As séries obtidas foram coradas com azul de toluidina 0,05%, pH 4,7 (O’Brien *et al.*, 1964) e montadas em resina sintética.

Para se verificarem os sítios de emissão de fragrâncias florais, flores intactas foram expostas ao vermelho neutro, conforme indicado por Pridgeon & Stern (1983). Testes histoquímicos foram realizados para detecção de polissacarídeos ácidos, lipídios totais e compostos fenólicos (Johansen 1940), tratando-se secções semi-finas com vermelho de rutênio, Sudan IV, lugol e cloreto férrico, respectivamente.

Os resultados obtidos foram registrados digitalmente, utilizando-se câmera Olympus C7070WZ acoplada a microscópio de luz Olympus BX41.

Resultados

Morfologia – As flores de *O. cytisoides* são pentâmeras, actinomorfas (figura 1) e diclamídeas (figura 2). O cálice apresenta prefloração quincuncial (figura 11) e protege os verticilos internos durante a maior parte da ontogênese floral; é constituído por sépalas verdes a

arroxeadas, com base larga e ápice agudo. A prefloração da corola é contorta; durante o seu desenvolvimento, as pétalas tornam-se conatas (figura 13), mas a base (figuras 11-12), que é estreita, e a metade superior (figuras 1-2) permanecem livres; a coloração é rósea, salvo a porção interna do tubo, que é amarela.

Na espécie, ocorrem flores longistilas (figura 3), medistilas (figura 4) e brevistilas (figura 5), mas as três formas florais não exibem diferenças estruturais marcantes, exceto pela posição relativa de estames e carpelos.

O androceu e o gineceu são adnatos em curta extensão, produzindo um androginóforo, onde se reconhecem dez traços estaminais e a vascularização carpelar (figuras 11-12). Acima da região adnata, o androceu exhibe os dez estames conatos na base (figura 13) e dispostos em dois verticilos (figuras 2-6). O verticilo externo compreende os estames antepétalos, que possuem nectários basais na região externa do androginóforo (figuras 11-12). Os estames antessépalos, mais longos e calibrosos que os antepétalos (figuras 2-6, 15), exibem um apêndice não vascularizado, formado abaxialmente na porção livre dos filetes. As anteras são dorsifixas (figura 15), versáteis e mudam da posição introrsa para extrorsa na antese; a deiscência das tecas é dada por fenda longitudinal.

O gineceu é formado por cinco carpelos antepétalos, unidos congenitamente pelos bordos ventrais, de tal modo que o ovário se mostra pentalocular (figura 13); entretanto, na região apical deste órgão, os carpelos tornam-se individualizados e uniloculares (figura 15). Observa-se um cômputo apical (figura 14), restrito ao ovário de botões florais. Ao longo da porção livre de cada carpelo, a sutura (região ventral) é conspícua, exceto na parte superior do estilete. Externamente, a sutura é acompanhada por uma reentrância que se estende até o estigma, que é bilobado e papiloso, reagindo intensamente ao vermelho neutro. Nas flores brevi- e medistilas, as extremidades estigmáticas são decurrentes (figuras 4-5), enquanto são confluentes nas longistilas (figura 3). Em cada carpelo, há dois ou três óvulos anátropos, inseridos ao longo da região axial.

Vascularização – Na base do receptáculo, o sistema vascular organiza-se como um sifonostelo, do qual se separam cinco traços medianos de sépalas (figura 7) e, alternando-se com estes, cinco projeções que se bifurcam para constituir os traços laterais de sépalas adjacentes (figura 8); portanto, cada sépala recebe três traços vasculares, que ainda podem se ramificar durante a migração para a periferia (figura 9). De regiões intercaladas às sépalas, divergem cinco complexos vasculares (figura 9), dos quais resultam cinco traços externos de pétalas e cinco traços internos de estames antepétalos (figuras 9-10). Em seguida, o cilindro

vascular emite cinco traços de estames antessépalos (figuras 10-11), um pouco menos conspícuos que os antepétalos e, logo a seguir, os cinco traços dorsais dos carpelos, que se mostram muito pequenos (figuras 11, 19).

Na base do ovário, simultaneamente à formação dos lóculos, o sistema vascular apresenta o contorno estrelado com cinco pontas (figura 12). De cada uma destas, deriva um traço que penetra nas margens laterais concrescidas de carpelos adjacentes. Internamente a esses traços laterais, o restante do sistema vascular organiza-se em cinco traços ventrais intercalados aos laterais, alguns deles subdivididos em duas unidades (figuras 12, 20). Acima deste ponto, a vascularização ventral de cada carpelo torna-se unitária e o feixe ventral de cada carpelo migra, posicionando-se radialmente ao lateral intercarpelar (figuras 13, 21). No ovário, os feixes ventrais ramificam-se para suprir óvulos de carpelos contíguos e não se estendem além da placenta. Ao longo da parede ovariana, os feixes laterais originam cordões que se ramificam em direção aos feixes dorsais.

Na região apical do ovário, onde o cômputo pode ser observado (figura 22), a vascularização ovariana é composta pelos cinco feixes dorsais e dez laterais (figura 14), formados pela subdivisão e divergência para carpelos vizinhos; nesta altura, os filetes estão individualizados, sendo mais calibrosos nos estames antessépalos (figura 14). Mais ao ápice, os carpelos também se individualizam e os feixes laterais, dois por carpelo, constituem os feixes mais evidentes; neste ponto, podem ser vistas as anteras dos estames curtos (figura 15).

Nos estiletos, esses feixes laterais secundários aproximam-se gradativamente do dorsal (figuras 16-17, 23), fundindo-se a ele e constituindo um complexo (figura 18) que se estende até o estigma.

Cálice – As sépalas apresentam epiderme coberta por cutícula inconspícua, constituída de células cubóides a poligonais (figuras 24-26), alongadas longitudinalmente, com parede periclinal externa convexa (figuras 25-26), que exibem raros cloroplastos; aquelas da face abaxial mostram-se mais volumosas e possuem paredes periclinais externas levemente espessadas (figura 25). Estômatos ocorrem em ambas as superfícies (figura 25), enquanto tricomas restringem-se à abaxial; estes são unicelulares, com paredes lignificadas, providas de ornamentações verrucosas (figura 26) e conteúdo fenólico; mais raramente, ocorrem tricomas glandulares, multicelulares e unisseriados (figura 27). Estes tipos de tricomas também ocorrem em outros órgãos florais, distribuindo-se conforme será indicado. Independentemente do órgão em que se localizam, os tricomas glandulares coram-se intensamente quando tratados com vermelho neutro.

O mesofilo das sépalas consiste de parênquima clorofiliano lacunoso, cujas células, aproximadamente cilíndricas, envolvem total ou parcialmente os feixes vasculares colaterais, e de uma a duas (raro três) camadas de parênquima aquífero abaxial, formado por células volumosas, de formato poligonal (figura 25), alongadas no sentido longitudinal e dispostas compactamente (figuras 24, 26). No mesofilo, observam-se cristais prismáticos de oxalato de cálcio principalmente no estrato parenquimático frouxo.

Corola – A corola inicia sua diferenciação após os demais órgãos (figura 24), mas se expande rapidamente, pouco antes e no decorrer do alongamento dos verticilos internos, tornando-se o involúcro protetor de botões em pré-antese.

A epiderme das pétalas compõe-se de células cubóides (figuras 27-30), alongadas longitudinalmente, possuindo paredes periclinais externas convexas (figuras 27-30), levemente espessadas e revestidas por cutícula inconspícua. Na face adaxial do tubo, há muitas papilas (figuras 28-29) e estômatos elevados (figura 30). Tricomas ocorrem predominantemente na face adaxial, contudo a maior parte deles é glandular (figura 27).

O mesofilo é representado por parênquima de células de formatos irregulares, com espaços intercelulares evidentes, e parênquima aquífero, de células menores que as ocorrentes nas sépalas, as quais são adjacentes à epiderme de ambas as faces (figuras 28-29). Cristais prismáticos de oxalato de cálcio apresentam-se dispersos no mesofilo. Ocorrem feixes vasculares colaterais, nos quais o floema é mais abundante que o xilema, rodeados por bainha parenquimática (figuras 29-30).

Estames – Os filetes possuem células epidérmicas cubóides a poligonais (figuras 31-32), alongadas longitudinalmente, cujas paredes periclinais externas, levemente convexas, exibem espessamentos pécticos (figura 32); no entanto, esses se mostram pouco conspícuos na antese, exceto na porção distal deste órgão. O mesofilo é parenquimático, com pequenos espaços entre as células, que são volumosas (figura 32) e alongadas no sentido longitudinal. Estas envolvem o feixe vascular anficrival e, eventualmente, contêm cristais prismáticos.

Os nectários são observados na base dos estames antepétalos e consistem de epiderme estomatífera e células fundamentais que se caracterizam pelo citoplasma denso, núcleo proeminente e menor tamanho em relação às células do parênquima adjacente. Uma ou duas camadas de células separam o feixe estaminal do tecido nectarífero (figura 33).

O apêndice dos estames antessépalos consiste de emergências recobertas pela epiderme característica dos filetes e preenchidas por parênquima.

Tricomas tectores e glandulares restringem-se aos estames antessépalos e à região acima da inserção dos apêndices estaminais.

As anteras têm quatro microsporângios, arranjados aos pares em duas tecas equivalentes, unidas entre si e ao filete pelo conectivo (figuras 34, 36). Inicialmente, a parede da antera consiste de quatro estratos parietais: protoderme, camada precursora do endotécio, camada média e camada precursora do tapete; nesta fase, observa-se que todos os microsporocitos encontram-se em contato direto com o tapete (figura 34). O conectivo apresenta um cordão procambial (figura 34) e muitas células com pequenos cristais prismáticos, dispostos em aglomerados similares a drusas (figuras 36-37).

Durante a ontogênese, a camada mediana desintegra-se (figura 35), em estágio intermediário àqueles em que se observam microsporocitos e tétrades de microsporos; o tapete mostra-se vestigial, logo que os microsporos tornam-se livres no interior dos microsporângios (figura 36).

Paralelamente à microgametogênese, as células do endotécio tornam-se mais volumosas e tendem a cubóides; são células com grande densidade citoplasmática e núcleo evidente (figura 36). Posteriormente, o endotécio forma espessamentos parietais filiformes lignificados, dispostos reticuladamente (figuras 37-39); no conectivo, observa-se a diferenciação do feixe vascular e o endotécio multiplica-se irregularmente, exibindo mais de uma camada de espessura (figuras 36). Neste período, o grão de pólen já apresenta a parede bastante espessada e a célula generativa englobada pela vegetativa; esta é grande, vacuolada e apresenta núcleo globoso, enquanto aquela tem pequeno tamanho, formato elipsóide e núcleo também muito evidente (figura 38).

Próximo à deiscência da antera, há reabsorção do septo que isola os dois microsporângios de cada uma das tecas (figura 39). A parede da antera madura apresenta epiderme formada por células de contorno irregular e endotécio constituído por células mais alongadas tangencialmente, com os espessamentos parietais e o núcleo bastante evidentes; no estômio, apenas a epiderme fica diferenciada (figura 39). No interior dos microsporângios, próximos às paredes tangenciais internas do endotécio ou a resquílios do tapete, encontram-se os corpos de Ubisch, que reagem similarmente à exina na coloração com azul de toluidina (figuras 38-40). Os grãos de pólen têm o vacuoma muito reduzido, mostrando grande densidade celular próximo à deiscência (figuras 39-40); deste modo, fica prejudicada a observação das demais características internas. Os grãos de pólen também se coram intensamente quando expostos ao vermelho neutro.

Gineceu – A parede ovariana consiste, inicialmente, de quatro estratos parietais (figura 41), dos quais derivam a epiderme externa, o mesofilo e a epiderme interna. Na antese, a epiderme externa do ovário é unisseriada, coberta por cutícula inconspícua, formada por células cubóides, com citoplasma denso e núcleo proeminente (figuras 42-43). Ao longo da reentrância entre carpelos adjacentes e, em menor extensão, da região dorsal, ocorrem idioblastos fenólicos (figura 43). Na região apical do ovário, o segmento epidérmico que se estende da reentrância aos flancos do carpelo constitui-se de células mais volumosas que as demais. Essas relações de volume são mantidas na porção unilocular do ovário, a partir da sutura ventral (figura 44). No estilete, as dimensões celulares tornam-se uniformes. A epiderme deste órgão é composta por células comuns, que possuem parede periclinal externa convexa, estômatos e tricomas, tanto tectores (figura 45) quanto glandulares.

O mesofilo ovariano compreende duas regiões morfológicamente distintas, na extensão que abrange das laterais à região dorsal (figura 43). O estrato externo consiste de células relativamente volumosas, alongadas longitudinalmente, que apresentam paredes levemente sinuosas e conteúdo hialino. Eventualmente, observam-se divisões aleatórias nessa camada. A porção interna é formada por pequenas células poligonais, que se dividem principalmente no plano periclinal, acomodando cordões procambiais. Na região do feixe dorsal, que é formado por apenas alguns elementos vasculares, geralmente pouco diferenciados, o mesofilo constitui-se de células de dimensões reduzidas.

Na parede ovariana próxima aos curtos septos, o mesofilo é homogêneo, consistindo de duas a três camadas de células poligonais (figura 43); algumas dessas com cristais prismáticos; nessa porção é incomum a ocorrência de divisões celulares. Ramificações vasculares estendem-se até as proximidades do feixe dorsal, permeando o mesofilo (figura 43).

Nos septos e na região axial, o mesofilo constitui-se de células cilíndricas a poligonais alongadas longitudinalmente, que apresentam dimensões variáveis e pequenos espaços entre si, ocorrendo acúmulo de compostos fenólicos. No septo, ainda se observa um feixe lateral e um ventral invertido, pouco diferenciados, alinhados radialmente (figura 46). Ao longo da região individualizada dos carpelos, o mesofilo aos poucos se mostra relativamente homogêneo, sendo composto por células de contorno poligonal a arredondado, alongadas longitudinalmente, que apresentam volumes variáveis e pequenos espaços intercelulares.

No ovário, a epiderme interna é formada por células cubóides achatadas periclinalmente, menores que àquelas da epiderme externa. Compostos fenólicos estão presentes nas células que delimitam ventralmente o lóculo (figura 43).

Os óvulos são tenuinucelados (figura 47) e bitegmentados (figuras 47, 49), com micrópila em ziguezague, pressionada contra a placenta (figura 49), e um pequeno apêndice calazal, composto por células pequenas e densas do tegumento externo (figura 48). Este tegumento é constituído por três camadas de células (figura 49). A epiderme externa consiste de células cubóides, com paredes tangenciais externas pécticas e levemente espessadas, núcleo proeminente e citoplasma denso. No mesofilo, as células são semilunares e apresentam conteúdo hialino e núcleo arredondado e evidente. Na rafe, onde há ampliação do número de camadas fundamentais em torno do feixe rafeal, as células são poligonais e menores. A epiderme interna caracteriza-se por células cubóides alongadas transversalmente, densas e com conteúdo péctico.

O tegumento interno compreende três a quatro camadas de células com citoplasma denso e núcleo evidente. As células epidérmicas externas são cubóides e alongadas longitudinalmente, enquanto no mesofilo há uma ou duas camadas de células com esse formato, alongadas transversalmente. A epiderme interna constitui o endotélio, com células cubóides volumosas, um pouco achatadas periclinalmente, que apresentam paredes tangenciais internas pécticas e levemente espessadas. O nucelo escasso é consumido em estádios que precedem à antese (figura 49).

Discussão

A característica floral mais marcante de *O. cytisoides* é a ocorrência de heterostilia trimórfica. Relatos sobre heterostilia abrangem cerca de vinte e oito famílias de angiospermas; a maioria das espécies apresenta heterostilia dimórfica, também denominada distilia, enquanto que a heterostilia trimórfica ou tristilia é mais rara, sendo conhecida em apenas seis famílias (Barrett *et al.* 2000). Matthews & Endress (2002) citaram a ocorrência de heterostilia dimórfica e trimórfica em Oxalidaceae e Connaraceae, ambas pertencentes a Oxalidales (APG 2003), ressaltando que o compartilhamento de heterostilia trimórfica é especialmente significativo, visto que é conhecida para poucas famílias de angiospermas.

A análise da morfologia floral de *O. cytisoides* revela características típicas da família, como as relatadas por Judd *et al.* (1999), podendo-se destacar pequenas peculiaridades. Além da heterostilia, verificou-se que as pétalas, que no grupo podem ser

distintas ou muito levemente conatas segundo os referidos autores, chamam a atenção na espécie estudada. *Oxalis cytisoides* inicia tardiamente a diferenciação das pétalas, mas estas se expandem rapidamente, tornando-se o involúcro protetor de botões em pré-antese; além disso, ocorre conação em pequena extensão, embora tanto a região proximal quanto a distal sejam livres.

Também cabe destacar que, em *O. cytisoides*, as cinco regiões nectaríferas são formadas nas porções antepétalas do androginóforo, conforme se observou em *O. latifolia*, *O. oxyptera*, *O. corymbosa* (Estelita-Teixeira 1980, 1984) e *O. ortgiesii* (Matthews & Endress 2002); no entanto, em *O. pescaprae*, toda porção externa do androginóforo constitui-se de tecido nectarífero (Kumar, 1976). Judd *et al.* (1999) afirmaram que, nas Oxalidaceae, o néctar pode ser produzido pela base dos filetes ou por glândulas que se alternam com as pétalas.

Matthews & Endress (2002) consideraram que o mesofilo das sépalas das Oxalidaceae, constituído por células especialmente grandes, representa uma autapomorfia para Oxalidales. Em *O. cytisoides*, a estrutura das sépalas é essencialmente similar à das espécies estudadas por Estelita-Teixeira (1984) e Matthews & Endress (2002).

No tubo da corola, destaca-se a ocorrência de estômatos elevados em relação às demais células da face adaxial da epiderme. É provável que a umidade relativa no interior do tubo seja muito elevada, tanto em função da retenção de água nas sépalas, que ajuda a manter a turgescência floral, quanto pela secreção de néctar, que se acumula no interior do tubo, favorecendo o estabelecimento de caracteres hidromórficos como este.

Avaliando-se a vascularização floral de *O. cytisoides*, nota-se que ocorre a emissão dos traços estaminais antepétalos em nível inferior ao dos traços de estames antessépalos. Durante muito tempo, esta foi considerada uma confirmação anatômica da obdiplostemonia em Oxalidaceae (Al-Nowaihi & Khalifa 1971, Narayana 1966, Kumar 1976, Estelita-Teixeira 1980). No entanto, Al-Nowaihi & Khalifa (1971) mencionaram que, em *O. cernua*, o androceu obdiplostêmone somente é reconhecido do ponto de vista morfológico, pois os traços estaminais separam-se do cilindro central no mesmo nível. Ronse Decraene & Smets (1995) relataram que, em *taxa* obdiplostêmones, os traços de estames antepétalos podem divergir em um nível inferior, equivalente ou superior àquele dos traços antessépalos; não há, portanto, uma correlação entre vascularização e obdiplostemonia.

O androceu obdiplostêmone representa uma interrupção da seqüência usual de alternância dos verticilos florais, devido à posição oposta às pétalas do verticilo externo de estames. Eames (1977) agrupou em três teorias as diversas interpretações sobre a obdiplostemonia, as quais explicam a sua origem pela adição de um novo verticilo de estames

(teoria da intercalação), pela perda de um verticilo externo de estames (teoria da redução) ou pelo deslocamento ontogenético (teoria do deslocamento).

Recentemente, vários estudos sobre a ontogenia floral de *taxa* obdiplostêmones revelaram que os estames surgem na seqüência centrípeta usual. Desta forma, a obdiplostemonia foi interpretada como um fenômeno secundário causado pelo crescimento diferencial e deslocamento dos primórdios de estames. Esses resultados corroboram a teoria do deslocamento, proposta originalmente por Čelakovský no século XIX e referida por Weberling (1992) e por Ronse Decraene & Smets (1995).

A partir da observação de casos de obdiplostemonia que não se ajustam às premissas do deslocamento, Ronse Decraene & Smets (1995) propuseram a distinção entre três vias de desenvolvimento da obdiplostemonia: “obdiplostemonia primária” (os estames antepétalos surgem antes dos estames antessépalos e não há deslocamento secundário), “obdiplostemonia secundária” (as partes florais iniciam-se na seqüência acrópeta normal, mas os primórdios de estames antepétalos são deslocados para uma posição externa àquela dos estames antessépalos durante a ontogenia) e “obdiplostemonia centrífuga” (os primórdios de estames antepétalos surgem após os primórdios antessépalos e constituem o verticilo externo). Em *O. cytisoides*, provavelmente, a obdiplostemonia é primária, visto que existe correlação entre a mesma e o retarde no desenvolvimento de pétalas, conforme assinalou Ronse Decraene & Smets (1995), inclusive para Oxalidaceae. O retarde no desenvolvimento de pétalas também foi relacionado pelo autor à ocorrência de complexos de vasculares dos quais divergem os traços de estames antepétalos e de pétalas, como observado neste estudo e em *Averrhoa carambola* (Al-Nowaihi & Khalifa 1971).

Matthews & Endress (2002) consideraram a ocorrência de tricomas glandulares em órgãos florais de Oxalidaceae e Connaraceae como um dos caracteres estruturais que aproximam filogeneticamente estas famílias. No presente estudo, constatou-se que tais tricomas são responsáveis pela emissão de compostos voláteis, os quais, possivelmente, atraem polinizadores (Young *et al.* 1984, Werker 2000, Effmert *et al.* 2005).

Sauer (1933) destacou que a anatomia do carpelo em Oxalidaceae é similar àquela das sépalos. De fato, a espécie estudada mostra esta situação, pouco comum em outras famílias. Em ambas as peças florais de *O. cytisoides*, o mesofilo exhibe poucas camadas de células pequenas adjacentes à face adaxial da epiderme e células amplas e muito vacuoladas voltadas para a face abaxial, ocupando a maior proporção do órgão; entre as duas faixas, inserem-se os feixes vasculares. Dentre os quatro verticilos florais, cálice e gineceu normalmente apresentam estruturas mais diferenciadas, inclusive recebendo vascularização

mais expressiva que corola e androceu, os quais, como visto na espécie em estudo, usualmente recebem um traço único por peça. O investimento nos carpelos é facilmente compreendido, tendo em foco a formação do pericarpo e a proteção das sementes. Também as sépalas desempenham importante papel de proteção, tanto no botão jovem, antes do alongamento das pétalas e diferenciação dos verticilos férteis, quanto durante parte do desenvolvimento do fruto, já que o cálice é persistente nesta espécie.

Quanto aos óvulos, encontrou-se a condição característica de Oxalidaceae, já que se observou que eles são anátropos, bitegmentados e tenuinucelados (Corner 1976).

A análise da morfologia e anatomia floral de *O. cytisoides* evidenciou aspectos interessantes da espécie, muitos deles típicos das Oxalidaceae, os quais são importantes para se entenderem relações filogenéticas entre a família e as demais Oxalidales. Aspectos mais peculiares da espécie podem ser úteis para se reconhecer relações intrafamiliares, desde que um maior número de espécies venha a ser detalhadamente estudado.

Agradecimentos – Ao M.Sc. Pedro Fiaschi, pela identificação da espécie, e à FAPESP (Programa BIOTA, proc. nº 00/12469-3), pelo apoio financeiro. À CAPES, pela concessão da bolsa PICDT de João D. Denardi e ao CNPq, pela bolsa de produtividade em pesquisa de D.M.T. Oliveira.

Referências bibliográficas

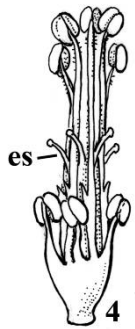
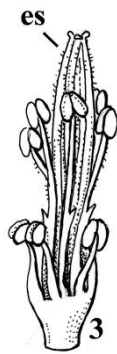
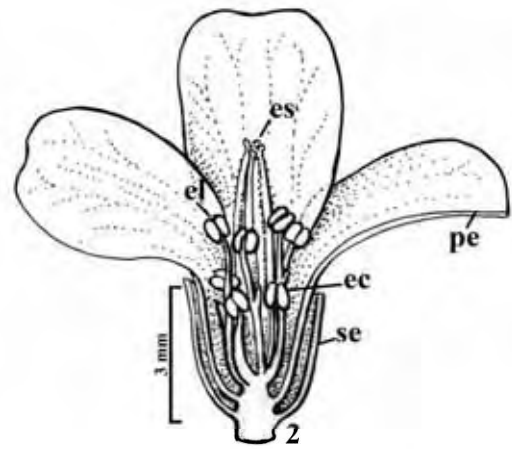
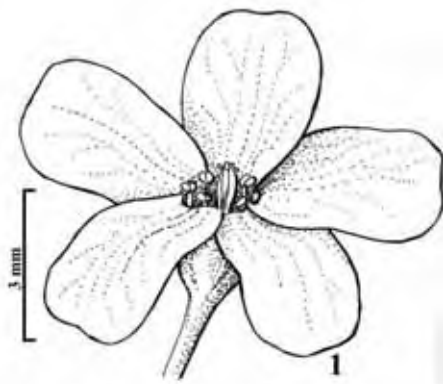
- AL-NOWAIHI, A.S. & KHALIFA, F. 1971. Floral morphology of *Averrhoa carambola* L., *Oxalis cernua* Thunb. and *O. corniculata* L. with reference of the nature of the staminodes. Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Biological Sciences 137: 189-198.
- APG. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Botanical Journal of the Linnean Society 141: 399-436.
- BARRET, S.C.H., JENSON, L.K. & BAKER, A. 2000. The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. Annals of Botany 85 (supl.A): 253-265.
- CORNER, E.J.H. 1976. The seeds of dicotyledons. University Press, Cambridge.
- EAMES, A.J. 1977. Morphology of the Angiosperms. Robert E. Krieger, New York.
- EFFMERT, U., GROBE, J., RÖSE, U.S.R., EHRIG, F., KÄGIL, R. & PIECHULLA, B. 2005. Volatile composition, emission pattern, and localization of floral scent emission in

- Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). American Journal of Botany 92: 2-12.
- ESTELITA-TEIXEIRA, M.E. 1980. Floral vascularization in Oxalidaceae. Boletim de Botânica, Universidade de São Paulo 8: 75-85.
- ESTELITA-TEIXEIRA, M.E. 1984. Morfologia floral de três espécies de *Oxalis* L. Revista Brasileira de Botânica 7: 41-48.
- FIASCHI, P. & CONCEIÇÃO, A.A. 2005. Oxalidaceae. In: Flora fanerogâmica do estado de São Paulo (M.G.L. Wanderley, G.J. Shepherd, T.S. Melhem, S.E. Martins, M. Kirizawa & A.M. Giuletta, eds.). Rima, São Paulo, p.301-315.
- JENSEN, W.A. 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. W.H. Freeman, San Francisco.
- JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.F. 1999. Plant systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Massachusetts.
- KUMAR, A. 1976. Studies in Geraniales II. The floral anatomy. Journal of the Indian Botanical Society 55: 233-253.
- LOURTEIG, A. 1994. *Oxalis* L. subgênero *Thamnoxys* (Endl.) Reiche emend. Lourt. Bradea 7: 1-199.
- LOURTEIG, A. 2000. *Oxalis* L. subgêneros *Monoxalis* (Small) Lourteig, *Oxalis* & *Trifidus* Lourteig. Bradea 7: 201-629.
- MATTHEWS, M.L. & ENDRESS, P.K. 2002. Comparative floral structure and systematics in Oxalidales (Oxalidaceae, Connaraceae, Brunelliaceae, Cephalotaceae, Cunoniaceae, Elaeocarpaceae, Tremandraceae). Botanical Journal of the Linnean Society 140:321-381.
- MATTHEWS, M.L. & ENDRESS, P.K. 2005. Comparative floral structure and systematics in Celastrales (Celastraceae, Parnassiaceae, Lepidobotryaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 149: 129-194.
- NARAYANA, L.L. 1966. A contribution to the floral anatomy of Oxalidaceae. Journal of Japanese Botany 41: 321-328.
- O'BRIEN T.P., FEDER, N. & MCCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59: 368-373.
- PRIDGEON A.M., STERN W.L. 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). American Journal of Botany 70: 1233-1243.
- RONSE DECRAENE, L. & SMETS, E.F. 1995. The distribution and systematic relevance of the androecial character oligomery. Botanical Journal of the Linnean Society 118: 193-247.

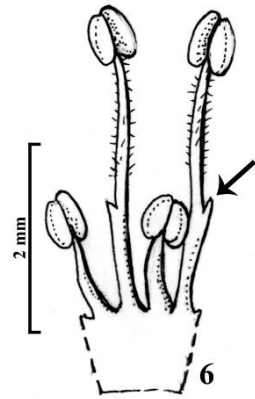
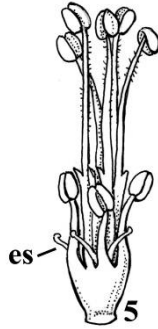
- SAUER, H. 1933. Blüte und frucht der Oxalidaceen, Linaceen, Geraniaceen, Tropaeaceen und Balsaminaceen, vergleichend-entwicklungsgeschichtliche untersuchungen. *Panta* 19: 417-481.
- SOUZA, V.C. & LORENZI, H. 2005. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira baseado em APG II. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- STEVENS, P.F. 2007. Angiosperm Phylogeny Website. Version 8. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> (acesso em 10/11/2007).
- WEBERLING, F. 1992. Morphology of flowers and inflorescences. Cambridge University Press, Cambridge.
- WERKER, E. 2000. Trichome diversity and development. *Advances Botanical Research* 31: 1-35.
- YOUNG, A.M., SCHALLER, M., STRAND, M. 1984. Floral nectaries and trichomes in relation to pollination in some species of *Theobroma* and *Herrania* (Sterculiaceae). *American Journal of Botany* 71: 466-480.

Ilustrações

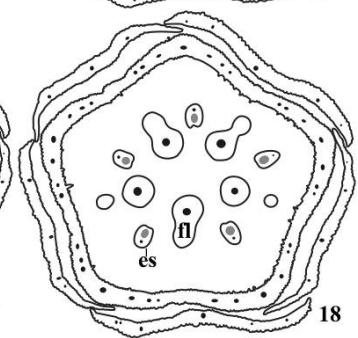
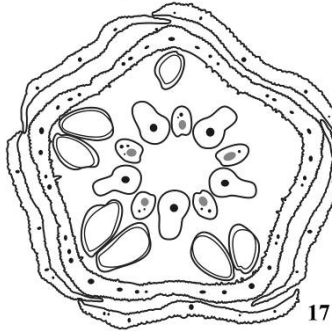
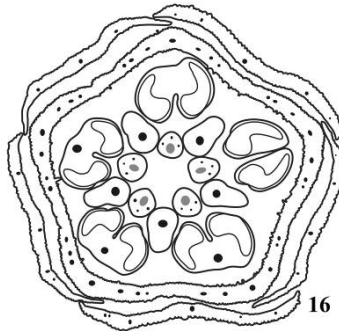
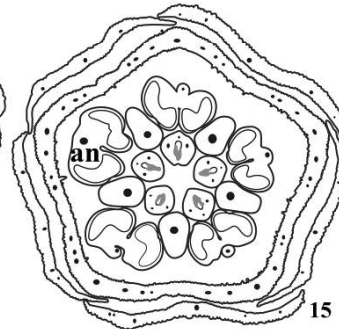
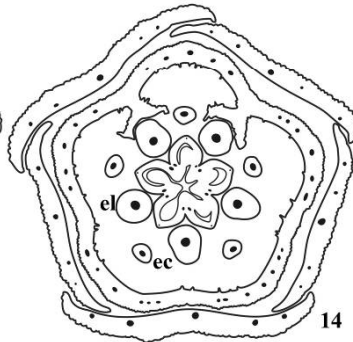
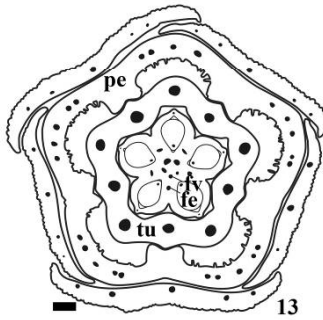
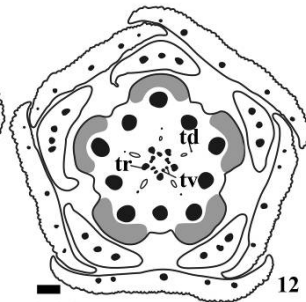
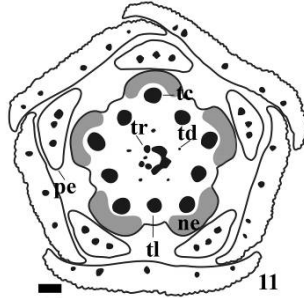
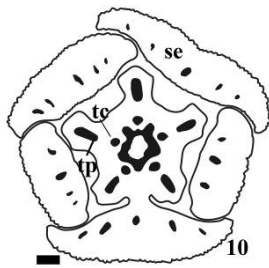
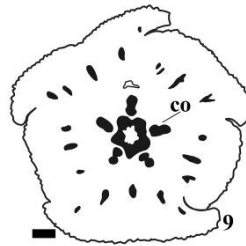
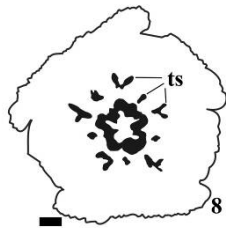
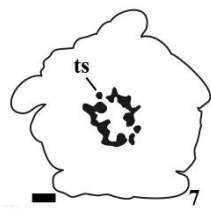
Figuras 1-6. Morfologia floral de *Oxalis cytisoides* Zucc. 1. Aspecto geral de flor longistila. 2. Flor longistila em corte longitudinal mediano. 3-5. Androceu e gineceu das formas longistila, medistila e brevistila respectivamente. 6. Detalhe do androceu, mostrando a presença de tricomas glandulares e apêndice estaminal (seta) nos estames mais longos. (ec = estame curto; el = estame longo; es = estilete; pe = pétala; se = sépala).



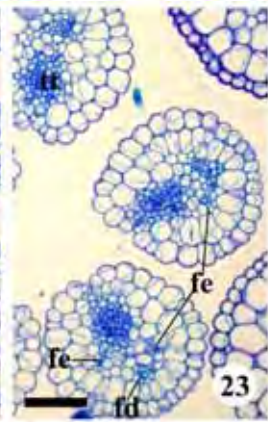
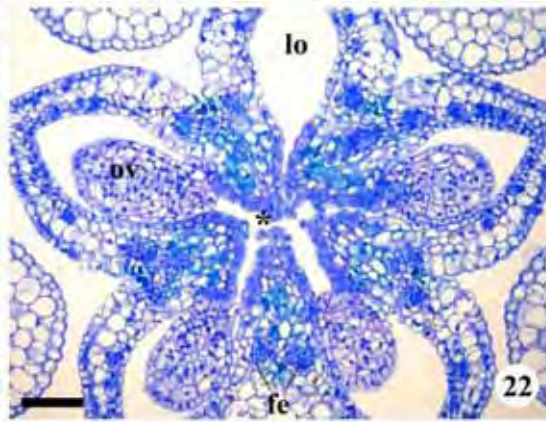
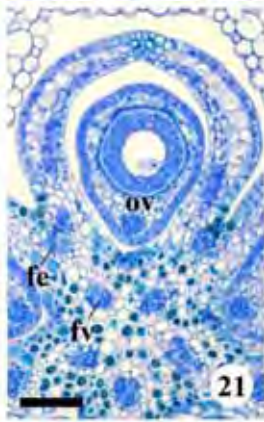
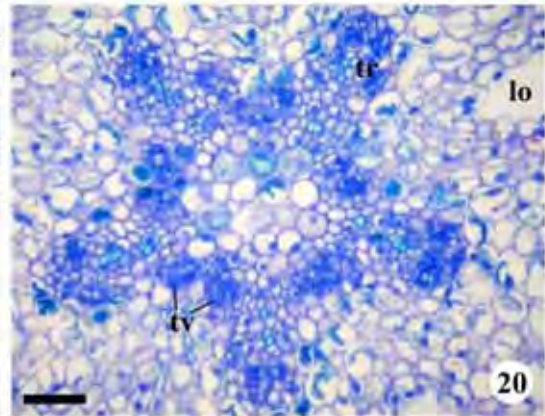
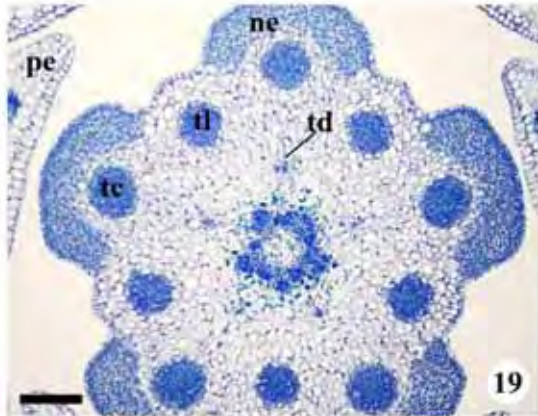
2 mm



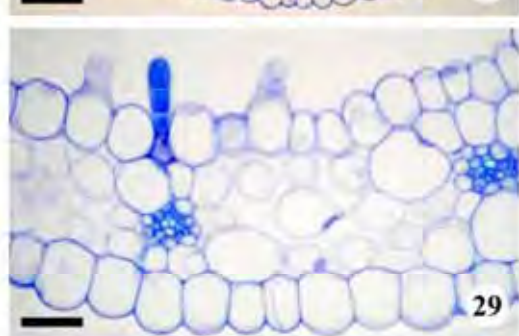
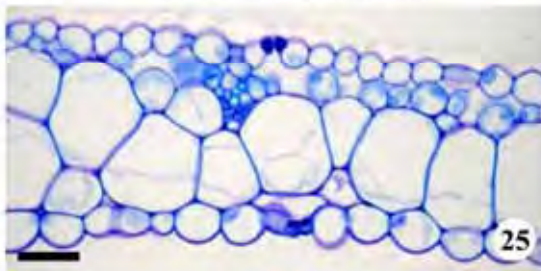
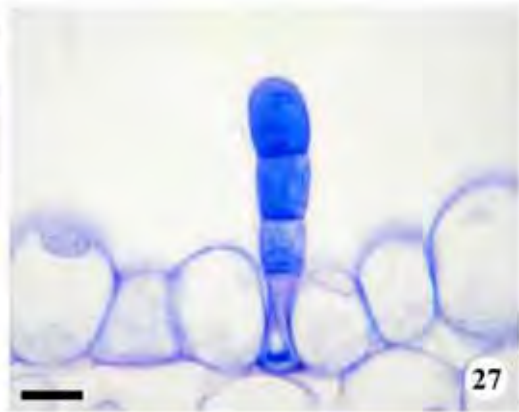
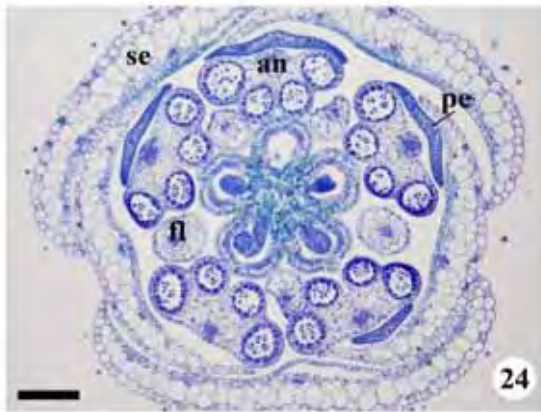
Figuras 7-18. Diagramas mostrando a vascularização floral de *Oxalis cytisoides* Zucc., analisada em botão em pré-antese. Secções transversais. 7-9. Receptáculo. 7. Início da emissão dos traços medianos de sépala. 8. Traços de sépala emitidos, ainda próximos ao estelo. 9. Início de separação das sépalas, cujos traços encontram-se mais periféricos; simultaneamente, emissão dos cinco complexos pétala-estame antepétalo. 10. Sépalas quase totalmente isoladas, na altura em que se observa a separação do traço de pétala e estame antepétalo. 11. Bases livres das pétalas, separadas do androginóforo; neste, observam-se os nectários e traços dos dez estames; cinco pequenos traços dorsais encontram-se bem emitidos e inicia-se a emissão dos traços laterais de carpelos. 12. Traços laterais de carpelos mais isolados e início da formação dos cinco lóculos; observar, também, traços ventrais unitários ou subdivididos em dois por carpelo. 13. Pétalas parcialmente justapostas ao tubo estaminal, mostrando os limbos concrecidos; ovário distinto, destacando os feixes ventrais concrecidos entre carpelos e alinhados radialmente aos feixes laterais; notar a presença dos óvulos. 14. Ápice do ovário, mostrando o cômputo unindo os carpelos; notar os feixes laterais subdivididos entre carpelos adjacentes; os filetes encontram-se individualizados, sendo mais calibrosos nos estames antessépalos. 15-18. Seqüência mostrando a fusão dos feixes laterais e dorsal de cada carpelo; enquanto os estames maiores ainda exibem os filetes, os menores exibem as anteras, que não estão mais visíveis na última figura. (an = antera; co = complexo pétala-estame antepétalo; es = estilete; fc = filete de estame curto; fe = feixe lateral; fl = filete de estame longo; fv = feixe ventral; ne = nectário; pe = pétala; se = sépala; tc = traço vascular de estame curto; td = traço dorsal; tl = traço vascular de estame longo; tp = traço de pétala; tr = traço lateral; ts = traço de sépala; tu = tubo estaminal; tv = traço ventral). Barra = 80 μ m (7-18).



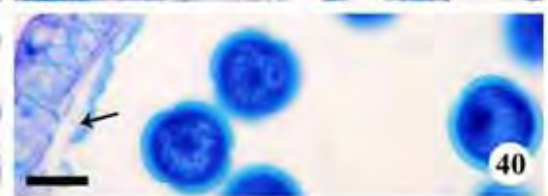
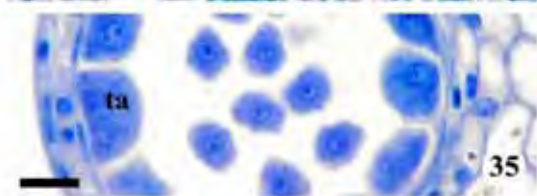
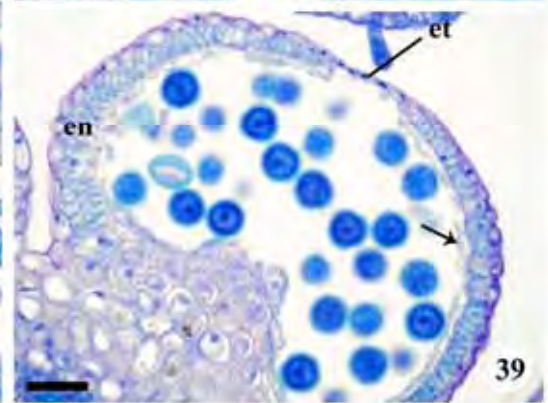
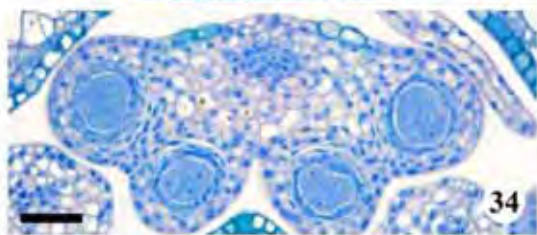
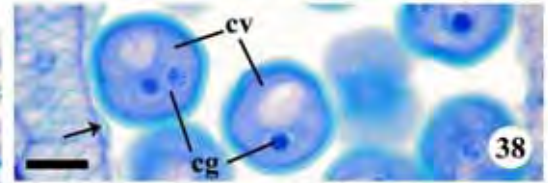
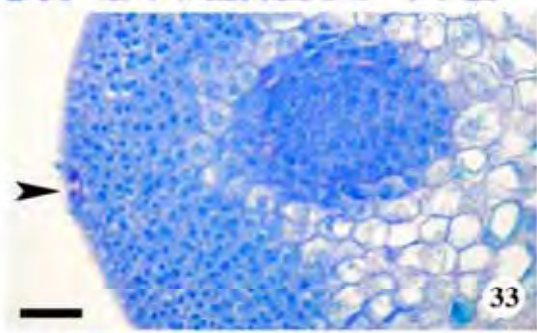
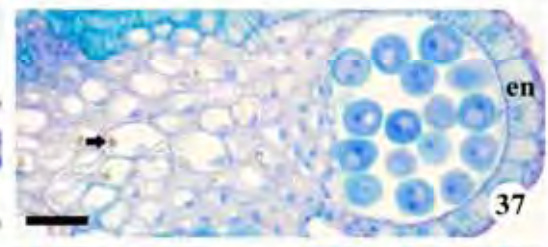
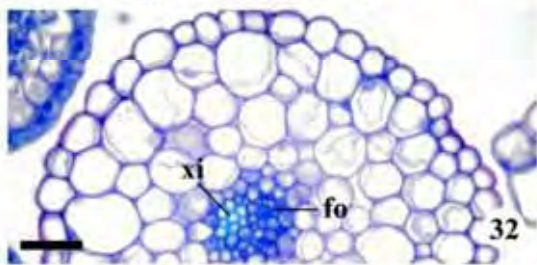
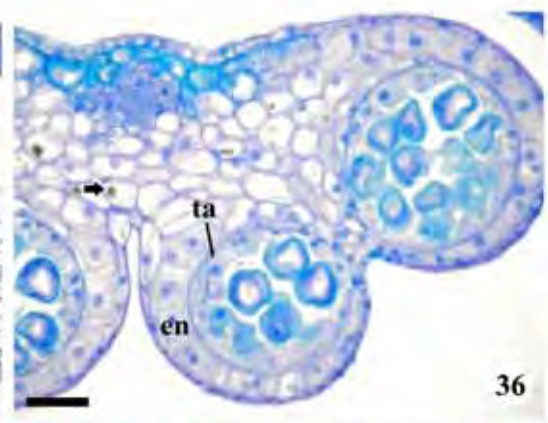
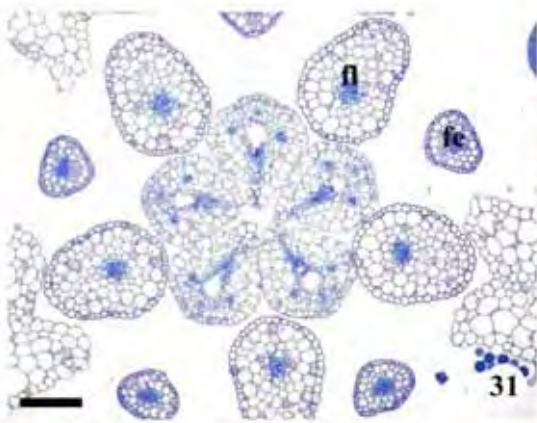
Figuras 19-23. Vascularização floral de *Oxalis cytisoides* Zucc. Secções transversais. 19. Detalhe da figura 11, mostrando o androginóforo, em que se reconhecem cinco nectários e dez traços de estames, os mais calibrosos curtos e antepétalos; notar, ainda, os pequenos traços dorsais já bem emitidos. 20. Detalhe da figura 12, com os traços laterais emitidos e ventrais parcialmente individualizados (dois por carpelo). 21. Detalhe do ovário, representado na figura 13, com feixes ventrais fundidos dois a dois e alinhados radialmente com os laterais. 22. Detalhe da figura 14, mostrando o ápice do ovário com o cômputo (asterisco); notar a divisão dos feixes laterais, irrigando as margens dos carpelos. 23. Detalhe de estiletos vistos na figura 17, mostrando diferentes graus de fusão entre os feixes laterais e o dorsal dos carpelos. (fd = feixe dorsal; fe = feixe lateral; fv = feixe ventral; ld = complexo feixe lateral-dorsal; lo = lóculo; ne = nectário; ov = óvulo; pe = pétala; tc = traço vascular de estame curto; td = traço dorsal; tl = traço vascular de estame longo; tr = traço lateral; tt = tecido de transmissão; tv = traço ventral). Barras = 100 μm (19), 25 μm (20), 50 μm (21-23).



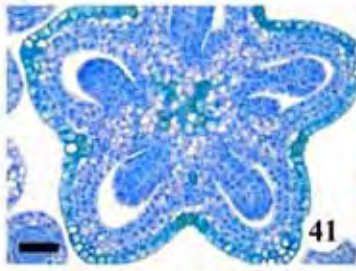
Figuras 24-30. *Oxalis cytisoides* Zucc. Secções transversais. 24. Aspecto geral de botão jovem, mostrando as pétalas pouco desenvolvidas. 25-29. Flor em antese. 25. Aspecto geral da sépala. 26. Detalhe de tricoma tector, observado em sépalas e estames. 27. Detalhe de tricoma glandular, ocorrente em sépalas, pétalas, estames e estiletos. 28. Aspecto geral da pétala. 29. Detalhe da pétala, destacando papilas, tricoma glandular e feixes vasculares. 30. Detalhe da pétala de botão em pré-antese, com estômatos elevados (ponta de seta). (an = antera; fl = filete de estame longo; pe = pétala; se = sépala). Barras = 100 μm (24), 25 μm (25, 29-30), 10 μm (26-27), 50 μm (28).



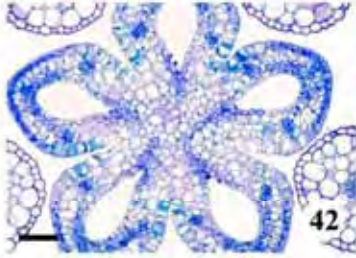
Figuras 31-40. *Oxalis cytisoides* Zucc. Secções transversais. 31. Detalhe do botão floral, mostrando a diferença de calibre entre filetes de estames longos e curtos. 32. Detalhe do filete com feixe vascular único. 33. Detalhe do nectário com estômato (ponta de seta); notar amplo cordão procambial próximo ao nectário. 34. Aspecto geral da antera com microsporocitos distintos. 35. Detalhe de microsporângio com microsporos jovens já individualizados. 36. Aspecto geral de antera mais desenvolvida, ainda com endotécio pouco diferenciado e tapete presente; notar cristais no endotécio (seta). 37. Detalhe de antera ainda com os quatro microsporângios distintos, mostrando endotécio com espessamentos diferenciados e ausência do tapete. 38. Detalhe da figura anterior, destacando microgametofitos e a presença de corpos de Ubisch (seta). 39. Detalhe da antera próxima da deiscência, após fusão dos dois microsporângios de cada teca; notar a presença de corpos de Ubisch (seta). 40. Detalhe de grãos de pólen maduros; observar os espessamentos reticulados do endotécio e os corpos de Ubisch (seta). (cg = célula generativa; cv = célula vegetativa; en = endotécio; et = estômio; fc = filete de estame curto; fl = filete de estame longo; fo = floema; ta = tapete; xi = xilema). Barras = 100 μm (31), 25 μm (32-34, 36-37, 39), 10 μm (35, 38, 40).



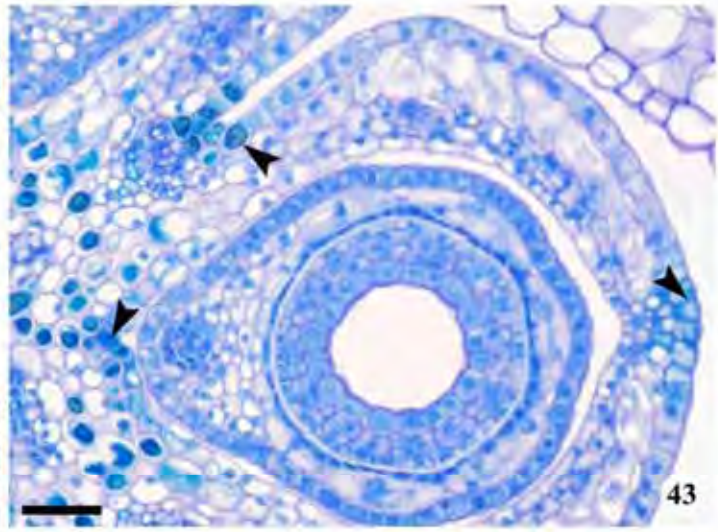
Figuras 41-49. *Oxalis cytisoides* Zucc. Secções transversais (41-46). Secções longitudinais (47-49). 41. Aspecto geral de ovário muito jovem, com quatro estratos parietais e óvulos em início de formação. 42. Aspecto geral do ovário diferenciado, ainda em botão floral, na altura em que se inicia a separação de carpelos. 43. Detalhe de ovário e óvulo durante a antese (ponta de seta = idioblasto fenólico). 44. Detalhe do ápice do ovário, onde os carpelos encontram-se individualizados. 45. Detalhe do estilete com amplo tecido de transmissão; notar a presença de tricoma. 46. Detalhe do eixo central do ovário, mostrando os feixes ventrais e alguns laterais. 47. Detalhe do óvulo no início da ontogênese; notar o nucelo com evidente megasporocito, bem como os primórdios dos tegumentos interno e externo. 48. Detalhe dos tegumentos, destacando o apêndice calazal (asterisco). 49. Detalhe do óvulo durante a antese; notar micrópila em ziguezague (seta = exóstoma; dupla ponta de seta = endóstoma). (fe = feixe lateral; fo = floema; fr = feixe rafeal; fv = feixe ventral; me = megasporocito; nu = nucelo; te = tegumento externo; ti = tegumento interno; tt = tecido de transmissão; xi = xilema). Barras = 25 μm (41-42, 45-46, 48), 50 μm (43-44, 49), 10 μm (47).



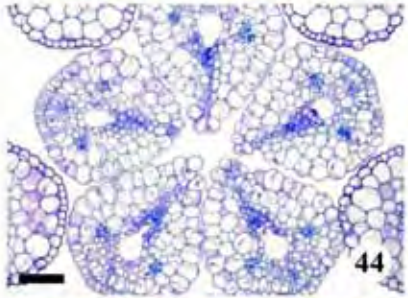
41



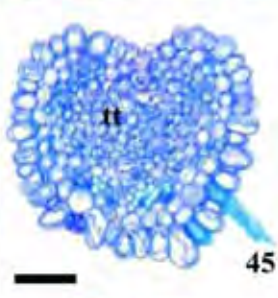
42



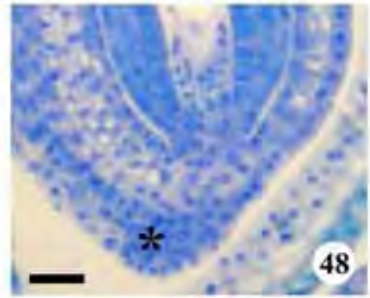
43



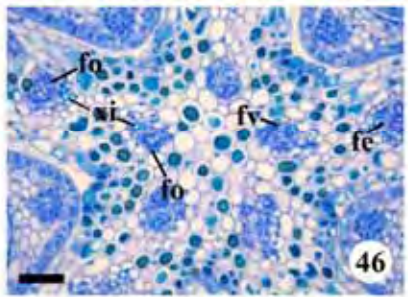
44



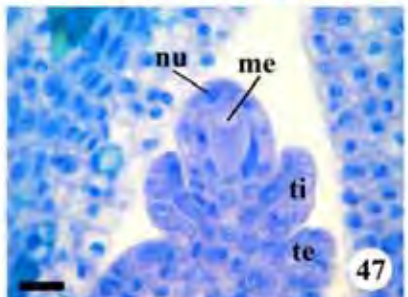
45



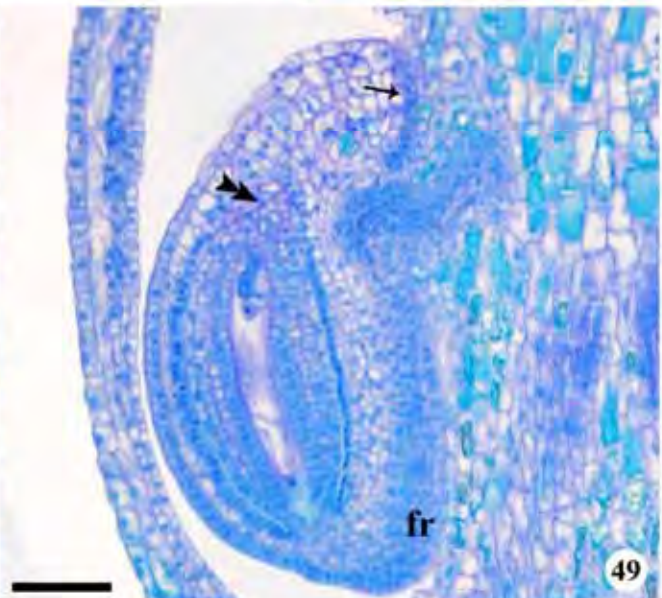
48



46



47



49

CAPÍTULO V¹

¹ Trabalho elaborado segundo as normas da Revista Brasileira de Botânica.

**Morfoanatomia e Ontogênese do Pericarpo e Semente de *Oxalis cytisoides* Zucc.
(Oxalidaceae), com ênfase no peculiar mecanismo de deiscência²**

JOÃO DONIZETE DENARDI³ e DENISE MARIA TROMBERT OLIVEIRA^{4,5}

Título resumido: Fruto e semente de *Oxalis cytisoides*

². Parte da tese de doutorado do primeiro autor, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu.

³. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Coxim, Rua Pereira Gomes, 355, Vila Santa Maria, 79.400-000, Coxim, MS, Brasil.

⁴. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Avenida Antonio Carlos, 6627, Pampulha, Caixa Postal 486, 31.270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.

⁵. Autor para correspondência: dmtoliveira@icb.ufmg.br

RESUMO - (Morfoanatomia e ontogênese do fruto e semente de *Oxalis cytisoides* Zucc. (Oxalidaceae), com ênfase no peculiar mecanismo de deiscência). *Oxalis cytisoides* pertence ao subgênero *Thamnoxys*, cujas espécies evoluíram principalmente nos campos e cerrados brasileiros; ocorre em campos e locais úmidos até 950 m de altitude, do Ceará até o Rio Grande do Sul e Argentina. O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de descrever a morfoanatomia e desenvolvimento do fruto e semente de *O. cytisoides*, relacionando a estrutura observada ao seu processo de dispersão. O material foi processado e incluído em metacrilato, produzindo-se lâminas permanentes; testes histoquímicos usuais foram realizados. O pericarpo de *O. cytisoides* passa por pequenas alterações durante o desenvolvimento, mantendo estrutura geral similar à parede ovariana, com exocarpo e endocarpo unisseriados e mesocarpo com dois estratos, o externo composto por parênquima aquífero, que mantém a turgescência do fruto até próximo da deiscência, e o interno, que é clorofiliano. As sementes desenvolvem ambos os tegumentos, com espessa cutícula na exotesta, mesotesta multiplicativa que acumula amido até próximo da maturidade, endotesta cristalífera e exotégmen unisseriado, composto por células paliçádicas espessadas e impregnadas por compostos fenólicos. São sementes albuminosas, com amplo endosperma formado de modo núcleo-celular. Ocorre deiscência loculicida no fruto, a partir da desidratação do mesocarpo externo, que contrai o pericarpo; tricomas endocárpicos lignificados alavancam as sementes, lançando-as balisticamente; como a testa se rompe na camada cristalífera, as sementes são dispersadas revestidas pelo exotégmen e resíduos da endotesta. Os eventos observados no tegumento foram previamente descritos para outras Oxalidaceae, mas a função do pericarpo, especialmente do endocarpo, na dispersão é relatada pela primeira vez neste trabalho.

Palavras chave – anatomia, dispersão, morfologia, pericarpo, tegumento

Introdução

No sistema APG II (APG 2003), Oxalidaceae pertence a Oxalidales, ordem do subclado de eurosídeas I, cujas relações permanecem não resolvidas. Stevens (2007) reconheceu como sinapomorfias para o subclado a ocorrência de exotégmen fibroso e endosperma escasso, fato que destaca a relevância da compreensão da estrutura seminal para o grupo. Diretamente para Oxalidales, o autor mencionou os seguintes caracteres reprodutivos: ocorrência de células de mucilagem, micrópila formada por ambos os

tegumentos, tegumento do óvulo multiplicativo, endotesta cristalífera e paliçada, e exotégmen fibroso ou traqueoidal.

Das cerca de 800 espécies que compõem as Oxalidaceae, aproximadamente 700 são de *Oxalis* (Stevens 2007), único gênero da família que ocorre naturalmente no estado de São Paulo (Fiaschi & Conceição 2005). Em Oxalidaceae, as flores são bissexuadas e, usualmente, heterostilas; é comum a ocorrência de cinco carpelos conatos, com ovário súpero, mais ou menos lobado e placentação axial, em geral com vários óvulos por lóculo; geralmente há cinco estiletos distintos e os estigmas são, freqüentemente, capitados ou puntiformes (Judd *et al.* 1999).

Oxalis cytisoides Zucc. inclui-se no subgênero *Thamnoxys*, cujas espécies evoluíram principalmente nos campos e cerrados do Brasil (Lourteig 1994) e para as quais não foram encontradas análises anatômicas de órgãos reprodutivos. A espécie ocorre em campos e locais úmidos até 950 m de altitude, desde o Ceará até o Rio Grande do Sul e na Argentina, e consiste de subarbustos eretos, com até 1 m, com folhas trifolioladas e pinadas (Fiaschi & Conceição 2005). Segundo os autores, os frutos são cápsulas elipsóides a globosas e glabras, com cavidades trisseminadas. Lourteig (1994), porém, mencionou a ocorrência de pilosidade em ambas as superfícies da cápsula e duas a três sementes por lóculo.

A estrutura do pericarpo de várias espécies de *Oxalis* foi descrita por Sauer (1933) e Estelita-Teixeira (1980). O fruto de *Oxalis* é uma cápsula rimosa, a qual se caracteriza, segundo Barroso *et al.* (1999), pela deiscência loculicida, sem a formação de valvas. Sua superfície pode ser glabra ou pilosa, e várias espécies desenvolvem tricomas endocárpicos (Lourteig 1975, 1994, 2002, Fiaschi & Conceição 2005).

De acordo com Corner (1976), as sementes das Oxalidaceae desenvolvem-se de óvulos anátropos, bitegmentados e tenuinucelados. A testa mucilaginosa é freqüentemente confundida com um arilo (Stevens 2007). Em vários gêneros, podem ocorrer ruminações nos tegumentos, as quais podem atingir o endosperma (Corner 1976, Boesewinkel 1985). Em *Oxalis*, as ruminações da semente são produzidas pela atividade mitótica de grupos de células da mesotesta; em *Biophytum*, são derivadas, exclusivamente, da expansão radial das células desse tecido (Boesewinkel 1985, Werker 1997).

Com relação a *O. cytisoides*, não foram encontradas análises estruturais dos órgãos reprodutivos, com exceção do trabalho de Denardi & Oliveira (Cap. IV, neste volume), que descreveram a morfoanatomia floral, enfatizando sua vascularização. Sobre o gineceu, os autores destacaram que é sincárpico, pentacarpelar e pentalocular, com carpelos conatos pelos bordos ventrais, os quais são livres e uniloculares no ápice. Em cada carpelo, há dois ou três

óvulos anátropos, dispostos axialmente. Segundo os autores, na parede ovariana, a epiderme externa e interna são unisseriadas e o mesofilo apresenta células volumosas e hialinas externamente e células pequenas e poligonais na porção interna.

Diante da relevância das características seminais para o subclado, da necessidade de dados que favoreçam o esclarecimento de relações filogenéticas entre as eurosídeas I e levando em conta o relato de Corner (1976) e Werker (1997) de um peculiar mecanismo de dispersão de sementes em certas Oxalidaceae, tornou-se oportuno o presente trabalho, que tem por objetivos: descrever a morfologia, anatomia e o desenvolvimento do fruto e semente de *O. cytisoides*, e relacionar a estrutura observada ao processo de dispersão da espécie.

Material e métodos

Sementes maduras de dez indivíduos de *Oxalis cytisoides* Zucc. (Oxalidaceae) foram coletadas em um fragmento de mata seca à margem da rodovia municipal (Estrada do Roberto) que liga a área urbana do Distrito de Vitoriana ao Rio Bonito Campo e Náutica, Município de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil; foram colocadas para germinar em casa de vegetação coberta por sombrite 50%, em sacos de plantio contendo substrato do local de coleta. Após o florescimento, as plantas foram observadas diariamente, coletando-se frutos e sementes nas diversas fases do desenvolvimento. Exsiccatas de indivíduos férteis foram inseridas no Herbário “Irina Delanova Gemtchujnicov” (BOTU), do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências da UNESP, Câmpus de Botucatu, registradas sob o número 24.172.

Inicialmente, foram realizadas observações morfológicas sob estereomicroscópio Leica, utilizando-se amostras de cerca de 50 unidades, ilustrando-se o fruto e a semente na maturidade. Apesar da espécie apresentar tristilia, Denardi & Oliveira (Cap. IV, neste volume) relataram que não há diferenças morfológicas e anatômicas entre as três formas florais, com exceção do comprimento do estilete. Deste modo, os frutos foram coletados independentemente de sua origem em flores brevistilas, medistilas ou longistilas.

O estudo anatômico foi realizado a partir de lâminas permanentes, preparadas a partir de amostras fixadas em FAA 50 (Johansen 1940) e preservadas em etanol 70% (Jensen 1962). As amostras passaram por desidratação em série etílica e inclusão em metacrilato Leica®, conforme o protocolo do fabricante, sendo obtidas séries transversais e longitudinais com cerca de 8 µm de espessura em micrótomo rotativo. As lâminas foram coradas com azul de toluidina 0,05%, pH 4,7 (O’Brien *et al.* 1964) e montadas com Entellan®.

Foram realizados os seguintes testes histoquímicos de cunho qualitativo, utilizando-se secções de material fresco e incluído em metacrilato: vermelho de rutênio, para a detecção de polissacarídeos ácidos; Sudan IV, para verificação de lipídios totais; lugol, para localizar amido; e cloreto férrico, para verificar a presença de compostos fenólicos (Johansen, 1940); azul mercúrio de bromofenol para indicar a presença de proteínas (Mazia *et al.*, 1953). Em secções de material fresco, aplicou-se floroglucinol acrescido de ácido clorídrico, para detecção de estruturas lignificadas (Sass 1951).

A descrição do desenvolvimento foi feita a partir da estrutura do ovário e óvulo apresentada por Denardi & Oliveira (Cap. IV, neste volume). Este trabalho considera fruto jovem desde a estrutura observada a partir da abscisão das primeiras peças florais até a fase pré-deiscência, quando as características do fruto maduro podem ser vistas.

O laminário foi analisado e os resultados foram fotografados em microscópio de luz Olympus BX41 com câmera digital Olympus C7070WZ acoplada.

Resultados

Fruto jovem – O primeiro estágio da ontogênese do pericarpo de *O. cytisoides* é caracterizado pela atividade meristemática, que se inicia após a fecundação, acompanhada pela diferenciação dos estratos celulares. Nesse período, as laterais provenientes de cada carpelo expandem-se, formando flancos e estreitando as reentrâncias entre eles (figuras 1-2). A porção dorso-apical do ovário desenvolve-se além da base dos estiletos e as dimensões do fruto aumentam significativamente em relação ao ovário.

Um carpóforo é constituído pelo androginóforo, o qual se mantém inconspícuo. Observa-se que o início do desenvolvimento do fruto coincide com a abscisão da corola e dos estames, embora estames antessépalos persistam por algum tempo (figura 1). Os estiletos são persistentes, assim como o cálice, que continua a se desenvolver (figura 1).

O exocarpo é unisseriado (figuras 2-5), constituindo-se de células papilosas (figuras 3-5) com cloroplastos, nos quais é evidenciada a presença de amido (figura 3). Ocorrem, também, estômatos e tricomas glandulares, unisseriados, formados por três a quatro células, esparsamente distribuídos; a célula apical destes apêndices é mais alongada que as demais, contém granulações citoplasmáticas finas e sua extremidade mostra-se levemente dilatada (figura 5). Nas reentrâncias entre flancos adjacentes, o exocarpo não apresenta superfície papilosa, estômatos ou tricomas, consistindo de células achatadas periclinalmente,

com acúmulo de substâncias fenólicas, exceto naquelas situadas próximo à superfície; as dimensões celulares variam ao longo da área da reentrância, conforme se observa na figura 2.

No mesocarpo, as células hialinas e vacuoladas (figura 3) dividem-se aleatoriamente, muitas vezes de forma assimétrica, ocasionando a expansão dos flancos que, em secção transversal, assumem aspecto deltóide (figura 2). A espessura deste tecido pode chegar a seis células, reduzindo-se o número de camadas e as dimensões celulares em direção à região dorsal. Trata-se de um parênquima aquífero, que consiste de células com formato e volume variáveis, paredes levemente sinuosas e finas, conteúdo hialino (figuras 2-6), alongadas longitudinalmente e dispostas em fileiras diagonais.

Subjacente ao parênquima aquífero, o mesocarpo consiste de parênquima clorofiliano com espaços intercelulares pequenos mas evidentes, sem ampliação do número de camadas registrado para esta região na parede ovariana. Em direção ao septo, o mesocarpo é formado por até três camadas de células parenquimáticas alongadas periclinalmente, destituídas de cloroplastos, entre as quais raramente ocorrem espaços (figura 2).

Nos septos e na região axial (figura 7), o mesocarpo constitui-se de parênquima colenquimatoso, cujas células apresentam paredes pécticas e tendem ao formato cilíndrico, muitas delas acumulando compostos fenólicos e amido, as quais delimitam espaços intercelulares pequenos e evidentes. O amido encontra-se depositado em todos os tecidos pericárpicos, especialmente nos cloroplastos (figura 3), mas é pouco comum no parênquima aquífero e no endocarpo. Cristais de oxalato de cálcio ocorrem com maior freqüência em células parenquimáticas dos septos e região axial do fruto, bem como próximos a elementos traqueais, especialmente em feixes de maior calibre. O sistema vascular, embora bem desenvolvido, ainda apresenta poucos elementos condutores diferenciados, tanto nos feixes dorsais (figura 4), quanto nos laterais (figuras 3, 6-7) e ventrais (figura 7). Na região do feixe dorsal, que é inconspícuo, o mesocarpo possui espessura de duas a três camadas de células pequenas e arredondadas, constituindo a região de maior fragilidade do pericarpo (figura 4).

No endocarpo, que permanece unisseriado como a epiderme interna do ovário que o originou, há formação de tricomas unicelulares com paredes espessadas (figura 8) e lignificadas, de conteúdo fenólico, orientados em direção à base da cavidade seminal; nas adjacências da região dorsal, desenvolvem-se numerosos estômatos (figura 4).

No decorrer desse período de desenvolvimento do pericarpo, as modificações observadas na semente resultam da atividade meristemática e expansão celular, que determinam aumento significativo de suas dimensões.

A semente desenvolve-se mantendo as características gerais do óvulo (figura 9), sendo anátropa e bitegumentada, com a presença de um pequeno apêndice calazal.

Na exotesta, após divisões anticlinais, as células tornam-se mais vacuoladas e um tanto mais altas que largas (comparar as figuras 9 e 11); exibem paredes pécticas, núcleo proeminente e citoplasma granular, e são recobertas por cutícula muito espessa (figuras 10-14). A mesotesta é multiplicativa, porém a atividade mitótica é irregular e produz rumações nos tegumentos, a intervalos mais ou menos regulares, resultando em ondulações observáveis tanto externa quanto internamente (figuras 10-11), acentuadas durante o desenvolvimento (figuras 12-13). A vascularização seminal restringe-se ao feixe rafeal (figuras 10, 12), originado no cordão procambial presente na estrutura em pós-antese (figura 9). A endotesta, inicialmente composta por células pouco mais densas que a mesotesta (figura 9), desenvolve-se como uma camada cristalífera, cujas células apresentam formato cubóide a poligonal, núcleo volumoso, conteúdo péctico e cristal prismático depositado próximo à parede periclinal interna (figura 13).

Com relação ao tegumento interno, destaca-se, em relação à estrutura inicial vista na figura 9, o alongamento anticlinal das células do exotégmen e a ampliação do número de camadas do mesotégmen (figuras 13-14); o endotégmen continua unisseriado, com células proporcionalmente menores que no início do desenvolvimento (comparar as figuras 9 com as 13-14). No entanto, logo após a expansão celular, meso- e endotégmen começam a se desintegrar.

Como estas sementes são provenientes de óvulos tenuinucelados, desde a fase inicial não se observam nem resíduos do nucelo. O endosperma apresenta núcleos livres (figuras 11-14) e o embrião alcança o estágio globular, mostrando pequeno suspensor (figura 15).

Fruto pré-maturação – Neste estágio, o pericarpo atinge as dimensões finais mediante o aumento de volume celular, que ocorre principalmente no parênquima aquífero (figuras 16-17), e o estiramento dos demais tecidos (figura 18), à exceção da região axial, que não exhibe alterações estruturais visíveis (figura 16). No mesocarpo, completa-se o desenvolvimento dos feixes vasculares. A expansão do pericarpo permite a acomodação da semente em desenvolvimento, que também alcança o tamanho característico, ao término dos eventos de diferenciação. A semente diferenciada apresenta sarcotesta translúcida e rumações que se estendem dos tegumentos à periferia do endosperma (figura 19).

Na exotesta, nota-se a cutícula muito espessa, porém as células acabam comprimidas e, portanto, não podem ser facilmente identificadas (figuras 20-21). A mesotesta é parenquimática, constituída por células volumosas, com paredes pécticas delgadas (figura 20) e reservas de amido (figura 21); as camadas externas mostram-se mais comprimidas (figuras 20-21). O feixe rafeal encontra-se diferenciado, com pequeno calibre e pouco evidente. Nas células da endotesta, ocorre espessamento da parede periclinal interna, que apresenta impregnação fenólica (figura 21); em seguida, observa-se a formação de depósitos pécticos no protoplasto (figura 23), possivelmente por meio de coalescência de pequenos vacúolos contendo substâncias dessa natureza, que delimitam, com a parede periclinal interna, uma câmara onde se aloja o cristal prismático (figura 24). No restante da célula, novos acréscimos pécticos preenchem a maior parte do lúmen, restringindo o protoplasto a pequenos tabiques no interior deste tampão péctico (figuras 20, 24).

O exotégmen diferencia-se como camada de células alongadas longitudinalmente, dispostas em paliçada, que apresentam lúmen estreito delimitado por paredes espessadas (figuras 20-24) não lignificadas, mas impregnadas por compostos fenólicos e outras substâncias cuja natureza não pôde ser determinada nos testes realizados. O mesotégmen é completamente absorvido, enquanto o endotégmen desenvolve-se como uma camada de células achatadas periclinalmente, com paredes finas (figuras 25-26) e conteúdo fenólico; posteriormente, ele é reabsorvido e reduzido a um estrato fenólico amorfo que se interpõe entre o exotégmen e o endosperma.

Depois que o embrião atingiu o estágio globular, inicia-se centripetamente a citocinese do endosperma. Entretanto, na região central, este tecido continua a se desenvolver mediante a atividade meristemática que se instala nas últimas camadas formadas (figura 25); algumas vezes, observam-se mitoses em células localizadas mais periféricamente (figura 26). Frequentemente, as células do endosperma exibem núcleos volumosos, com dois a três nucléolos (figura 27).

Na semente já desenvolvida, o endosperma é abundante (figura 28) e acumula lipídios e proteínas. Estas reservas também ocorrem no embrião, que tem formato espatulado (figura 29) e coloração esbranquiçada. Este consiste de dois cotilédones achatados, maiores que o eixo hipocótilo-radícula embora tão longos quanto, cada um recebendo um traço vascular, que se ramifica constituindo cordões procambiais de calibres variados (figura 30). O eixo embrionário apresenta plúmula rudimentar (figura 31) e ápice radicular revestido por primórdio de coifa (figura 32). Desta forma, a distribuição dos tecidos meristemáticos primários é típica.

Fruto maduro – Na fase pré-deiscência, o fruto maduro é uma cápsula túrgida, ovada a globosa, com estiletos persistentes (figura 33), que ocupam posição subterminal em virtude do desenvolvimento da região dorso-apical do pericarpo (figuras 33-34). Os estames antessépalos e cálice (figuras 33, 35) também subsistem. O carpóforo não mostra sinais de alongamento desde o início do desenvolvimento, de modo que só pode ser observado sob estereomicroscópio e após a remoção do cálice.

O fruto, pêndulo durante o desenvolvimento, assume posição ereta durante a maturação. O pericarpo torna-se membranáceo, em função da desidratação do parênquima aquífero (comparar as figuras 34 e 36), após o quê se dá a ruptura dorsal (figuras 35-36), caracterizando a deiscência loculicida, que expõe de duas a três sementes por cavidade. A pilosidade relatada em estádios anteriores mantém-se no pericarpo maduro; entretanto, os tricomas endocárpicos apresentam-se voltados para o ápice do pericarpo, após a deiscência.

Na fase pré-deiscência (figura 37), a semente exibe a porção externa túrgida, pela presença integral da testa. Simultaneamente à desidratação e deiscência do pericarpo, ocorre degradação das reservas de amido no parênquima mesotestal, seguida da ruptura da testa, ao longo da anti-rafe até o apêndice calazal, e liberação balística da porção interna da semente. Após a dispersão (figura 38), o envoltório seminal consiste apenas do tégmen e da parede periclinal interna fenólica da endotesta (figura 39), que se rompe na porção cristalífera, provocando o desprendimento da porção carnosa da testa. O tegumento remanescente confere coloração castanho-clara à semente.

Discussão

O pericarpo de *O. cytisoides* passa por pequenas alterações durante o seu desenvolvimento, mantendo a estrutura geral similar à observada na parede ovariana durante a antese (Denardi & Oliveira, Cap. IV, neste volume). A região mais ampla e evidente do pericarpo é o mesocarpo externo, composto por parênquima aquífero, que mantém a turgescência do fruto até próximo da deiscência. Roth (1977) descreveu dois mecanismos de deiscência, o higroscópico e o de turgor. Segundo a autora, o mecanismo higroscópico é o de maior importância para a deiscência de frutos, sendo fundamentado na capacidade de distensão e retração de paredes celulares, a qual é dependente da estrutura micelar, usualmente de células mortas na maturidade; já o mecanismo de turgor depende de um tecido de expansão, composto por células túrgidas, que exercem considerável pressão de turgor sobre tecidos vizinhos.

Na maturidade do fruto de *O. cytisoides*, o parênquima aquífero mesocárpico passa por intensa desidratação, de modo que a deiscência é resultante da contração das demais camadas celulares observadas nos flancos do fruto. A deiscência não é relacionada à contração de paredes de células mortas, como é comum em frutos com mecanismo higroscópico, mas apenas de células vivas, tanto parenquimáticas quanto epidérmicas. Trata-se, portanto, de um mecanismo higroscópico peculiar, que não produz deiscência muito ativa ou explosiva, já que estas são dependentes de estratos esclerenquimáticos diferenciados, como os relatados por Fahn & Zohary (1955) para pericarpos de leguminosas. Os autores destacaram que a tendência derivada é a redução do estrato esclerenquimático até o extremo da completa ausência deste.

Além de tecidos relacionados à produção da força que leva à deiscência, pericarpos deiscentes apresentam regiões de fragilidade, usualmente compostas por células de paredes delgadas (Roth 1977), nas quais se dá a ruptura pericárpica. *Oxalis cytisoides* forma cápsulas rimosas e, portanto, abre-se dorsalmente; como esta é a região mais delgada do pericarpo da espécie, abrangendo somente de quatro a cinco camadas celulares, e o próprio feixe dorsal tem tamanho reduzido, a fragilidade estrutural é responsável pelo local de abertura do fruto, não se reconhecendo camadas especiais de separação.

Analisando a constituição do pericarpo e considerando que a deiscência em *O. cytisoides* é passiva, sem estrato esclerenquimático nem tecido de separação distintos, pode causar estranheza o relato de liberação balística das sementes. De acordo com Corner (1976) e Werker (1997), algumas Oxalidaceae dos gêneros *Oxalis* e *Biophytum* apresentam um mecanismo incomum de dispersão das sementes, que envolve a ruptura brusca da testa e a ejeção da parte interna. A separação do tegumento externo é atribuída pelos autores a duas características da testa: ao estiramento da cutícula, durante o desenvolvimento da semente, e à elevada turgescência do parênquima mesotestal, resultante da degradação enzimática de amido pouco antes da maturação da semente. Para os autores, a tensão gerada por esses processos causa o rompimento das paredes das células cristalíferas da endotesta, provocando a liberação balística da semente, revestida pelo tégmen e, parcialmente, pela endotesta.

A estrutura seminal de *O. cytisoides* corrobora os relatos de Corner (1976) e Werker (1997). Contudo, ambos os trabalhos detiveram-se apenas à semente, não analisando em conjunto o pericarpo; deste modo, explicaram detalhadamente como a porção carnosa da testa é separada do restante da semente, mas não esclareceram os motivos de sua liberação balística do fruto. Neste trabalho, analisando-se em conjunto a estrutura pericárpica e seminal, pode-se reconhecer importante participação do endocarpo no processo de dispersão seminal.

Quando o pericarpo desidrata e se contrai, gera a força que produz as aberturas dorsais do fruto; quando esta contração atinge o endocarpo, os tricomas longos e lignificados, diferenciados com as extremidades voltadas para a base, são repuxados e estirados, sendo observados voltados para o ápice após a dispersão. Como as sementes preenchem a cavidade seminal, o movimento dos tricomas endocárpicos da base para o ápice alavanca as sementes que, com a maior parte da testa desprendida do tégmen, são lançadas bruscamente. A mudança de posição do fruto da espécie estudada, passando de pêndulo, durante todo o desenvolvimento, a ereto, à época da deiscência, favorece a eficiência da liberação balística das sementes.

Embora a correlação entre tricomas endocárpicos e a dispersão seja apresentada pela primeira vez neste trabalho, encontra-se o registro de que várias espécies de *Oxalis* desenvolvem esses tricomas (Lourteig 1975, 1994, 2002, Estelita-Teixeira 1980, Fiaschi & Conceição 2005). Estelita-Teixeira (1980), considerou que a disposição dos tricomas no interior da cavidade seminal sugere a sua participação no mecanismo de deiscência; no entanto, não apresentou detalhes sobre esse processo. Sauer (1933), por sua vez, ressaltou que a dispersão das sementes é efetuada exclusivamente pela camada externa do envoltório seminal.

A estrutura do pericarpo de diversas espécies de *Oxalis*, descrita por Sauer (1933) e Estelita-Teixeira (1980), apresenta características similares às aqui registradas.

Certamente, a espécie mais mencionada de Oxalidaceae é *Averrhoa carambola*, espécie muito apreciada em função dos frutos comestíveis. O fruto de *Averrhoa* pode ser classificado como campomanesoídeo (Barroso *et al.* 1999) e sua anatomia foi analisada por Dave *et al.* (1975), Kumar (1975) e Rao & Kothagoda (1984). Por ser um fruto carnoso e indeiscente, apenas aspectos estruturais gerais são comuns às espécies de *Oxalis*.

Dentre as sinapomorfias apontadas por Stevens (2007) para as eurosídeas I, a ocorrência de exotégmen fibroso é considerada constante em Oxalidaceae, exceto em *Biophytum*. Mesmo muito antes das análises moleculares atuais, Corner (1976) sugeriu que Oxalidaceae relaciona-se filogeneticamente a outras famílias portadoras deste caráter, entre as quais Connaraceae, hoje reconhecida como também pertencente a Oxalidales (APG 2003, Stevens 2007).

Ainda com relação ao exotégmen, a denominação de “fibroso” não se aplica perfeitamente a *O. cytisoides*, visto que a expressão induz à interpretação da presença de camada lignificada, como são as fibras. Na espécie estudada, o exotégmen é formado por células paliádicas espessadas, impregnadas por compostos fenólicos, mas sem lignina

detectável pelos testes histoquímicos realizados. Funcionalmente, não há nenhuma divergência, visto que a camada é resistente e protetora da semente, como são as camadas lignificadas em tegumentos seminiais.

A ontogênese tegumentar de *Oxalis* revela muitos aspectos peculiares que merecem ser destacados. A semente desenvolve-se bitegmentada até a maturidade, mas, observando-se apenas o diásporo, somente o tégmen é persistente. Também chama a atenção a diferenciação da endotesta como camada cristalífera, típica de Geraniaceae e Oxalidaceae (Werker 1997), à qual se associam conspícuos tampões pécticos. Análises ultra-estruturais futuras são relevantes para se entender a formação destes tampões e favorecer a interpretação de seu significado no processo de ruptura da testa.

Em *O. cytisoides*, a presença de rumações é evidente, verificando-se que abrangem ambos os tegumentos e a metade externa do endosperma. Werker (1997) destacou que as rumações podem atingir ou não o endosperma, sendo causadas por divisões localizadas, como o verificado na mesotesta da espécie em estudo, ou pelo alongamento desigual de uma única camada de células. Segundo a autora, ambos os padrões foram relatados para Oxalidaceae, o primeiro para espécies de *Oxalis* e o segundo para *Biophytum*.

O endosperma, presente nas sementes maduras de *O. cytisoides*, difere do esperado para as eurosídeas I que, segundo Stevens (2007), possuem endosperma escasso. A semente estudada possui embrião axial e espatulado (Martin 1946, Barroso *et al.* 1999), ocupando aproximadamente um quarto da semente, considerando-se a classificação de Martin (1946). O endosperma é, portanto, a porção mais volumosa desta semente na maturidade, sendo rico em lipídios e proteínas. Corner (1976) e Boesewinkel (1985) relataram que as reservas da semente de Oxalidaceae consistem apenas de óleos. Contudo, Jones & Earle (1966) quantificaram as reservas seminiais de *O. europaea*, encontrando 47,6% de óleos, 21,9% de proteínas e ausência de amido, corroborando os resultados dos testes histoquímicos aqui apresentados. Corner (1976) mencionou que a presença de endosperma é variável na família e Salter (1952) registrou que várias espécies de *Oxalis* da África do Sul não apresentam endosperma na maturidade.

A característica mais marcante do endosperma de *O. cytisoides*, contudo, é seu modo de formação. Inicialmente, o endosperma é nuclear, coincidindo com a generalização de Corner (1976) para as Oxalidaceae. Após a fase inicial, entretanto, mitoses completas, incluindo a cariocinese e a citocinese, ocorrem nas camadas endospermicas recém celularizadas, sendo responsáveis pela intensa proliferação deste tecido. A literatura reconhece apenas três padrões de formação de endosperma, nuclear, celular ou helobial

(Werker 1997), padrões que não permitem enquadrar *O. cytisoides*. O desenvolvimento analisado nesta espécie é um tipo misto, núcleo-celular, que foi anteriormente relatado apenas para espécies de *Manihot* (Euphorbiaceae) por Oliveira (2007).

Agradecimentos – Ao M.Sc. Pedro Fiaschi, pela identificação da espécie, e à FAPESP (Programa BIOTA, proc. nº 00/12469-3), pelo apoio financeiro. À CAPES, pela concessão da bolsa PICDT de João D. Denardi e ao CNPq, pela bolsa de produtividade em pesquisa de D.M.T. Oliveira.

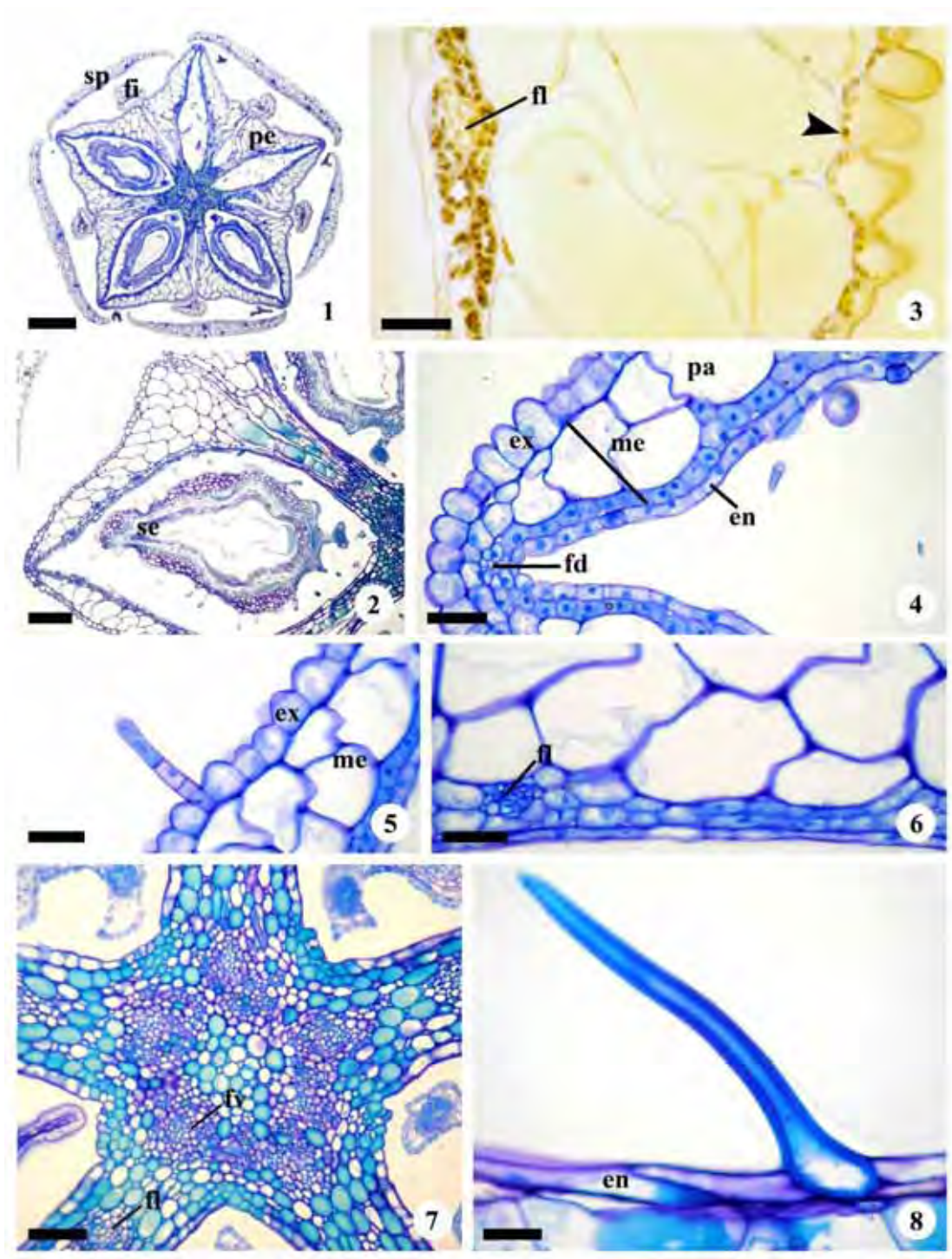
Referências bibliográficas

- APG. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141:399-436.
- BARROSO, G.M., MORIM, M.P., PEIXOTO, A.L. & ICHASO, C.L.F. 1999. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Editora UFV, Viçosa.
- BOESEWINKEL, F.D. 1985. Development of ovule and seed-coat in *Averrhoa* (Oxalidaceae) with notes on some related genera. *Acta Botanica Neerlandica* 34: 413-424.
- CORNER, E.J.H. 1976. The seeds of dicotyledons. University Press, Cambridge.
- DAVE, Y.S., PATEL, N.D., AND RUPERA, P.J. 1975. Structural studies in the pistil and developing fruit of *Averrhoa carambola* L. *Flora* 164: 479-486.
- ESTELITA-TEIXEIRA, M.E. 1980. Morfologia comparada de espécies ruderais do gênero *Oxalis*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- FAHN, A. & ZOHARY, M. 1955. On the pericarpial structure of the legumen, its evolution and relation to dehiscence. *Phytomorphology* 5:99-111.
- FIASCHI, P. & CONCEIÇÃO, A.A. 2005. Oxalidaceae. *In*: Flora fanerogâmica do estado de São Paulo (M.G.L. Wanderley, G.J. Shepherd, T.S. Melhem, S.E. Martins, M. Kirizawa & A.M. Giulietti, eds.). Rima, São Paulo, p.301-315.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W.H. Freeman, San Francisco.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.
- JONES, Q. & EARLY, F.R. 1966. Chemical analyses of seeds II: oil and protein content of 759 species. *Economic Botany* 20: 127-135.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.F. 1999. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Massachusetts.

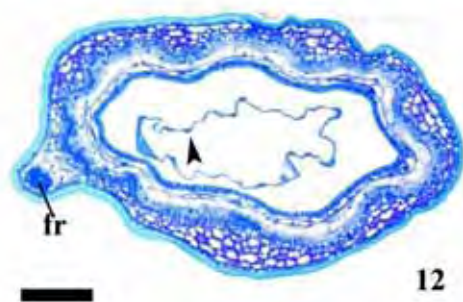
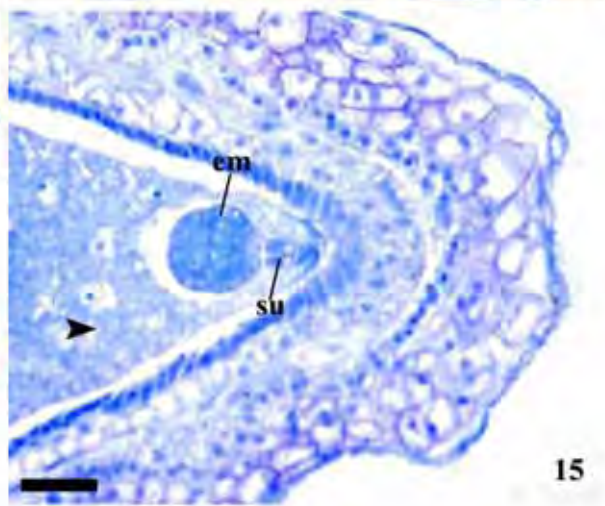
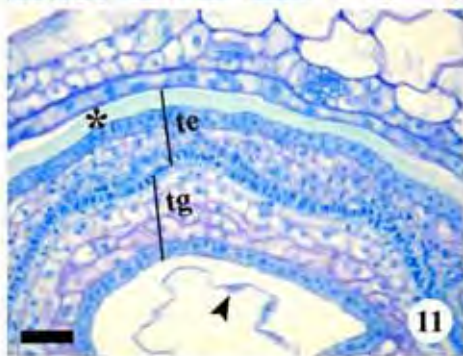
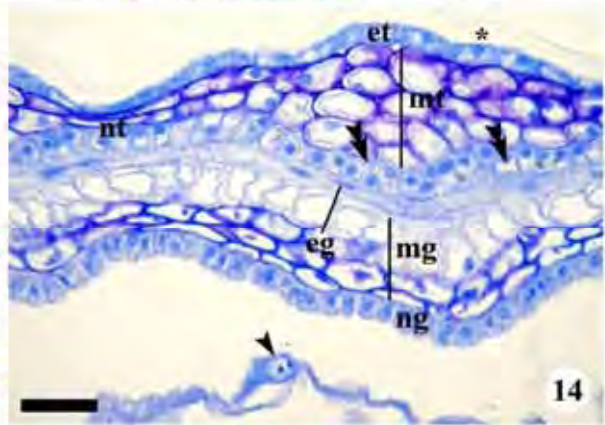
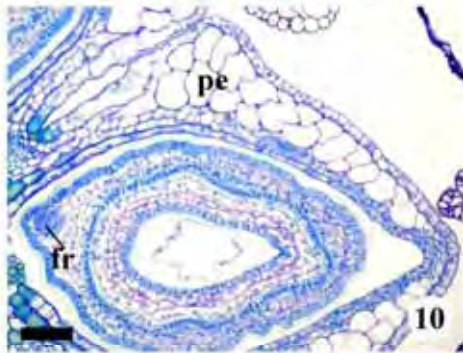
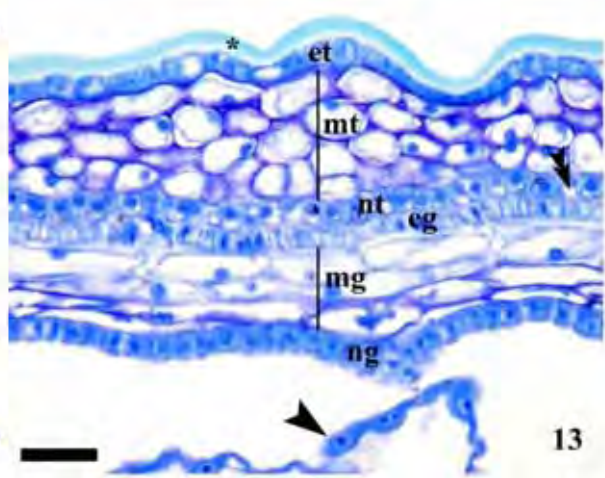
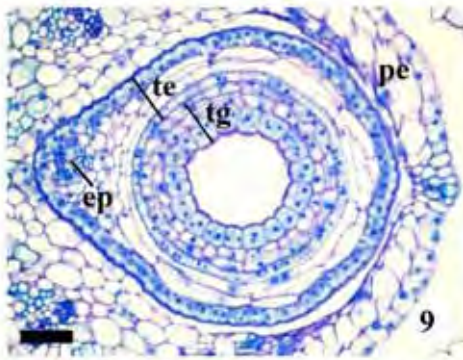
- KUMAR, A.L. 1975. Studies in Geraniales III. The structure and the development of the fruit wall in *Averrhoa carambola*. *Current Science* 44: 204-205.
- LOURTEIG, A. 1975. Oxalidaceae extra-austroamericanae. I. *Oxalis* L. sectio *Thamnoxys* Planch. *Phytologia* 29: 449-471.
- LOURTEIG, A. 1994. *Oxalis* L. subgênero *Thamnoxys* (Endl.) Reiche emend. Lourt. *Bradea* 7: 1-199.
- LOURTEIG, A. 2000. *Oxalis* L. subgêneros *Monoxalis* (Small) Louteig, *Oxalis* & *Trifidus* Louteig. *Bradea* 7: 201-629.
- MARTIN, A.C. 1946. The comparative internal morphology of seeds. *American Midland Naturalist* 36: 513-660.
- MAZIA J.C., BREMER P.A. & ALFERT M. 1953. The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. *Biological Bulletin* 110: 57-67.
- O'BRIEN, T.P., FEDER, N. & MCCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59:368-373.
- OLIVEIRA, J.H.G. 2007. Morfoanatomia e ontogênese do fruto e semente de *Manihot caerulescens* e *M. tripartita* (Euphorbiaceae). Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- RAO, A.N. & KOTHAGODA, N. 1984. Anatomy of certain tropical fruits. *Journal of Plant Anatomy and Morphology* 1: 83-137.
- ROTH, I. 1977. *Fruits of Angiosperms*. Gebrüder Borntraeger, Berlin. (Handbuch der Pflanzenanatomie).
- SALTER, T.M. 1952. Notes on the process of forming contrantile roots and the lowering of the first bulbils by seedlings of the south african *Oxalis* which produce endospermous seeds. *Journal of South African Botany* 17: 189-194.
- SASS, J.E. 1951. *Botanical microtechnique*. 2nd ed. Iowa State University Press, Ames.
- SAUER, H. 1933. Blüte und frucht der Oxalidaceen, Linaceen, Geraniaceen, Tropaelaceen und Balsaminaceen, vergleichend-entwicklungsgeschichtliche untersuchungen. *Panta* 19: 417-481.
- STEVENS, P.F. 2007. Angiosperm Phylogeny Website. Version 8. Acesso em 10/11/2007.
- WERKER, E. 1997. *Seed anatomy*. Berlin, Gebrüder Borntraeger. (Handbuch der Pflanzenanatomie).

Ilustrações

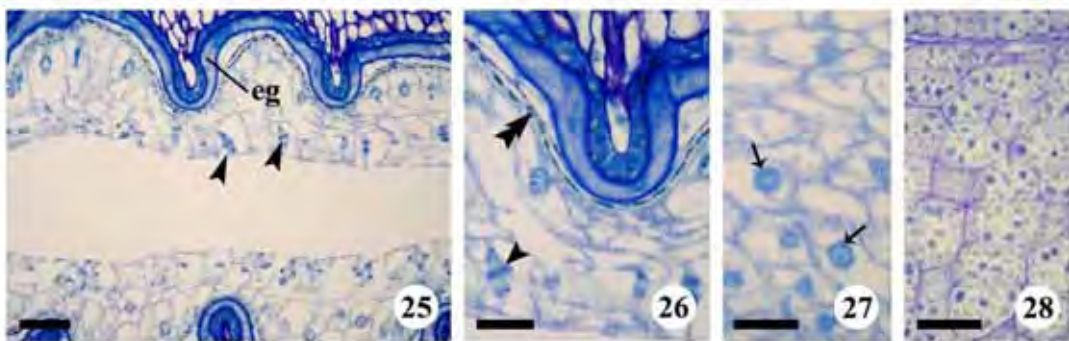
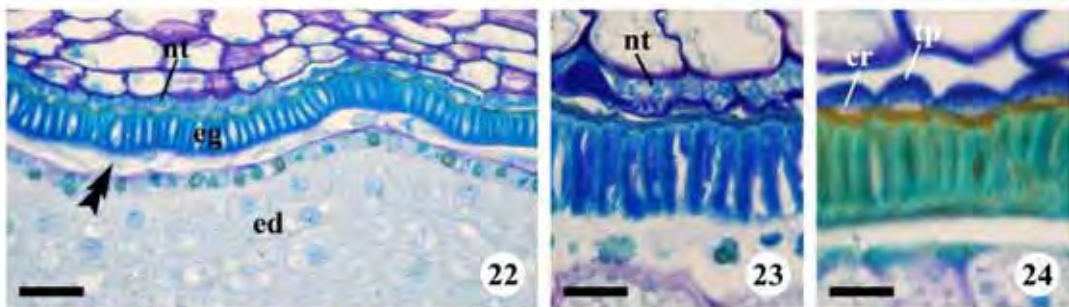
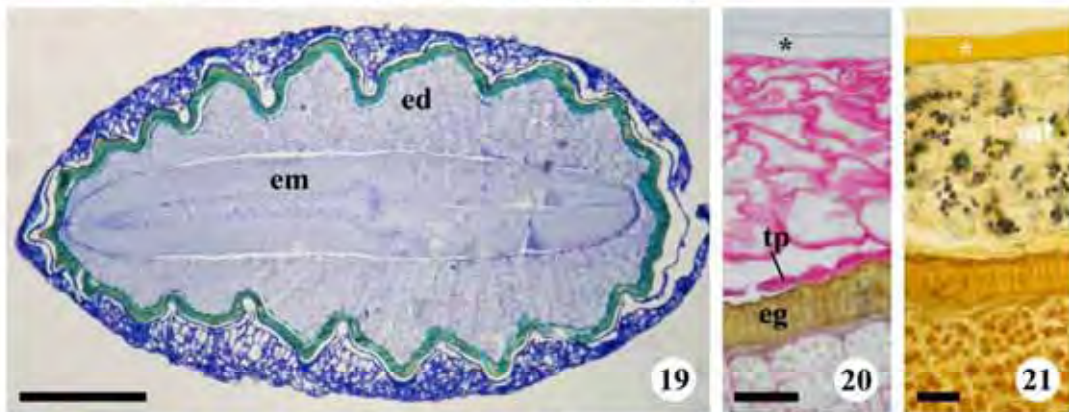
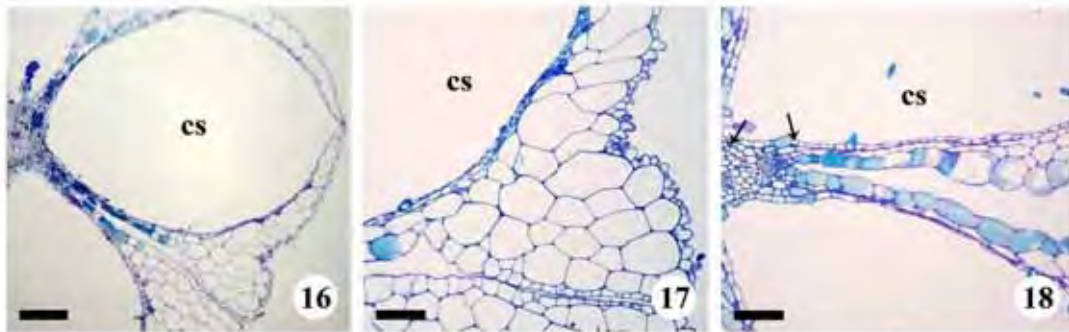
Figuras 1-8. Pericarpo jovem de *Oxalis cytisoides* Zucc. Secções transversais (1-7). Secção longitudinal (8). 1. Aspecto geral do fruto jovem, mostrando cinco filetes e cálice persistentes; notar os flancos expandidos, estreitando o espaço entre as laterais provenientes de carpelos contíguos (seta). 2. Detalhe da figura 1, mostrando o pericarpo com flancos. 3. Detalhe do pericarpo reagido com lugol (ponta de seta = cloroplasto com amido). 4. Detalhe da região dorsal; observar o feixe dorsal diminuto e a presença de estômato endocárpico (seta). 5. Detalhe do pericarpo, mostrando tricoma exocárpico. 6. Detalhe do mesocarpo e endocarpo, destacando um feixe lateral. 7. Aspecto dos septos, unidos à região axial do fruto; notar feixes laterais e ventrais alinhados radialmente. 8. Detalhe do endocarpo com tricoma. (en = endocarpo; ex = exocarpo; fd = feixe dorsal; fi = filete; fs = feixe lateral secundário; fv = feixe ventral; me = mesocarpo; pa = parênquima aquífero; pc = parênquima clorofiliano; pe = pericarpo; se = semente; sp = sépala). Barras = 200 μm (1), 25 μm (2, 5-6, 8), 100 μm (3, 4), 50 μm (7).



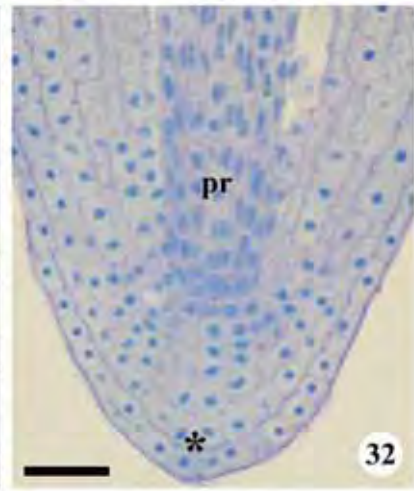
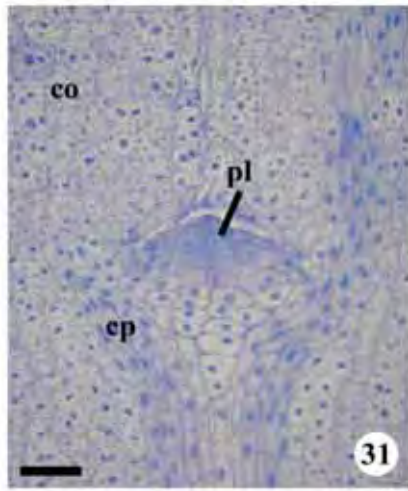
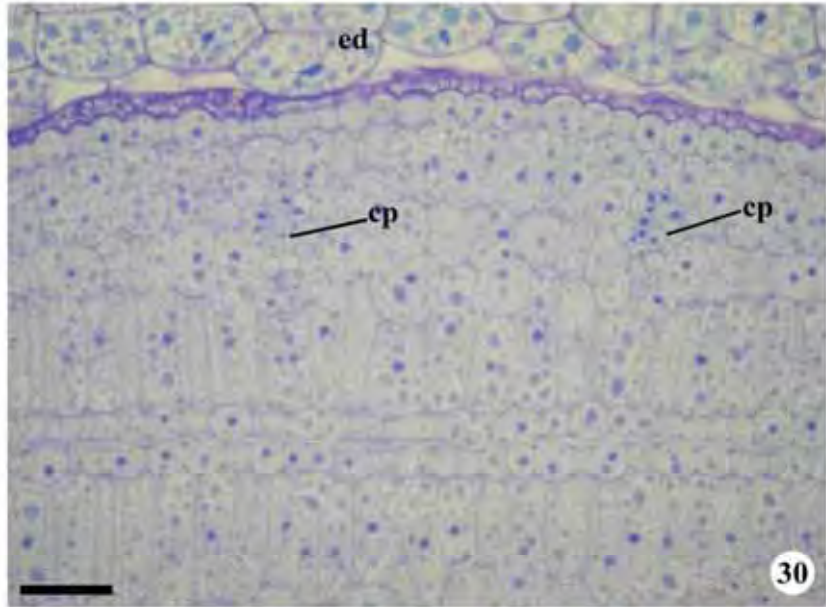
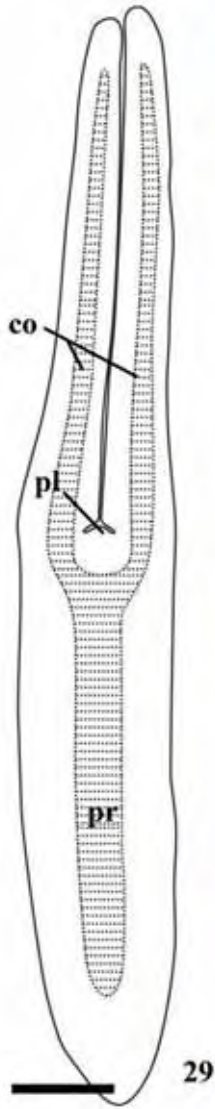
Figuras 9-15. Semente jovem de *Oxalis cytisoides* Zucc. Secções transversais (9-13). Secção longitudinal (14-15). 9. Início do desenvolvimento da semente, observado na fase imediatamente pós-antese. 10. Aspecto geral da semente preenchendo a cavidade seminal do fruto jovem, mostrando o contorno ondulado; notar o endosperma nuclear. 11. Detalhe da figura anterior. 12. Vista geral semente, com ruminações mais pronunciadas. 13-14. Detalhes da semente, na fase evidenciada na figura 12. 15. Detalhe da semente com embrião globular. (cp = cordão procambial; eg = exotégmen; em = embrião; et = exotesta; fr = feixe rafeal; mg = mesotégmen; mt = mesotesta; ng = endotégmen; nt = endotesta; pe = pericarpo; su = suspensor; te = testa; tg = tégmen; asterisco = cutícula espessa; ponta de seta = núcleo livre; dupla ponta de seta = cristal na endotesta). Barras = 25 μm (9, 11-15), 50 μm (10).



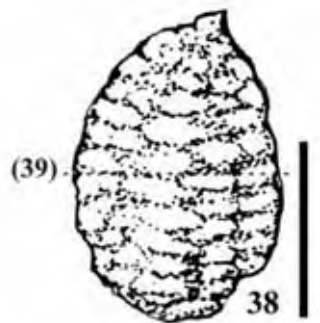
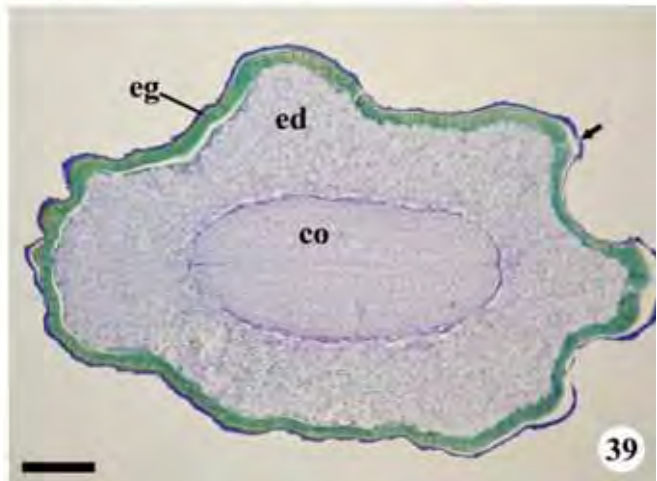
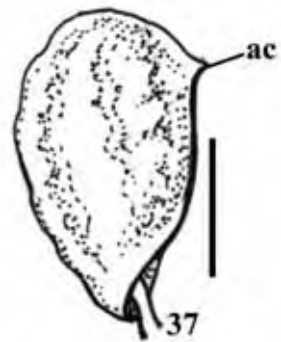
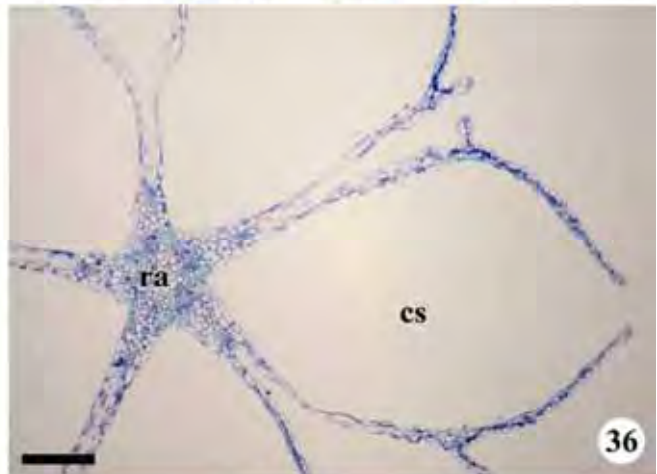
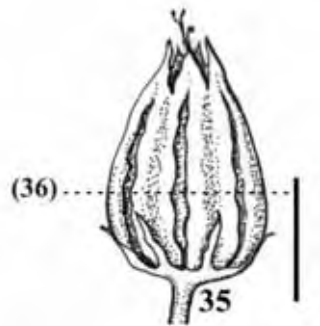
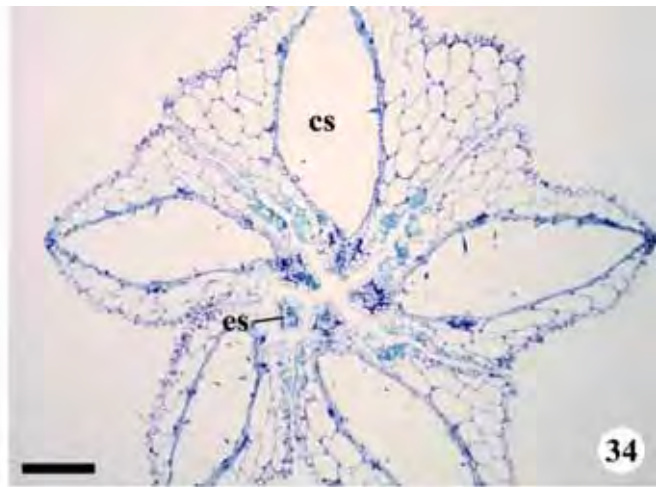
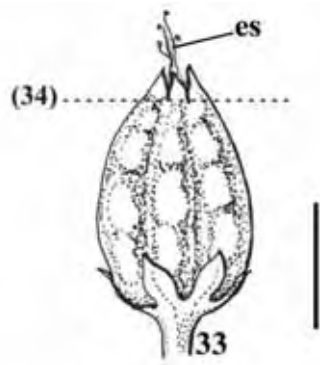
Figuras 16-28. Pericarpo e semente de *Oxalis cytisoides* Zucc., próximos à maturidade. Secções transversais (16-18, 20-24). Secções longitudinais (19, 25-28). 16. Fruto expandido, mostrando ampla cavidade seminal (a semente foi excluída). 17. Detalhe da figura anterior, mostrando o flanco. 18. Detalhe do pericarpo, próximo ao curto septo (entre setas). 19. Semente pré-dispersão, em secção transmediana. 20. Detalhe do tegumento reagido com vermelho de rutênio, destacando os tampões pécticos na endotesta; notar a espessura da cutícula (asterisco). 21. Detalhe do tegumento reagido com lugol; notar numerosos grãos de amido na mesotesta. 22. Detalhe do tegumento em maturação; notar a endotesta cristalífera com células densas, o exotégmen com paredes espessadas e o meso- e endotégmen ainda presentes como resquícios (dupla ponta de seta). 23-24. Detalhes com a seqüência de formação dos tampões pécticos na endotesta, indicados pela coloração mais densa nesta camada. 25. Detalhe de semente, mostrando o endosperma em formação, já celularizado, onde divisões celulares são freqüentes (ponta de seta). 26. Detalhe da figura anterior, em região próxima à ruminação, destacando os resquícios do meso- e endotégmen (dupla ponta de seta) e mitoses endospermicas (ponta de seta). 27. Detalhe endosperma jovem com núcleos volumosos com mais de um nucléolo (seta). 28. Detalhe endosperma, destacando as reservas. (cr = cristal; cs = cavidade seminal; ed = endosperma; eg = exotégmen; em = embrião; mt = mesotesta; nt = endotesta; tp = tampão péctico). Barras = 200 μm (16, 19), 100 μm (17-18), 25 μm (20-22, 26-28), 10 μm (23-24), 50 μm (25).



Figuras 29-32. Embrião de semente madura de *Oxalis cytisoides* Zucc. Secções longitudinais (29, 31-32). Secção transversal (30). 29. Diagrama da secção transmediana do embrião. 30. Detalhe dos cotilédones, justapostos ao endosperma. 31. Detalhe da plúmula. 32. Detalhe do ápice da radícula (asterisco = primórdio de coifa). (co = cotilédone; cp = cordão procambial; ed = endosperma; pl = plúmula; pr = procâmbio). Barras = 100 μm (29), 25 μm (30-32).



Figuras 33-39. Fruto e semente maduros de *Oxalis cytisoides* Zucc. Aspecto externo (33, 35, 37-38). Secções transversais, nas posições indicadas, respectivamente, nas figuras anteriores (34, 36, 39). 33-34. Fruto pré-deiscência; notar a ocorrência de estilete subterminal. 35-36. Fruto em deiscência. 37. Semente pré-dispersão, com a testa presente. 38-39. Semente dispersada, revestida pelo tégmen e resquício da endostesta, indicado na figura 39 (seta). (ac = apêndice calazal; co = cotilédone; cs = cavidade seminal; ed = endosperma; eg = exotégmen; es = estilete subterminal; ra = região axial). Barras = 3 mm (33, 35), 200 μ m (34, 36), 1 mm (37-38), 100 μ m (39).



CONSIDERAÇÕES FINAIS

À análise estrutural apresentada neste trabalho, cabem as seguintes considerações:

- As espécies estudadas compartilham vários caracteres e tendências morfológicas, que incluem:
 - pétalas com epiderme estomatífera, caráter que nas demais Oxalidales foi observado somente em *Crinodendron* (Elaeocarpaceae);
 - ocorrência de tricomas glandulares em pétalas, filetes e estiletos, os quais emitem compostos voláteis;
 - restrição de áreas nectaríferas aos setores antepétalos do tubo estaminal;
 - espessamento endotencial reticulado;
 - endotélio, que persiste como um estrato fenólico amorfo (*O. cytisoides*) ou é completamente absorvido durante o desenvolvimento seminal (*C. suberosus*);
 - crescimento assimétrico dos frutos, ocasionado por atividade meristemática mais intensa na face ventral (*Connarus suberosus*) ou dorso-apical (*Oxalis cytisoides*) do pericarpo;
 - pericarpo com estômatos exo- e endocárpico e tricomas internos;
 - presença de estrutura carnosa no tegumento seminal, que consiste de arilo rafe-calazal em *C. suberosus* e sarcotesta em *O. cytisoides*;
 - endotesta cristalífera; tégmen multiplicativo, mas parcialmente absorvido durante o desenvolvimento; exotégmen constituído por células com parede espessas, alongadas longitudinalmente;
 - endosperma endopoliplóide, com desenvolvimento núcleo-celular.
- A estrutura dos órgãos reprodutivos de *O. cytisoides*, espécie do subgênero *Thamnoxys*, é muito similar àquela de espécies classificadas no subgênero *Oxalis*.
- Em Connaraceae, as descrições morfológicas apontam certa variabilidade da construção pericárpica e seminal; desta forma, novos trabalhos de cunho estrutural podem auxiliar no refinamento das análises infra- e interfamiliares e evidenciar as tendências evolutivas relacionadas aos frutos e sementes de Connaraceae.
- Não há relatos prévios sobre a ocorrência de apomixia, de tricomas glandulares, que atuam como corpos de alimentação, e de mecanismo de deiscência por meio de turgescência em Connaraceae; desta forma, são pertinentes estudos adicionais voltados diretamente a esclarecer esses aspectos.

Referências Bibliográficas

- AIYAR, S. N. et al. Chemical components os the roots of *Connarus monocarpus*. **Phytochemistry**, v. 3, p. 335-339, 1964.
- ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, n. 3, p. 273-285, 2002.
- AL-NOWAIHI, A. S.; KHALIFA, F. Floral morphology of *Averrhoa carambola* L., *Oxalis cernua* Thunb. and *O. corniculata* L. with reference of the nature of the staminodes. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Biological Sciences**, v. 137, p. 189-198, 1971.
- ALVAREZ, G. O. Estudio sobre la oca (*Oxalis tuberosa* Mol) con especial referencia a su estructura y variabilidad. **Agronomia (Lima)**, v. 27, p. 28-38, 1960.
- APG. An ordinal classification for the families of the flowering plants. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 85, p. 531-553, 1998.
- APG. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 141, n. 4, 2003.
- BAKER, H. G. Heterostyly in the Connaraceae with special reference to *Byrsocarpus coccineus*. **Botanical Gazette**, v. 123, p. 206-211, 1962.
- BARRET, S. C. H. The evolution of plant sexual diversity. **Nature**, v. 3, p. 274-284, 2002.
- BARRET, S. C. H.; JENSON, L. K.; BAKER, A. The evolution and function os stylar polymorphisms in flowering plants. **Annals of Botany**, v. 85 (suplemento A), p. 253-265, 2000.
- BARROSO, G. M. et al. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 443
- BEHNKE, H. D. Sieve-element plastids of Connaraceae and Oxalidaceae. A contribution to the knowledge of P-type plastids in dicotyledons and their significance. **Botanische Jahrbücher für Systematik**, v. 103, n. 1, p. 1-8, 1982.
- BENSEL, C. R.; PALSER, B. F. Floral anatomy in the Saxifragaceae sensu lato.IV. Baueroideae and conclusions. **American Journal of Botany**, v. 62, n. 7, p. 688-694, 1975.
- BOESEWINKEL, F. D. Development of ovule and seed-coat in *Averrhoa* (Oxalidaceae) with notes on some related genera. **Acta Botanica Neerlandica**, v. 34, n. 4, p. 413-424, 1985.
- BRETELER, F. J. **Connaraceae: a taxonomic study with emphasis on Africa**. Wageningen: Agricultural University Wageningen Papers, 1989. 403 p.
- CHASE, M. W. et al. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from

- the plastid gene *rbcL*. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 80, n. 528-580, 1993.
- CORNER, E. J. H. **The seeds of dicotyledons**. V. 1. Cambridge: University Press, 1976. 311 p.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981. 1262 p.
- CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. Boston: Houghton Mifflin Co., 1968.
- CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2. New York: The New York Botanical Garden, 1988.
- DAHLGREN, G. An updated angiosperm classification. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 100, p. 197-203, 1989.
- DAVE, Y. S.; PATEL, N. D.; RUPERA, P. J. Structural studies in the pistil and developing fruit of *Averrhoa carambola* L. **Flora**, v. 164, p. 479-486, 1975.
- DAVIES, J. T. et al. Darwin's abominable mystery: insights from a supertree of the angiosperms. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Biological Sciences**, v. 101, p. 1904-1909, 2004.
- DENTON, M. F. A monograph of *Oxalis* section *lonoxalis* (Oxalidaceae) in North America. **Publications of the Museum Michigan State University**, v. 4, p. 455-615, 1973.
- DICKISON, W. C. Anatomical studies in the Connaraceae. I. Carpels. **Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society**, v. 87, p. 77-86, 1971.
- _____. Anatomical studies in the Connaraceae. II. Wood anatomy. **Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society**, v. 88, p. 120-136, 1972.
- _____. Anatomical studies in the Connaraceae. III. Leaf anatomy. **Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society**, v. 88, p. 120-136, 1973a.
- _____. Anatomical studies in the Connaraceae. IV. The bark and young stem. **Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society** v. 89, p. 166-171, 1973b.
- _____. Floral morphology and anatomy of *Bauera*. **Phytomorphology**, v. 25, p. 68-75, 1975a.
- _____. Studies on the floral anatomy of the Cunoniaceae. **American Journal of Botany**, v. 62, n. 2, p. 433-447, 1975b.
- _____. A survey of pollenmorphology of the Connaraceae. **Pollen et Spores**, v. 21, n. 1-2, p. 31-79, 1979.
- _____. Fruits and seeds of the Cunoniaceae. **Journal of the Arnold Arboretum**, v. 65, n. 2, 1984.

- DITSCH, F.; PATHA, H.; BARTHLOTT, W. Micromorphology of epicuticular waxes in Fabales s. l. and its systematic significance. **Beitrag Biologie Pflanzen**, v. 68, p. 297-310, 1995.
- DOWELD, A. B. The carpology and taxonomic relationships of *Davidsonia* (Davidsoniaceae). **Edinburg Journal of Botany**, v. 55, n. 1, p. 13-25, 1998.
- EAMES, A. J. **Morphology of the Angiosperms**. New York: Robert E. Krieger, 1977. 518 p.
- EGLY, G. F. et al. Bioactive alkyl phenols and embelin from *Oxalis erythrorhiza* **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, n. 2-3, p. 241-247, 2003.
- ESTELITA-TEIXEIRA, M. E. Floral vascularization in Oxalidaceae. **Boletim de Botânica, Universidade de São Paulo**, v. 8, p. 75-85, 1980a.
- _____. **Morfologia comparada de espécies ruderais do gênero *Oxalis***. 1980b. 136 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- _____. Morfologia floral de três espécies de *Oxalis* L. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 7, p. 41-48, 1984.
- EYDE, R. H. Anatomy. In: CUATRECASAS, J. (Ed.). **Brunelliaceae - Flora Neotropica Monographs n.2**, 1970. p. 32-43.
- FIASCHI, P.; CONCEIÇÃO, A. A. Oxalidaceae. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J., et al (Ed.). **Flora fanerogâmica do estado de São Paulo**. São Paulo: Rima, 2005. p.301-315.
- FORERO, E. **Connaraceae**. *Flora Neotropica Monograph 36*: 1-208 p. 1983.
- FORERO, E.; COSTA, C. B. Connaraceae. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J., et al (Ed.). **Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP, HUCITEC, v.2, 2002. p.85-92.
- GANDERS, F. R. The biology of heterostyly. **New Zeland Journal of Botany**, v. 17, p. 607-635, 1979.
- GIBBS, P. E. Studies on the breeding system of *Oxalis tuberosa* Mol. **Flora**, v. 165, p. 129-138, 1976.
- GODLEY, E. J. The fruit in *Ackama*, *Caldcluvia*, and *Weinmannia* (Cunoniaceae). **New Zealand Journal of Botany**, v. 21, p. 455-456, 1983.
- GOVIL, C. M.; SAXENA, N. P. Anatomy and embryology of *Weinmannia fraxinea* SM (Cunoniaceae). **Journal of the Indian Botanical Society**, v. 55, p. 219-226, 1976.
- GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasilica**, v. 17, n. 4, p. 561-584, 2003.

- HEIMSCH, C. Comparative anatomy of the secondary xylem in the Gruinales and Terebinthales of Wettstein with reference to taxonomic grouping. **Lilloa**, v. 8, p. 83-198, 1942.
- HUFFORD, L.; DICKISON, W. C. A phylogenetic analysis of Cunoniaceae. **Systematic Botany**, v. 17, n. 2, p. 181-200, 1992.
- HUTCHINSON, J. **Evolution and Phylogeny of Flowering Plants**. London: Academic Press, 1969.
- INGRAM, J. The cultivated species of *Oxalis*. I. The caulescent species. **Baileya**, v. 6, p. 22-32, 1958.
- _____. The cultivated species of *Oxalis*. II. The acaulescent species. **Baileya**, v. 7, p. 11-22, 1959.
- JEANNODA, V. L. R. et al. Natural occurrence of methionine sulfomixine in the Connaraceae family. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 14, p. 11-17, 1985.
- JIMÉNEZ, G. et al. Biological screening of plants of the venezuelan amazons. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 77-83, 2001.
- JONES, Q.; EARLY, F. R. Chemical analyses of seeds II: oil and protein content of 759 species. **Economic Botany**, v. 20, p. 127-135, 1966.
- JONGKIND, C. C. H. Fruits and seeds. In: BRETELER, F. J. (Ed.). **Connaraceae: a taxonomic study with emphasis on Africa**: Agricultural University Wageningen Papers, 1989. p.43-48.
- JUDD, W. S. et al. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Massachusetts: Sinauer Associates, 1999. 464 p.
- KAPIL, R. N.; BOR, J.; BOUMAN, F. Seed appendages in Angiosperms. **Botanische Jahrbucher fur systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie**, v. 101, n. 4, p. 555-573, 1980.
- KENNEDY, M. J.; PRAKASH, N. A morphological and embryological study of *Callicoma serratifolia* Andr. (Cunoniaceae). **Australian Journal of Botany**, v. 29, p. 721-731, 1981.
- KNUTH, R. Oxalidaceae. **Das Pflanzenreich**, v. 6 pt 130, p. 1-481, 1930.
- KUMAR, A. Studies in Geraniales II. The floral anatomy. **Journal of the Indian Botanical Society**, v. 55, p. 233-253, 1976.
- KUMAR, A. L. Studies in Geraniales III. The structure and the development of the fruit wall in *Averrhoa carambola*. **Current Science**, v. 44, p. 204-205, 1975.
- KUWABARA, H. et al. Tricin from a malagasy connaraceous plant with potent antihistaminic activity. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 1273-1275, 2003.

- LACK, A. J.; KEVAN, P. G. The reproductive biology of a distylous tree, *Sarcotheca celebica* (Oxalidaceae) in Sulawesi, Indonesia. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 95, n. 1, p. 1-8, 1987.
- LE, P. M. et al. NMR study of quinolizidine alkaloids: relative configurations, conformations. **Magnetic resonance in chemistry**, v. 43, p. 283-293, 2005.
- LEENHOUTS, P. W. Connaraceae. **Flora Malesiana**, v. 5, p. 495-541, 1958.
- LEMMENS, R. H. M. J. Heterostyly In: BRETELIER, F. J. (Ed.). **The Connaraceae: a taxonomic study with emphasis on Africa**: Wageningen: Agricultural University Wageningen Papers, v.56-75, 1989. p.19-21.
- LOPEZ NARANJO, H.; HUBER, H. Anatomia comparativa de las semillas de *Brunellia* y *Weinmannia* com respecto a su posición sistematica. **Pittieria**, v. 3, p. 19-28, 1971.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 608.
- LORENZO, E. Sobre la inflorescencia, morfología floral y embriología de *Janusia guaranitica* (Malpighiaceae). **Kurtziana**, v. 14, p. 101-124, 1981.
- LOURTEIG, A. Oxalidaceae extra-austroamericanae. I. *Oxalis* L. sectio *Thamnoxys* Planch. **Phytologia**, v. 29, p. 449-471, 1975.
- _____. Oxalidaceae extra-austroamericanae. II. *Oxalis* L. sectio *Corniculatae* DC. **Phytologia**, v. 42, p. 57-198, 1979.
- _____. *Oxalis* L. subgénero *Thamnoxys* (Endl.) Reiche emend. Lourt. **Bradea**, v. 7, n. 1, p. 1-199, 1994.
- _____. *Oxalis* L. subgenus *Trifidus* Lourt. n. subgen. **Bradea**, v. 6, n. 45, p. 389-395, 1995.
- _____. *Oxalis* L. subgéneros *Monoxalis* (Small) Lourteig, *Oxalis* & *Trifidus* Lourteig. **Bradea**, v. 7, n. 2, p. 201-629, 2000.
- MANNING, J. C.; STIRTON, C. H. Endothelial thickenings and phylogeny of the Leguminosae. In: FERGURSON, I. K. e TUCKER, S. (Ed.). **Advances in legume systematic 6: structural botany**. Kew: Royal Botanic Garden, 1994. p.141-163.
- MARCO, D. E.; ARROYO, M. T. K. The breeding system of *Oxalis squamata*, a tristylous South American species. **Botanica Acta**, v. 111, n. 6, p. 497-504, 1998.
- MATTHEWS, M. L.; ENDRESS, P. K. Comparative floral structure and systematics in Oxalidales (Oxalidaceae, Connaraceae, Brunelliaceae, Cephalotaceae, Cunoniaceae, Elaeocarpaceae, Tremandraceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 140, n. 4, p. 321-381, 2002.
- _____. Comparative floral structure and systematics in Celastrales (Celastraceae,

Parnassiaceae, Lepidobotryaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 149, p. 129-194, 2005.

_____. Floral structure and systematics in four orders of rosids, including a broad survey of floral mucilage cells. **Plant Systematics and Evolution**, v. 260, p. 199-221, 2006.

MAYURA DEVI, P. Heterostyly in *Biophytum sensitivum* DC. **Journal of Genetics**, n. 59, p. 41-48, 1964.

MILHOMENS, L. C.; PROENÇA, C. E. B. Redução de *Connarus suberosus* var. *fulvus* (Planchon) Forero e *Rourea induta* var. *reticulata* (Planchon) Baker às respectivas variedades típicas. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer**, v. 9, p. 5-22, 2002.

MOODY, M.; HUFFORD, L. Floral development and structure of *Davidsonia* (Cunoniaceae). **Canadian Journal of Botany**, v. 78, p. 1034-1043, 2000.

MULCAHY, D. L. The reproductive biology of *Oxalis priceae*. **American Journal of Botany**, v. 51, n. 10, p. 1045-1050, 1964.

NAIR, N. C. Studies on Meliaceae. VI. Morphology and anatomy of the flower of the tribe Cedreleae and discussion on the floral anatomy of the family. **The Journal of the Indian Botanical Society**, v. 42, n. 2, p. 177-189, 1963.

NANDI, O.; CHASE, M. W.; ENDRESS, P. K. A combined cladistic analysis of angiosperm using rbcL and non-molecular data sets. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 85, p. 137-212, 1998.

NARAYANA, L. L. A contribution to the floral anatomy of Oxalidaceae. **Journal of Japanese Botany**, v. 41, n. 11, p. 321-328, 1966.

OLIVEIRA, D. M. T.; BELTRATI, C. M. Aspectos anatômicos dos frutos e sementes em desenvolvimento de *Inga fagifolia* (Fabaceae: Mimosoideae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 53, n. 4, p. 625-636, 1993.

ORNDUFF, R. The breeding system of *Oxalis suksdorfii*. **American Journal of Botany**, v. 51, n. 3, p. 307-314, 1964.

_____. The breakdown trimorphic incompatibility in *Oxalis* section Corniculatae. **Evolution**, n. 26, p. 52-63, 1972.

OTSHUDI, A. L.; VERCRUYSSSE, A.; FORIERS, A. Contribution to the ethnobotanical, phytochemical and pharmacological studies of traditionally used medicinal plants in the treatment of dysentery and diarrhoea in Lomela area, Democratic Republic of Congo (DRC). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 411-423, 2000.

RAO, A. N.; KOTHAGODA, N. Anatomy of certain tropical fruits. **Journal of Plant Anatomy and Morphology**, v. 1, n. 2, p. 83-137, 1984.

RAO, V. S.; SIRDESHMUKH, K.; SADAR, M. G. The floral anatomy of the Leguminosae. **Journal of the University of Bombay**, v. 26, n. 5B, p. 65-138, 1958.

RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J. F. Espécies lenhosas da fitofisionomia cerrado sentido amplo em 170 localidades do bioma cerrado. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer**, v. 7, p. 7-112, 2001.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do alto Rio Grande - Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p. 102-123, 2001.

RONSE DECRAENE, L.; SMETS, E. F. The distribution and systematic relevance of the androecial character oligomery. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 118, p. 193-247, 1995.

_____. Notes on the evolution of androecial organization in the Magnoliophytina (Angiosperms). **Botanica Acta**, n. 111, p. 77-86, 1997.

SALTER, T. M. Notes on the process of forming contractile roots and the lowering of the first bulbils by seedlings of the south african *Oxalis* which produce endospermous seeds. **Journal of South African Botany**, v. 17, p. 189-194, 1952.

SAUER, H. Blüte und frucht der Oxalidaceen, Linaceen, Geraniaceen, Tropaelaceen und Balsaminaceen, vergleichend-entwicklungsgeschichtliche untersuchungen. **Planta**, v. 19, p. 417-481, 1933.

SAVOLAINEN, V. et al. Phylogeny of the eudicots: a nearly complete familial analysis based on *rbcL* gene sequences. **Kew Bulletin**, v. 55, p. 257-309, 2000.

SCHELLENBERG, G. Connaraceae. In: ENGLER, A. (Ed.). **Das Pflanzenreich**. Leipzig: Engelmann, v.4, 1938.

SOLTIS, D. E. et al. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, *rbcL*, and *atpB* sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 133, p. 381-461, 2000.

_____. **Phylogeny and evolution of Angiosperms**. Massachusetts: Sinauer Associates, 2005. 370

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 608 p.

STERLING, C. Developmental anatomy of the fruit of *Prunus domestica* L. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 80, p. 457-477, 1953.

_____. The affinities of *Prinsepia* (Rosaceae). **American Journal of Botany**, v. 50, p. 693-699, 1963.

_____. Comparative morphology of the carpels in the Rosaceae. I. Prunoideae: *Prunus*. **American Journal of Botany**, v. 51, p. 36-44, 1964a.

_____. II. Prunoideae: *Maddenia*, *Pygeum*, *Osmaronia*. **American Journal of Botany**, v.

51, p. 354-360, 1964b.

_____. III. Pomodeae: *Crataegys*, *Hesperomeles*, *Mespilus*, *Osteomeles*. **American Journal of Botany**, v. 51, p. 705-712, 1964c.

_____. IV. Pomoideae: *Chamaemeles*, *Cotoneaster*, *Dichotomanthes*, *Pyracantha*. **American Journal of Botany**, v. 52, p. 47-54, 1965a.

_____. V. Pomoideae: *Amelanchier*, *Aronia*, *Malacomeles*, *Malus*, *Peraphylum*, *Pyrus*, *Sorbus*. **American Journal of Botany**, v. 52, p. 418-426, 1965b.

_____. VI. Pomoideae: *Eriobotrya*, *Heteromeles*, *Photinia*, *Pouthiaea*, *Raphiolepis*, *Stranvaesia*. **American Journal of Botany**, v. 52, p. 938-946, 1965c.

_____. IX. Spiraeoideae: Quillajaeae, Sorbarieae. **American Journal of Botany**, v. 53, p. 951-960, 1966a.

_____. VII. Pomoideae: *Chaenomeles*, *Cydonia*, *Docynia*. **American Journal of Botany**, v. 53, p. 225-231, 1966b.

_____. VIII. Spiraeoideae: Holodisceae, Neillieae, Spiraceae, Ulmariaceae. **American Journal of Botany**, v. 53, p. 521-530, 1966c.

_____. Comparative morphology of the carpel in the Rosaceae. X. Evaluation and summary. **Osterreichische Botanische Zeitschrift**, v. 116, p. 46-54, 1969.

STEVENS, P. F. Angiosperm Phylogeny Website. 2007. Acesso em: 20/11/2007.

TAKHTAJAN, A. **Flowering plants, origin and dispersal**. Edinburgh: Oliver & Boyd, 1969. 310 p.

_____. **Diversity and Classification of Flowering Plants**. 2. New York: Columbia University Press, 1997. 514 p.

TAVEIRA, E. F. et al. Atividade farmacológica dos extratos da casca do caule do tropeiro, *Connarus fulvus* Planch. **Acta Amazonica**, v. 18, n. 1-2 p. 231-240, 1988.

THORNE, R. F. Classification and geography of the flowering plants. **Botanical Review**, v. 58, p. 225-358, 1992.

THORNE, R. T. The Classification and Geography of the Flowering Plants: Dicotyledons of the Class Angiospermae (Subclasses Magnoliidae, Ranunculidae, Caryophyllidae, Dilleniidae, Rosidae, Asteridae, and Lamiidae). **The Botanical Review**, v. 66, n. 4, p. 441-647, 2000.

TROGNITZ, B. R.; HERMANN, M. Inheritance of tristily in *Oxalis tuberosa* (Oxalidaceae). **Heredity**, v. 86, p. 564-573, 2001.

VUILLEUMIER, B. S. The origin and evolutionary development of heterostyly in the angiosperms. **Evolution**, n. 21, p. 210-226, 1967.

WEBB, C. J.; SIMPSON, M. J. A. Seed morphology in relation to taxonomy in New Zealand species of *Weinmannia*, *Ackama*, and the related South American *Caldcluvia paniculata* (Cunoniaceae). **New Zealand Journal of Botany**, v. 29, p. 451-453, 1991.

WEBERLING, F. **Morphology of flowers and inflorescences**. Cambridge: Cambridge University Press, 1992. 405 p.

WELLER, S. G. Pollination biology of heteromorphic populations of *Oxalis alpina* (Rose) Knuth (Oxalidaceae) in south-eastern Arizona. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 83, p. 189-198, 1981.

_____. Factors influencing frequency of the mid-styled morph in tristylous populations of *Oxalis alpina*. **Evolution**, v. 40, n. 2, p. 279-289, 1986.

WELLER, S. G. D., M.F. . Cytogeographic evidence for the evolution of distyly from tristyly in the North American species of *Oxalis* section *Ionoxalis*. **American Journal of Botany**, v. 63, n. 1, p. 120-125, 1976.

WERKER, E. **Seed anatomy**. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1997. 424 p.

ZHANG, L.; SIMMONS, M. P. Phylogeny and delimitation of the Celastrales inferred from nuclear and plastid genes. **Systematic Botany**, v. 21, n. 1, p. 122-137, 2006.