
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA VEGETAL)

**Desenvolvimento da antera e do grão de pólen em
espécies de *Mapania* Aubl. (Mapanioideae,
Cyperaceae)**

FERNANDA PASSARINI LOPES

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

Março - 2016

FERNANDA PASSARINI LOPES

Desenvolvimento da antera e do grão de pólen em espécies de
Mapania Aubl. (Mapanioideae, Cyperaceae)

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

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Ike Coan

Coorientador: Prof. Dr. Marccus Vinícius da Silva Alves

Rio Claro
2016

580 Lopes, Fernanda Passarini
L864d Desenvolvimento da antera e do grão de pólen em
espécies de *Mapania* Aubl. (Mapanioideae, Cyperaceae) /
Fernanda Passarini Lopes. - Rio Claro, 2016
47 f. : il., figs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientadora: Alessandra Ike Coan
Coorientador: Marccus Vinícius da Silva Alves

1. Botânica. 2. Hypolytreae. 3. Microgametogênese. 4.
Microsporogênese. 5. Poales. 6. Pseudomônade. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Desenvolvimento da antera e do grão de pólen em espécies de
Mapania Aubl. (Mapanioideae, Cyperaceae).

AUTORA: FERNANDA PASSARINI LOPES

ORIENTADORA: ALESSANDRA IKE COAN

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA VEGETAL), pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. ALESSANDRA IKE COAN
Departamento de Botânica / Instituto de Biociências de Rio Claro - SP



Profa. Dra. ADELITA APARECIDA SARTORI PAOLI
Departamento de Botânica / Instituto de Biociências de Rio Claro - SP



Profa. Dra. ÉRIKA AMANO
Departamento de Botânica / Setor de Ciências Biológicas / Universidade Federal do Paraná - Curitiba / PR

Rio Claro, 07 de março de 2016

Dedico este trabalho a Deus e a minha mãe Sonia.

AGRADECIMENTOS

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela Bolsa de Mestrado concedida.

Aos CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela Bolsa e auxílio financeiro concedidos à minha orientadora (Processos 475212/2011-8, 306498/2012-0).

Aos meus orientadores, a professora doutora Alessandra Ike Coan e ao professor doutor Marccus Vinícius da Silva Alves pela oportunidade de realizar esse projeto, como também aos ensinamentos obtidos sob suas orientações.

Ao Departamento de Botânica do Instituto de Biociências de Rio Claro - UNESP pelo espaço e estrutura disponibilizados para realização desse projeto de pesquisa.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências de Rio Claro - UNESP pelo espaço e estrutura disponibilizados para realização do processamento dos materiais para as microscopias eletrônicas de varredura e de transmissão e pelo uso do microscópio eletrônico de varredura para captura de imagens.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica de Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP e do Núcleo de Apoio à pesquisa em Microscopia Eletrônica aplicada à pesquisa Agropecuária da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da USP/Câmpus de Piracicaba pelo espaço e estrutura disponibilizados para o uso de seus microscópios eletrônicos de transmissão para captura de imagens.

Aos técnicos e aos responsáveis do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP, do Centro de Microscopia Eletrônica de Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP e do Núcleo de Apoio à pesquisa em Microscopia Eletrônica aplicada à pesquisa Agropecuária da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da USP/Câmpus de Piracicaba pelo auxílio na preparação do material para a visualização nos microscópios eletrônicos de varredura e de transmissão e na captura das imagens.

Ao técnico, atualmente aposentado, do Departamento de Botânica, Ari Pesce, pelo preparo dos reagentes e pela ajuda no uso do fotomicroscópio para a captura de imagens.

Aos meus queridos colegas: Arthur, Paula, Elaine, Letícia, Giselle, Yuri, Blanca, Thales, Mariana e Kaire pelo convívio agradável no laboratório e pela ajuda na preparação de reagentes e pela ajuda no uso do fotomicroscópio para a captura de imagens.

ÍNDICE

	Página
1. RESUMO	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUÇÃO GERAL.....	3
4. MATERIAL E MÉTODOS	10
4.1 Material Botânico	10
4.2 Metodologia	11
4.2.1 Microscopia de Luz (ML).....	12
4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	12
4.2.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	13
5. RESULTADOS	14
5.1 Desenvolvimento da parede da antera	14
5.2 Microsporogênese	18
5.3 Microgametogênese	19
5.4 Desenvolvimento da parede da pseudomônade	23
6. DISCUSSÃO	30
6.1 Desenvolvimento da parede da antera	32
6.2 Microsporogênese	33
6.3 Microgametogênese	35
6.4 Desenvolvimento da parede da pseudomônade	37
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
8. REFERÊNCIAS	42

1. RESUMO

Pseudomônade é o pólen predominante de Cyperaceae, resultante da microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae, onde a tétrade de micrósporos se torna secundariamente reduzida a uma mônade funcional devido à degeneração de três de seus quatro núcleos. Este pólen, morfologicamente, tem formato cuneiforme com uma ou mais aberturas. Porém, em alguns gêneros de Hypolytreae (Mapanioideae), ocorre um outro tipo de pólen, de natureza ainda dúbia, chamado de pólen tipo-Mapania. Este pólen é esférico e monoporado e já foi considerado uma mônade. No presente estudo, três espécies de *Mapania* (Hypolytreae, Mapanioideae) foram estudadas, a fim de descrever o desenvolvimento de suas anteras e de seus grãos de pólen, em microscopias de luz e eletrônicas de varredura e de transmissão, e comparar os resultados aqui obtidos com aqueles já existentes na literatura para Cyperaceae. Nas três espécies estudadas, constatou-se a formação da pseudomônade, como resultado da microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae, assim como já descrita para as demais espécies da família. Durante a microgametogênese, observou-se o englobamento dos três núcleos não-funcionais, em degeneração, pela intina. A morfologia da pseudomônade está relacionada ao arranjo central nos microsporângios ao longo da microgametogênese. A formação da exina ocorre durante a microsporogênese, a partir da esporopolenina secretada pelo tapete secretor. Esses resultados da formação da pseudomônade em *Mapania* reforçam o caráter sinapomórfico de Cyperaceae dentre as Poales.

Palavras-chave: Hypolytreae, microgametogênese, microsporogênese, Poales, pseudomônade.

2. ABSTRACT

Pseudomonad is the predominant pollen in Cyperaceae resulting from simultaneous microsporogenesis of the Cyperaceae-type in which the microspore tetrad becomes secondarily reduced to a functional monad due to degeneration of three of its four nuclei. Morphologically, this pollen presents wedge-shape with one or more apertures. However, in some genera of Hypolytreae (Mapanioideae), there is another pollen type, of unknown nature, termed *Mapania*-type pollen. This pollen is spherical and monoporate and already was considered a monad. In the present study, three species of *Mapania* (Hypolytreae, Mapanioideae) were studied in order to describe their anther and pollen grain development in light and both scanning and transmission electron microscopies, and compare the results obtained here with those already described in the literature for Cyperaceae. In all species studied, the pollen is a true pseudomonad as a result of simultaneous microsporogenesis of the Cyperaceae-type, as well as already described for other family taxa. During microgametogenesis, three non-functional nuclei, in degeneration, were involved by intine. Pseudomonad morphology was related to the central arrangement in the microsporangia through microgametogenesis. Exine formation occurred through microsporogenesis, from sporopollenin secreted by secretory tapetum. These results in *Mapania* reinforce the Cyperaceae sinapomorphic character in Poales.

Keywords: Hypolytreae, microgametogenesis, microsporogenesis, Poales, pseudomonad.

3. INTRODUÇÃO GERAL

Em angiospermas, as monocotiledôneas se destacam por ser um dos grupos mais diversos, morfologicamente variável e ecologicamente bem sucedidos, compreendendo cerca de 65.000 espécies (APG III 2009; Givnish et al. 2010; Stevens 2016) que estão distribuídas em oito clados: Acorales, Alismatales, Asparagales, commelinídeas, Dioscoreales, Liliales, Pandanales e Petrosaviales (Hertweck et al. 2015). Dentre eles, as commelinídeas se destacam por abrigar a maior ordem do grupo, Poales (Linder e Rudall 2005), assim como Arecales, Commelinales e Zingiberales e a família Dasypogonaceae Dumort., cuja posição ainda é incerta (Hertweck et al. 2015). As commelinídeas compartilham características como: paredes celulares com compostos fenólicos fluorescentes (Harris e Hartley 1980; Dahlgren et al. 1985; Chase et al. 1993; Stevens 2016) e endosperma amiláceo (Dahlgren et al. 1985; Linder e Kellogg 1995; Stevens 2016), além de características moleculares (Chase et al. 1993; Durvall et al. 1993; Givnish et al. 2010).

Dentre as commelinídeas, Poales compreende um terço do total de espécies de monocotiledôneas, correspondendo a 7% das angiospermas, e abriga espécies de importância econômica (Bouchenak-Khelladi et al. 2014). A ordem compreende 16 famílias, que, atualmente, estão distribuídas em cinco clados: bromeliídeo (Bromeliaceae Juss. e Typhaceae Juss.), ciperídeo (Cyperaceae Juss., Juncaceae Juss., Mayacaceae Kunth, Rapateaceae Dumort. e Thurniaceae Engl.), graminídeo (Ecdeiocoleaceae D.F.Cutler & Airy Shaw, Flagellariaceae Dumort., Joinvilleaceae Tomlinson & A.C.Smith e Poaceae Barnhart), restiídeo (Anarthriaceae D.F.Cutler & Airy Shaw, Centrolepidaceae Endl. e Restionaceae R.Br) e xirídeo (Eriocaulaceae Martinov e Xyridaceae C.Agardh) (Bouchenak-Khelladi et al. 2014). De todos estes clados, o de menor suporte é o ciperídeo (Bouchenak-Khelladi et al. 2014).

Tradicionalmente, o clado ciperídeo compreendia apenas Cyperaceae, Juncaceae e Thurniaceae e foi sustentado por várias semelhanças morfoanatômicas, como: o arranjo trístico das folhas, a presença de centrômeros difusos, a microsporogênese simultânea com meiose do tipo pós-reducional, os grãos de pólen dispersos da antera em tétrades trinucleadas, o desenvolvimento do embrião do tipo-Onagrad e a semente testal-tégmica (Dahlgren et al. 1985; Linder e Kellogg 1995; Simpson 1995; Goetghebeur 1998; Linder e Rudall 2005; Stevens 2016). Essas relações também foram historicamente sustentadas por estudos moleculares (Dahlgren et al. 1985; Linder e Kellogg 1995; Simpson 1995; Stevenson e Loconte 1995; Linder e Rudall 2005).

Dentre as ciperídeas, Cyperaceae destaca-se como a terceira maior família de monocotiledôneas (Simpson et al. 2003; Lévillé-Bourret et al. 2014), com mais de 5500 espécies (Muasya et al. 2009; Lévillé-Bourret et al. 2014), divididas em 109 gêneros (Muasya et al. 2009). Cyperaceae tem distribuição cosmopolita, com exceção da Antártida (Bruhl 1995; Goetghebeur 1998). No Brasil, a família possui cerca de 673 espécies divididas em 39 gêneros (Alves et al. 2016).

Cyperaceae é caracterizada por apresentar sua inflorescência muito reduzida e ramificada, dificultando sua interpretação (Dahlgren et al. 1985; Bruhl 1995; Richards et al. 2006). Historicamente, essa complexidade morfológica levou a diferentes sistemas de classificação, compreendendo de duas (Bruhl 1995) a quatro subfamílias (Koyama 1961; Goetghebeur 1998) com seis a 14 tribos (Koyama 1961; Bruhl 1995; Goetghebeur 1998).

A classificação atual baseia-se em dados morfológicos e moleculares combinados (Simpson et al. 2003, 2007; Muasya et al. 2009). Assim, a família encontra-se dividida em duas subfamílias: Mapanioideae C.B.Clarke e Cyperoideae Kostel. (Simpson et al. 2003, 2007; Muasya et al. 2009), com o total de 14 tribos.

Em todas as classificações existentes para Cyperaceae, os gêneros de Mapanioideae foram sempre inseridos na base do clado (Koyama 1961; Bruhl 1995; Goetghebeur 1998; Simpson et al. 2003, 2007; Muasya et al. 2009) e, portanto, Mapanioideae é considerada como irmã das demais Cyperaceae (Simpson et al. 2003, 2007; Muasya et al. 2009).

Na presente circunscrição, Mapanioideae é subdividida em duas tribos: Hypolytreae Nees e Chrysitricheae Nees (Simpson et al. 2003, 2007; Muasya et al. 2009). Os gêneros de Hypolytreae são distinguidos de acordo com o número de brácteas florais por espicóide (Simpson 1996). Eles são encontrados em pântanos, mangues e em florestas tropicais da África, América, Ásia e Oceania (Goetghebeur 1998) e caracterizados por possuir folhas grandes e pólen esférico, com uma única abertura e de parede espessa, que se arranja centralmente nos microsporângios (Erdtman 1952; Kirpes et al. 1996; Goetghebeur 1998; Simpson et al. 2003). Atualmente, Hypolytreae compreende os gêneros: *Diplasia* Rich., *Hypolytrum* Pers., *Mapania* Aubl., *Paramapania* Uittien, *Principina* Uittien e *Scirpodendron* Zipp. ex Kurz (senso Simpson et al. 2003).

Dentre as Hypolytreae, *Mapania* habita regiões tropicais, sendo encontrada no Leste e Sudeste Asiático, Oeste e Centro da África, Norte da América do Sul e Oceania (Simpson 1989, 1992; Goetghebeur 1998), na maioria das vezes, em áreas florestais (Simpson 1992; Goetghebeur 1998). O gênero apresenta cerca de 94 espécies (Plant List 2016), que estão divididas em cinco seções: *M. sect. Mapania* D.A.Simpson, *M. sect. Mapaniopsis* (C.B.Clarke) D.A.Simpson, *M. sect. Pandanophyllum* Benth. & Hook., *M. sect. Pycnocephala* C.B.Clarke e *M. sect. Thoracostachyum* Kurz, com base em características da inflorescência e do fruto (Simpson 1992, 1996). No Brasil, há sete espécies deste gênero: – *M. sylvatica* Aubl. (seção *Mapania*), *M. effusa* (C.B.Clarke) T.Koyama (seção *Mapaniopsis*), *M. tepuiana* (Steyerm.) T.Koyama (seção *Pandanophyllum*), *M. macrophylla* (Boeck.) H.Pfeiff., *M. maguireana* T.Koyama & Steyerm., *M. pycnocephala* (Benth.) Benth. e *M. pycnostachya*

(Benth.) T.Koyama (seção *Pycnocephala*) (Simpson 1992), que são encontradas na região Norte, nos estados do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima, em florestas de igapó, de terra firme ou de várzea (Ribeiro et al. 1999; Alves et al. 2016).

A outra tribo de Mapanioideae, Chrysitricheae, abriga cinco gêneros (Simpson et al. 2003): *Capitularina* J.Kern, *Chorizandra* R.Br, *Chrysitrix* L., *Exocarya* Benth. e *Lepironia* Rich., que se distribuem em regiões úmidas a pantanosas e até em regiões semiáridas na África, Ásia e Oceania (Goetghebeur 1998). Estes gêneros compartilham órgãos vegetativos reduzidos e pólen cuneiforme, com uma única abertura e de parede espessa, que se arranja perifericamente nos microsporângios (Goetghebeur 1998; Simpson et al. 2003).

Essa diferença morfológica no pólen de representantes de Hypolytreae e Chrysitricheae tem levado a uma ampla discussão na família, uma vez que os representantes de Cyperoideae já estudados apresentam pólen cuneiformes típicos, com uma a várias aberturas (Erdtman 1952; Kirpes et al. 1996; van Wichelen et al. 1999; Simpson et al. 2003; Nagels et al. 2009).

O pólen de Cyperaceae resulta de uma microsporogênese simultânea modificada denominada tipo-Cyperaceae (Simpson 1995). Nesta variação da microsporogênese, três dos quatro micrósporos formados após a meiose se degeneram e apenas o quarto é funcional e origina o pólen (Maheshwari 1950; Makde 1982; Dahlgren et al. 1985; Kirpes et al. 1996; Furness e Rudall 1999; van Wichelen et al. 1999). Assim, o pólen não é uma mônade típica, mas uma tétrade reduzida, denominada de pseudomônade (Carniel 1962).

A microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae foi descrita pela primeira vez por Elfving (1879) ao estudar o desenvolvimento dos grãos de pólen de *Heleocharis palustris* (= *Eleocharis palustris* R.Br.). Posteriormente, outros estudos ontogenéticos polínicos na família descreveram que a pseudomônade resultante deste processo geralmente apresenta formato cuneiforme com muitas aberturas (van Wichelen et al. 1999; Nagels et al. 2009).

Topograficamente, é na porção estreita da pseudomônade que os três núcleos não-funcionais migram para degenerar (Tanaka 1940, 1941; Makde 1982; Nijalingappa 1986; Makde e Bhuskute 1987; Furness e Rudall 1999), com exceção do gênero *Rhynchospora* (Cyperoideae), em que a degeneração ocorre na parte alargada da pseudomônade, próxima a sua abertura (Tanaka 1941; Coan et al. 2010; San Martin et al. 2013). Durante a degeneração, esses três núcleos são incorporados na parede da pseudomônade (Strandhede 1965; Padhye 1971; Dunbar 1973; Makde 1982; Dahlgren et al. 1985). As pseudomônades, quando maduras, possuem parede delgada e se arranjam perifericamente na cavidade dos microsporângios (Kirpes et al. 1996; van Wichelen et al. 1999; Simpson et al. 2003; Coan et al. 2010).

O processo de microgametogênese, no entanto, é semelhante àquele das demais angiospermas e a pseudomônade é liberada com três células: a célula vegetativa e duas células espermáticas (Elfving 1879; Stout 1912; Tanaka 1940, 1941; Padhye e Moharir 1958; Carniel 1962; Strandhede 1965; Padhye et al. 1970; Padhye 1971; Nagaraj e Nijalingappa 1972; Dunbar 1973; Makde 1982; Nijalingappa 1986; Makde e Bhuskute 1987; Coan et al. 2010).

Dentre os táxons de Cyperaceae que apresentam pólen esféricos, para aqueles de Hypolytrae Nees (Mapanioideae) sugere-se que sejam grãos de pólen individuais (mônades) (Simpson et al. 2007), denominadas de pólen tipo-Mapania (van Wichelen et al. 1999; Simpson et al. 2003). Tal designação foi dada porque este tipo de pólen foi descrito pela primeira vez em *Mapania amplivaginata* K.Schum. e *M. humilis* F.-Vill. [= *M. cuspidata* (Miq.) Uittien] por Erdtman (1952). Essa denominação de pólen tipo-Mapania foi baseada quase que exclusivamente em estudos morfológicos, não levando em conta o estudo ontogenético existente (Nagaraj e Nijalingappa 1972). Baseando-se também em estudos morfológicos, os pólen dos gêneros de Chrysitricheae foram considerados pseudomônades

(van Wichelen et al. 1999; Simpson et al. 2003), sendo, posteriormente, confirmados ao estudar o pólen de *Capitularina* (Furness e Rudall 2011).

Em Hypolytreae, somente três gêneros, *Diplasia*, *Hypolytrum* e *Mapania*, apresentam estudos de ontogenia polínica (Nagaraj e Nijalingappa 1972; Simpson et al. 2003; Coan et al. 2010). No estudo polínico de *Diplasia* e *Mapania* (Simpson et al. 2003), utilizando-se técnicas de microscopia eletrônica de transmissão, observou-se apenas a microgametogênese. A microsporogênese não foi descrita devido à falta de material neste estágio de desenvolvimento para ambos os gêneros e, assim, Simpson et al. (2003) continuou a designar os respectivos pólenes de tipo-*Mapania*, mas, ressaltando a necessidade de novos estudos abordando todos os estágios de desenvolvimento do pólen para esses dois gêneros de modo a confirmar ou não a presença da microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae.

Nos dois estudos de ontogenia do pólen de espécies de *Hypolytrum* (Nagaraj e Nijalingappa 1972; Coan et al. 2010) foram empregadas técnicas para microscopia de luz, tendo sido descritas tanto a microsporogênese como a microgametogênese. Tanto o estudo de Nagaraj e Nijalingappa (1972) como o de Coan et al. (2010) constataram a ocorrência de microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae em *Hypolytrum*, com a formação de pseudomônade esférica apenas morfológicamente distinta dos demais representantes da família.

Embora as observações embriológicas em representantes de *Hypolytrum* tenham elucidados aspectos importantes e sinapomórficos para o gênero dentre as Mapanioideae, ainda são levantadas muitas questões acerca dos demais gêneros que compõem a tribo Hypolytreae. Será que os gêneros relacionados à *Hypolytrum* também apresentam grão de pólen do tipo pseudomônade? Ou será que são mônades verdadeiras e distintas do restante das Cyperaceae, como apontado em estudos morfológicos e taxonômicos? Assim, a depender dos resultados do presente estudo em *Mapania*, corroborando ou não com aqueles resultados

encontrados em *Hypolytrum*, a circunscrição e a caracterização morfológica de Mapanioideae necessitará de significativa reavaliação.

Esta dissertação teve como objetivos:

- Descrever o desenvolvimento da antera e do grão de pólen em três representantes brasileiros de *Mapania* (*M. macrophylla*, *M. pycnostachya* e *M. sylvatica*), procurando caracteres diagnósticos para o gênero e se há sincronia entre os estágios de desenvolvimento dos estratos parietais com o tecido esporogênico; e
- Fornecer uma descrição palinológica para as três espécies estudadas de *Mapania*, através de análise associada de observações sob microscopias eletrônicas de varredura e de transmissão, de suma importância para a constatação efetiva da ocorrência ou não de microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae e demais detalhes ultraestruturais ainda inéditos para o gênero.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material Botânico

As inflorescências de cada uma das três espécies de *Mapania* selecionadas (Figs 1-3) foram coletadas na Reserva Florestal Adolpho Ducke (Manaus – AM) (Tabela 1) com material-testemunho depositado no Herbário Rioclarense (HRCB) e com duplicata enviada para o Herbário Geraldo Muniz (UFP).



Figuras 1-3: Aspectos das inflorescências e do hábito das espécies estudadas de *Mapania*. 1, 2. Detalhes das inflorescências de *M. macrophylla* (1) e de *M. pycnostachya* (2). 3. Hábito de *M. sylvatica*.

Tabela 1 – Lista de espécies de *Mapania* estudadas, com os respectivos dados de coleta.

Seções/Espécies	Número do coletor	Localidade
<i>Mapania</i> sect. <i>Mapania</i> D.A.Simpson		
<i>Mapania sylvatica</i> Aubl.	S. Martins 383	Manaus/AM
<i>Mapania</i> sect. <i>Pycnocephala</i> C.B.Clarke		
<i>Mapania macrophylla</i> (Boeck.) H.Pfeiff.	A.I. Coan et al. 118; S. Martins 390	Manaus/AM
<i>Mapania pycnostachya</i> (Benth.) T.Koyama	A.I. Coan et al. 119, 252; L.P. Poli 49, 50; S. Martins 392	Manaus/AM

Dentre as sete espécies de *Mapania* registradas para o Brasil (Ribeiro et al. 1999; Alves et al. 2016), *M. macrophylla*, *M. pycnostachya* e *M. sylvatica*, apesar de não endêmicas,

são as mais representativas no bioma amazônico (Ribeiro et al. 1999; Alves et al. 2016). Todas as três espécies ocorrem na Venezuela, enquanto que *M. macrophylla* e *M. sylvatica* ainda se distribuem na Guiana, Guiana Francesa e Suriname; e *M. sylvatica* também pode ser encontrada na África (República Gabonesa e Madagascar) (Simpson 1989, 1992; Ribeiro et al. 1999; Alves et al. 2016). No Brasil, essas três espécies estão nos estados do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima em florestas ou de igapó e/ou de várzea e/ou de terra firme (Ribeiro et al. 1999; Alves et al. 2016).

4.2 Metodologia

Para as análises em microscopias de luz (ML) e eletrônica de varredura (MEV), as inflorescências das três espécies selecionadas de *Mapania*, coletadas em diferentes fases de desenvolvimento, foram fixadas em FAA 50 (Johansen 1940) e posteriormente armazenadas em etanol 70% com algumas gotas de glicerina.

Para as análises em microscopia eletrônica de transmissão (MET), algumas inflorescências de *M. pycnostachya*, espécie de maior disponibilidade de coleta, foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7,2 e armazenadas no próprio fixador (Reynolds 1963).

Para todas as análises, as inflorescências fixadas foram observadas sob estereomicroscópio Leica MZ 3100 para a seleção de flores estaminadas e/ou anteras em diferentes estágios de desenvolvimento. A separação foi feita com o auxílio de agulha e estilete.

O arranjo do pólen nos microsporângios foi descrito segundo a terminologia de Kirpes et al. (1996). A terminologia palinológica adotada no presente estudo foi a de Faegri e

Iversen (1989), sendo a ornamentação da sexina, sob microscopia eletrônica de varredura, descrita de acordo com Nagels et al. (2009).

4.2.1 Microscopia de Luz (ML)

As amostras de flores e/ou estames foram desidratadas em série butílica (Feder e O'Brien 1968) e incluídas em historesina Leica, conforme instruções do fabricante. O material foi seccionado com espessuras de 4-7 μ m, com navalhas de aço descartável, em micrótomo rotativo Leica 2040 Autocut. A maioria das seções anatômicas obtidas foi corada com ácido periódico – Reativo de Schiff (reação PAS) e azul de toluidina (Feder e O'Brien 1968) e montadas em Entellan. O restante das seções foi submetido a teste histoquímico utilizando o cloreto férrico aquoso para verificar a presença de compostos fenólicos na parede da antera (Johansen 1940)

As seções anatômicas selecionadas foram fotografadas em fotomicroscópio Leica DMLB com câmera digital Leica DFC 300 acoplada e projeção da escala micrométrica (Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP).

4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras de estames foram desidratadas em série etílica até o ponto crítico. Em seguida, as anteras foram cortadas e fixadas em *stubs*, com auxílio de fita adesiva dupla face, e metalizadas com ouro (Horisberger et al. 1975). As amostras foram analisadas ao microscópio eletrônico de varredura Hitachi TM3100 (Laboratório de Microscopia Eletrônica

do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP) e as imagens foram adquiridas com auxílio do software TM3100 versão 02-02-03.

4.2.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As amostras de anteras foram lavadas em tampão cacodilato de sódio 0,1M e, em seguida, foram pós-fixadas com tetróxido de ósmio 1%, no mesmo tampão, por uma hora (Reynolds 1963). Após esse tempo, as amostras foram lavadas novamente com o mesmo tampão, contrastadas em acetato de uranila 1% dissolvido em álcool 10% e, depois, desidratadas em série alcoólica e embebidas em resina Epon (Reynolds 1963).

As seções semifinas, de cerca de 0,3 μ m, foram obtidas em ultramicrotomos Sorvall Porter-Blum MT-2 e/ou Sorvall Porter-Blum MT-2B (dada a disponibilidade dos equipamentos no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP), utilizando-se navalhas de vidro. As seções foram coradas com azul de toluidina ou azul de metileno e examinadas ao microscópio de luz Leica DM 500, a fim de determinar o estágio de desenvolvimento da antera.

Os blocos com os estágios desejados foram cortados em ultramicrotomo Sorvall Porter-Blum MT-2B com navalhas de vidro para obtenção das seções ultrafinas. Estas seções foram coradas com acetato de uranila por 45 minutos (Watson 1958) e com citrato de chumbo por 10 minutos (Reynolds 1963) e examinadas ao microscópio eletrônico de transmissão Tecnai Spirit - FEI Company (Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP) e/ou ao microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM 1011 (Núcleo de Apoio à pesquisa em Microscopia Eletrônica aplicada à pesquisa Agropecuária da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da USP/Câmpus de Piracicaba – NAP/MEPA, ESALQ/USP), também dada a disponibilidade para o uso.

5. RESULTADOS

5.1 Desenvolvimento da parede da antera

Nas três espécies estudadas de *Mapania*, o primórdio da antera consiste de tecido meristemático envolvido pela protoderme (Fig. 4). As células do tecido meristemático encontradas nos locais dos futuros microsporângios diferenciam-se em células do tecido arquesporial. Essas células arquesporais dividem-se periclinalmente, formando as camadas parietal e esporogênica primárias (Fig. 5).

As células da camada parietal primária dividem-se periclinalmente (Fig. 6 – setas), formando duas camadas parietais secundárias (Fig. 7). As células da camada parietal secundária interna dividem-se periclinally (Fig. 8 – seta) e anticlinalmente, originando duas camadas parietais: a camada mediana e o tapete (Figs 9, 10). As células da camada parietal secundária externa passam por divisões anticlinais, originando o endotécio (Figs 9, 10). A protoderme diferencia-se na epiderme (Figs 9, 10).

A formação da parede da antera é, portanto, do tipo monocotiledôneo e consiste de epiderme, endotécio, camada mediana e tapete (Figs 9, 10).

Nos estágios iniciais de desenvolvimento, as quatro camadas da parede da antera são unisseriadas e formadas por células uninucleadas, de citoplasmas densos com vários pequenos vacúolos e núcleos proeminentes (Fig. 11). As paredes celulares são delgadas (Figs 9, 10); exceto a periclinal externa das células da epiderme de *M. macrophylla* (Fig. 10) e de *M. pycnostachya* (Fig. 11), que é levemente espessada.

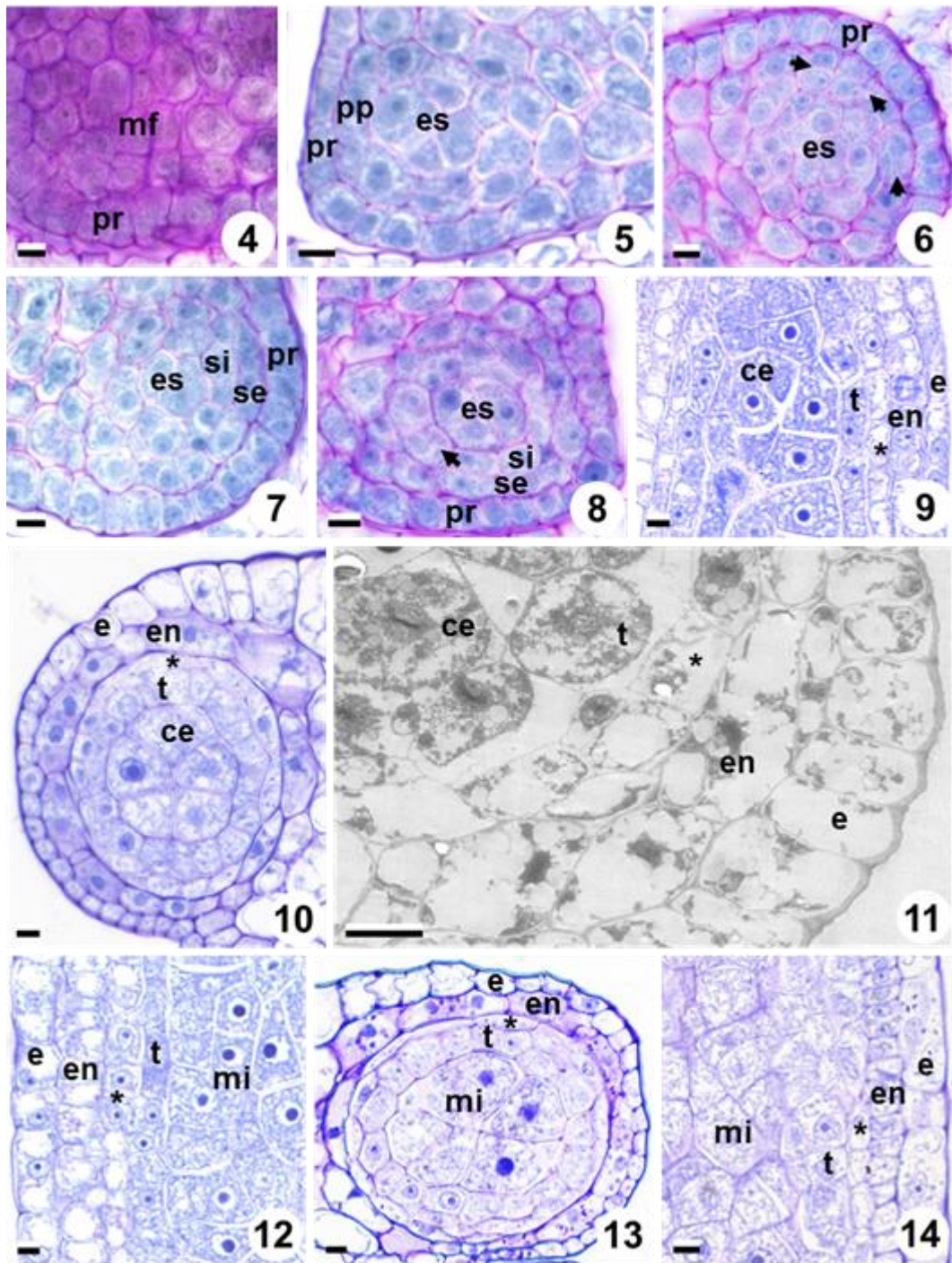
Durante o estágio de microsporócito, os vacúolos das células da epiderme, do endotécio e da camada mediana coalescem, deslocando os respectivos núcleos para a periferia da célula (Fig. 12). Inicia-se, também, o acúmulo de grânulos de amido nos tecidos da antera

e esses são consumidos até o final da microsporogênese (Figs 13-15). Em *M. macrophylla* (Fig. 13), o acúmulo ocorre nas células do endotécio, enquanto que em *M. pycnostachya* (Fig. 14) apenas naquelas da epiderme; em *M. sylvatica* (Fig. 15), o acúmulo é evidenciado na epiderme, no endotécio, na camada mediana e no conectivo. Nenhum idioblasto fenólico é observado nos tecidos da antera de todas as espécies estudadas de *Mapania*.

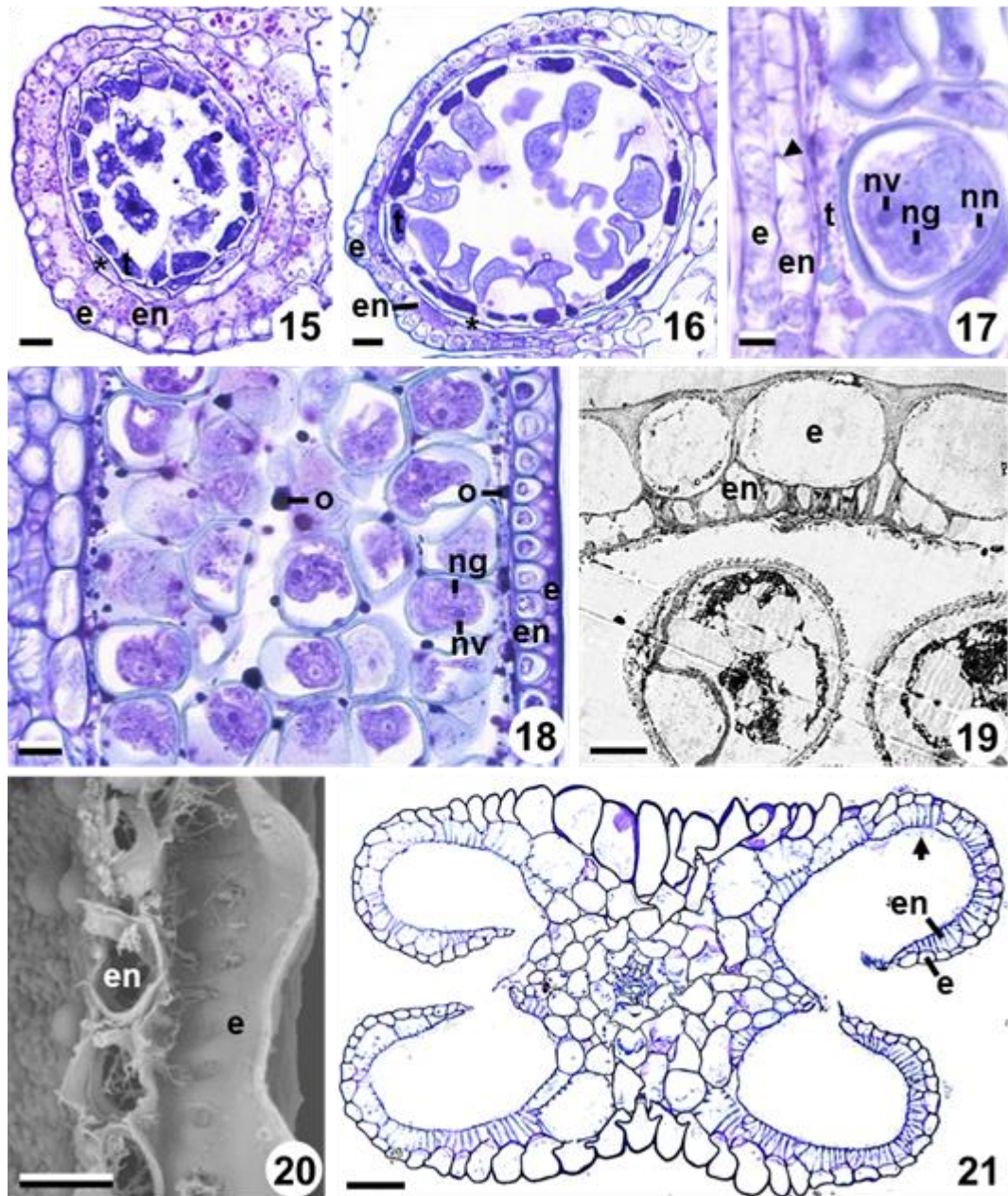
Durante a microsporogênese, a parede periclinal externa das células da epiderme de *M. sylvatica* apresenta-se ligeiramente espessada (Fig. 15). As células da camada mediana de todas as espécies diminuem de tamanho, sendo obliteradas no final do processo (Figs 15, 16 – asterisco). O citoplasma das células do tapete adquire uma coloração mais acentuada e as mesmas diminuem de tamanho gradualmente e permanecem na periferia do lóculo (Figs 15, 16). O tapete é do tipo secretor.

Durante a microgametogênese, as células da epiderme não adquirem outro tipo de espessamento em suas paredes (Fig. 17), com exceção das paredes periclinais externas de *M. pycnostachya*, que adquirem espessamento em barras (Figs 18-20). As paredes celulares do endotécio adquirem espessamento em espiral (Figs 17 – cabeça da seta, 19), enquanto que aquelas das células do tapete secretor são perdidas (Fig. 17), de modo que essas células não são mais observadas na periferia do lóculo (Figs 18, 19), que é ocupada pelos orbículos (Figs 18, 21 – seta).

A antera madura é bíteca e tetrasporangiada, a sua parede é formada por duas camadas: a epiderme e o endotécio (Fig. 21). A deiscência é longitudinal pela separação na região do septo (Fig. 21).



Figuras 4-14: Estágios iniciais do desenvolvimento da parede da antera em *Mapania macrophylla* (4-8, 10, 13), *M. sylvatica* (9, 12) e *M. pycnostachya* (11, 14). 4. Corte transversal (CT) do primórdio da antera (ML). 5. CT da antera jovem com as camadas parietal e esporogênica primárias (ML). 6. CT da antera jovem com as células da camada parietal primária se dividindo (setas) (ML). 7. CT da antera jovem com as camadas parietais secundárias externa e interna (ML). 8. CT da antera jovem com início de divisão da camada parietal secundária interna (seta) (ML). 9, 10. Cortes longitudinal (CL) e CT, respectivamente, de anteras jovens com as camadas parietais formadas (ML). 11. Aspecto geral da parede da antera (MET). 12. CL da antera em desenvolvimento com diferenciação da epiderme e de suas camadas parietais (ML). 13. CT da antera em desenvolvimento com grânulos de amido nas células do endotécio (ML). 14. CL da antera em desenvolvimento mostrando grânulos de amido na epiderme (ML). ce. célula esporogênica, e. epiderme, en. endotécio, es. camada esporogênica primária, mf. meristema fundamental, mi. microsporócito, pp. camada parietal primária, pr. protoderme, se. camada parietal secundária externa, si. camada parietal secundária interna, t. tapete, *. camada mediana. Barras de escalas: 4-14= 5µm.



Figuras 15-21: Estágios sucessivos do desenvolvimento da parede da antera em *Mapania sylvatica* (15), *M. pycnostachya* (16, 18-20) e *M. macrophylla* (17, 21). 15. Corte transversal (CT) da antera em desenvolvimento com grânulos de amido na epiderme, no endotécio, na camada mediana e no conectivo e início de degeneração das células da camada mediana e do tapete (ML). 16. CT da antera em desenvolvimento com a camada mediana se obliterando e as células do tapete secretor diminuindo de tamanho (ML). 17. Corte longitudinal (CL) da antera em desenvolvimento com início de espessamento da parede das células do endotécio (cabeça de seta) (ML). 18. CL da antera em desenvolvimento mostrando a parede da epiderme com espessamento em barra e orbículos na periferia do lóculo e no interior deste (ML). 19. Espessamento das paredes das células da epiderme e do endotécio (MET). 20. Parede periclinal externa das células da epiderme com espessamentos em barra (MEV). 21. CT da antera deiscente mostrando as duas camadas da parede finais (seta= orbículos) (ML). e. epiderme, en. endotécio, ng. núcleo generativo, nn. núcleo não-funcional, nv. núcleo vegetativo, o. orbículo, t. tapete, *. camada mediana. Barras de escalas: 15, 16, 18= 10µm; 17, 19, 20= 5µm; 21= 25µm.

5.2 Microsporogênese

As células das camadas esporogênicas primárias das espécies estudadas de *Mapania* passam por divisões mitóticas e preenchem totalmente as cavidades dos microsporângios, com contato íntimo com as células do tapete (Figs 9, 10). Essas células possuem o citoplasma denso com vários corpos lipídicos e um núcleo proeminente no centro (Fig. 22).

As células esporogênicas aumentam de tamanho, tornando-se microsporócitos (Fig. 23), que são distintos das primeiras por apresentarem em seu citoplasma inúmeros vacúolos (Fig. 24).

Os núcleos dos microsporócitos passam pela primeira divisão meiótica (Fig. 25 – seta), resultando em dois núcleos (Fig. 26). Esta divisão é sincronizada nos microsporócitos de um mesmo microsporângio em *M. macrophylla* e *M. sylvatica*. Em *M. pycnostachya* (Fig. 25), essa divisão é assincrônica. Para todas as espécies, a meiose I não é seguida pela citocinese.

Cada um dos dois núcleos resultantes da meiose I passa pela segunda divisão, em tempos diferentes (Figs 27 – seta, 28-29 – seta), resultando numa tétrade de núcleos (Fig. 30).

Estágios detalhados do final da microsporogênese e da citocinese foram acompanhados apenas para *M. macrophylla* e *M. pycnostachya*, devido à disponibilidade de material com boa fixação, principalmente para microscopia eletrônica de transmissão. Observou-se que os quatro núcleos formados passam por uma citocinese simultânea através de sulcamento centrípeto diferencial, originando uma tríade de micrósporos apenas (Fig. 31), sendo um deles com dois núcleos (Fig. 32).

Finalizada a citocinese, glóbulos de esporopolenina aparecem em apenas um dos sulcos (Fig. 31 – setas) para, depois, se unirem, formando uma parede incompleta entre um dos três micrósporos. (Figs 34 – seta, 35 – seta). Esse micrósporo aumenta de volume e

empurra os outros dois micrósporos para a periferia (Fig. 36). No sulco entre estes últimos ocorre o aparecimento de outros glóbulos de esporopolenina para a formação da parede (Figs 34, 37 – setas).

Deste modo, finaliza-se a microsporogênese com um núcleo maior, funcional, e outros três, menores, não-funcionais e periféricos, caracterizando a microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae.

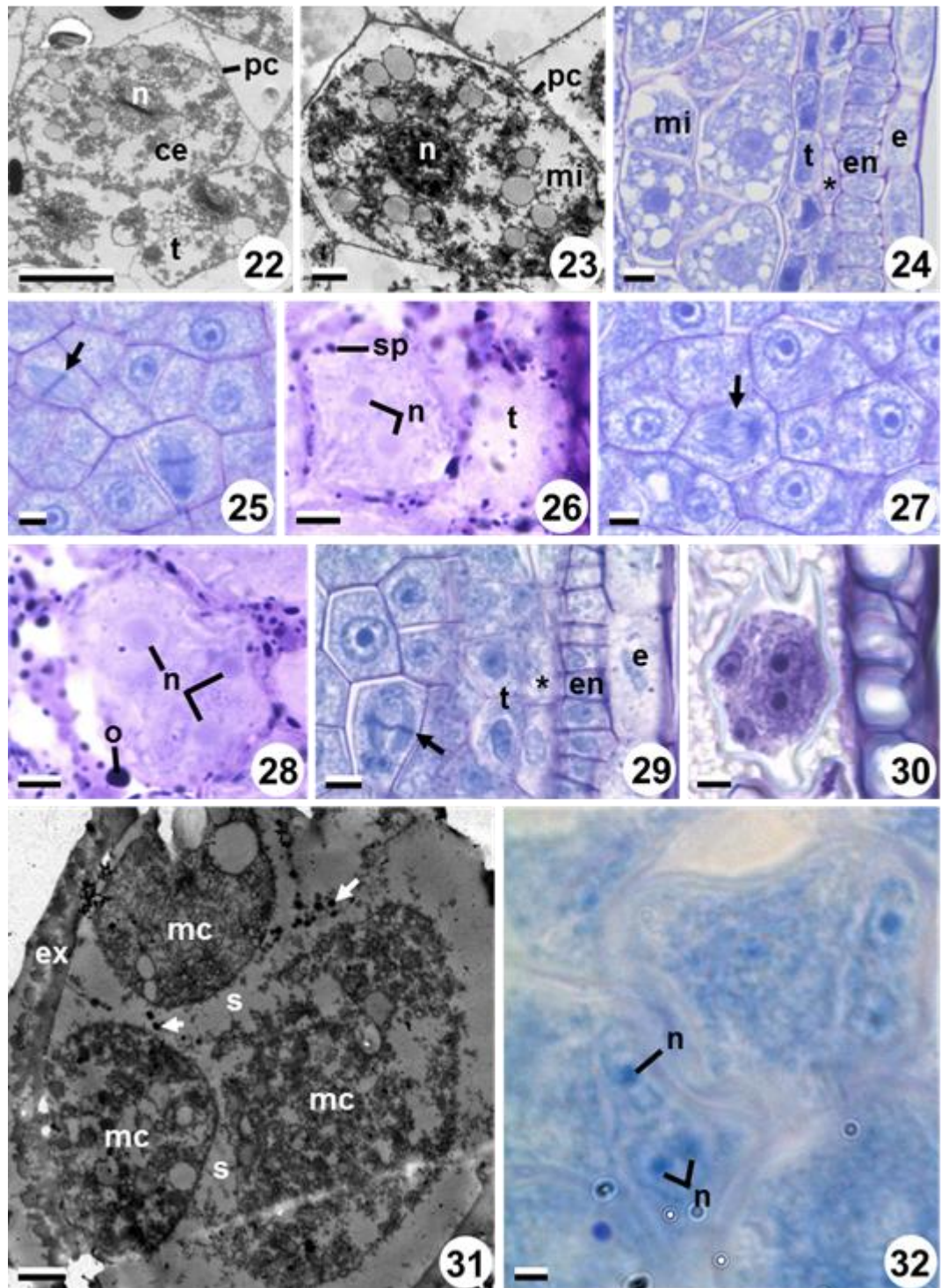
5.3 Microgametogênese

O núcleo funcional de todas as espécies estudadas de *Mapania* passa por mitose assimétrica, seguida por citocinese, originando duas células: a vegetativa, maior, e a generativa, menor (Fig. 38). A célula vegetativa se posiciona adjacente à abertura da pseudomônade, enquanto que a célula generativa se posiciona adjacente aos núcleos não-funcionais (Figs 39, 40). Os vários vacúolos presentes no estágio de microsporócito se coalescem num grande e central na célula vegetativa (Fig. 38).

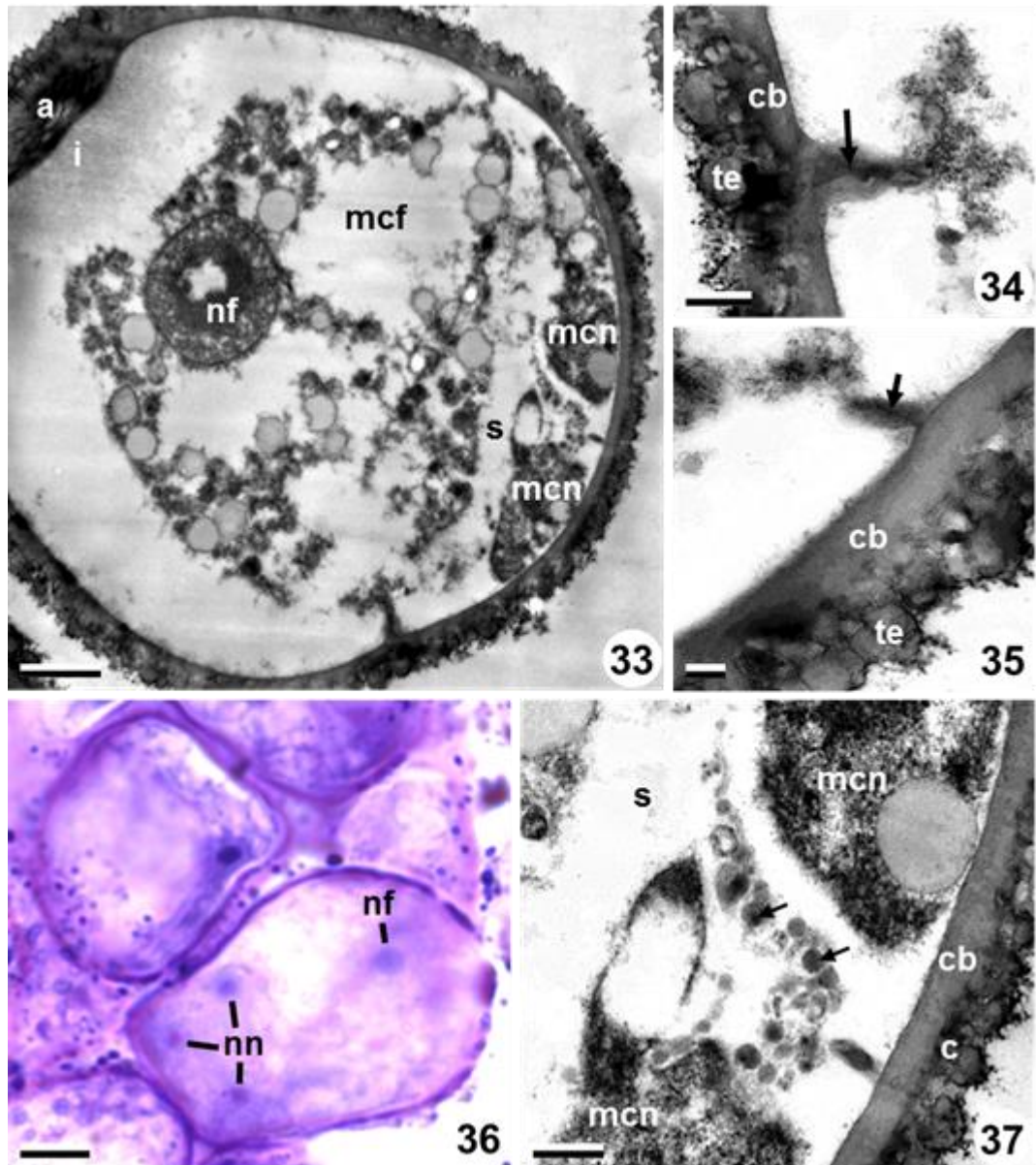
Os núcleos não-funcionais da pseudomônade permanecem com o mesmo tamanho observado ao final da microsporogênese (Fig. 40) e são envolvidos pela intina (Fig. 41). Concomitantemente, inicia-se o acúmulo de grânulos de amido no interior do citoplasma da célula vegetativa (Fig. 41). Para *M. pycnostachya* foi observado que, no interior da intina, os dois micrósporos não-funcionais se tornam um material eletrodenso (Fig. 42 – seta), que acaba sendo degradado e absorvido pela pseudomônade (Fig. 43 – seta).

O núcleo generativo das três espécies estudadas passa por uma mitose simétrica, originando dois núcleos espermáticos (Fig. 44).

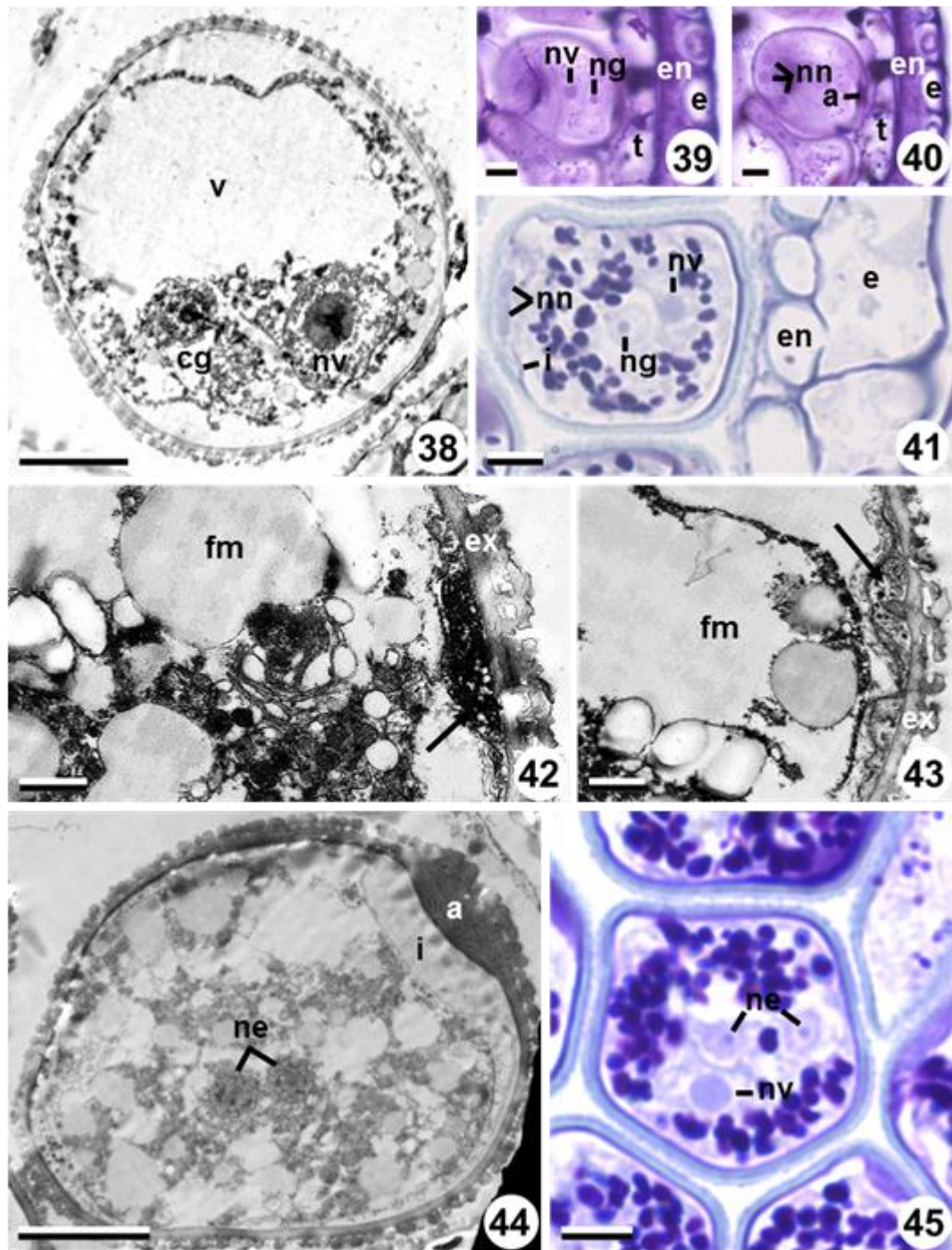
Portanto, a pseudomônade madura é trinucleada, formada pelo núcleo vegetativo e por dois núcleos espermáticos (Fig. 45). Não foi possível visualizar uma membrana plasmática individualizando cada um desses últimos núcleos (Fig. 44).



Figuras 22-32: Microsporogênese de *Mapania pycnostachya* (22, 23, 25, 27, 29, 31, 32) e *M. macrophylla* (24, 26, 28, 30). 22. Detalhe de uma célula esporogênica (MET). 23. Detalhe de um microsporócito (MET). 24. Citoplasma dos microsporócitos contendo muitos vacúolos (ML). 25. Núcleo do microsporócito passando pela primeira divisão meiótica (seta) (ML). 26. Díade de núcleos de microsporos e deposição de esporopolenina sobre a sua parede celular (ML). 27. Um dos núcleos da díade passando pela segunda divisão meiótica (seta) (ML). 28. Tríade de núcleos de microsporos (ML). 29. Núcleo da díade passando pela segunda divisão meiótica (seta) (ML). 30. Tétrade de núcleos de microsporos (ML). 31. Detalhe de uma tríade de microsporos com a exina formada e aparecimento de glóbulos de esporopolenina (setas) no sulco (MET). 32. Detalhe de dois microsporos, sendo um deles possuindo dois núcleos (ML). ce. célula esporogênica, e. epiderme, en. endotécio, ex. exina, mc. microsporo, mi. microsporócito, n. núcleo, o. orbículo, pc. parede celular, s. sulco, sp. esporopolenina, t. tapete. *. camada mediana. Barras de escalas: 22, 24, 26, 28, 29, 32= 5µm; 23, 31= 1µm; 25, 27, 30= 10µm.



Figuras 34-37: Final da microsporogênese em *Mapania pycnostachya* (33-35, 37) e *M. macrophylla* (36). 33. Pseudomona em desenvolvimento com o microsporo funcional e os dois microsporos não-funcionais. 34, 35. Detalhes da figura 33 mostrando a formação de uma parede incompleta (seta) em cada extremidade do sulco (MET). 36. Núcleo funcional maior e três núcleos não-funcionais menores na periferia da pseudomona (ML). 37. Detalhe da figura 33 mostrando o aparecimento dos glóbulos de esporopolenina (setas) no sulco entre os dois microsporos não-funcionais (MET). a. abertura, cb. camada basal, c. columela, i. intina, mcf. microsporo funcional, mcn. microsporo não-funcional, nf. núcleo funcional, nn. núcleo não-funcional, s. sulco, te. teto. Barras de escalas: 33= 2 μ m; 34= 0,5 μ m; 35, 37= 0,2 μ m; 36= 5 μ m.



Figuras 38-45: Microgametogênese em *Mapania pycnostachya*. 38. Pseudomônade em desenvolvimento com as células generativa e vegetativa (MET). 39. Pseudomônade em desenvolvimento com os núcleos vegetativo e generativo (ML). 40. Foco diferencial da figura 39 mostrando os três núcleos não-funcionais no lado oposto à abertura da pseudomônade (ML). 41. Pseudomônade em desenvolvimento com a intina envolvendo os núcleos não-funcionais (ML). 42. Pseudomônade em desenvolvimento mostrando material eletrodense (seta) no interior da intina (MET). 43. Pseudomônade em desenvolvimento mostrando o material eletrodense já degradado (seta) e sendo absorvido (MET). 44. Pseudomônade madura mostrando dois núcleos espermáticos e a sua abertura formada pelo teto, columela e camada basal lamelada (MET). 45. Pseudomônade madura mostrando os núcleos vegetativo e espermáticos (ML). a. abertura, cg. célula generativa, e. epiderme, en. endotécio, ex. exina, fm. microgametófito funcional, i. intina, ne. núcleo espermático, ng. núcleo generativo, nn. núcleo não-funcional, nv. núcleo vegetativo, v. vacúolo. Barras de escalas: 38-41, 44, 45= 5µm; 42, 43= 1µm.

5.4 Desenvolvimento da parede da pseudomônade

Nas três espécies aqui estudadas de *Mapania*, a parede celular do microsporócito é delgada (Fig. 23) e apresenta inúmeros campos de pontoações primários (Fig. 46 – cabeça da seta).

Durante a microsporogênese; inicia-se a deposição de esporopolenina sobre a parede celular da díade de núcleos de micrósporos (Fig. 26). Essa esporopolenina é produzida pelo tapete secretor (Fig. 26) e secretada na forma de glóbulos densos, designados aqui de orbículos, nas cavidades dos microsporângios (Figs 28, 47).

A maioria dos orbículos é consumida para a formação da exina, que é finalizada no estágio de tríade de micrósporos (Fig. 32), após a citocinese. Nesse estágio, a exina está diferenciada em teto, columela e camada basal espessa (Fig. 48), com exceção da região de abertura da pseudomônade (Fig. 44), em que se distingue em teto, columela e camada basal lamelada. Em algumas pseudomônades de *M. pycnostachya*, no entanto, devido à meiose I assíncrona nos microsporócitos do mesmo microsporângio (Figs 25, 27), a finalização da exina se prolonga até a diferenciação dos núcleos funcional e não-funcionais (Figs 33, 49).

Neste estágio, a intina é iniciada, ocorrendo sua deposição na região da abertura da pseudomônade (Fig. 34) e expandindo-se para as regiões adjacentes. A intina é composta por polissacarídeo devido a sua reação com o reagente de Schiff (Fig. 50) e ela é espessa na região de abertura (Fig. 51) e delgada no restante da pseudomônade (Fig. 51).

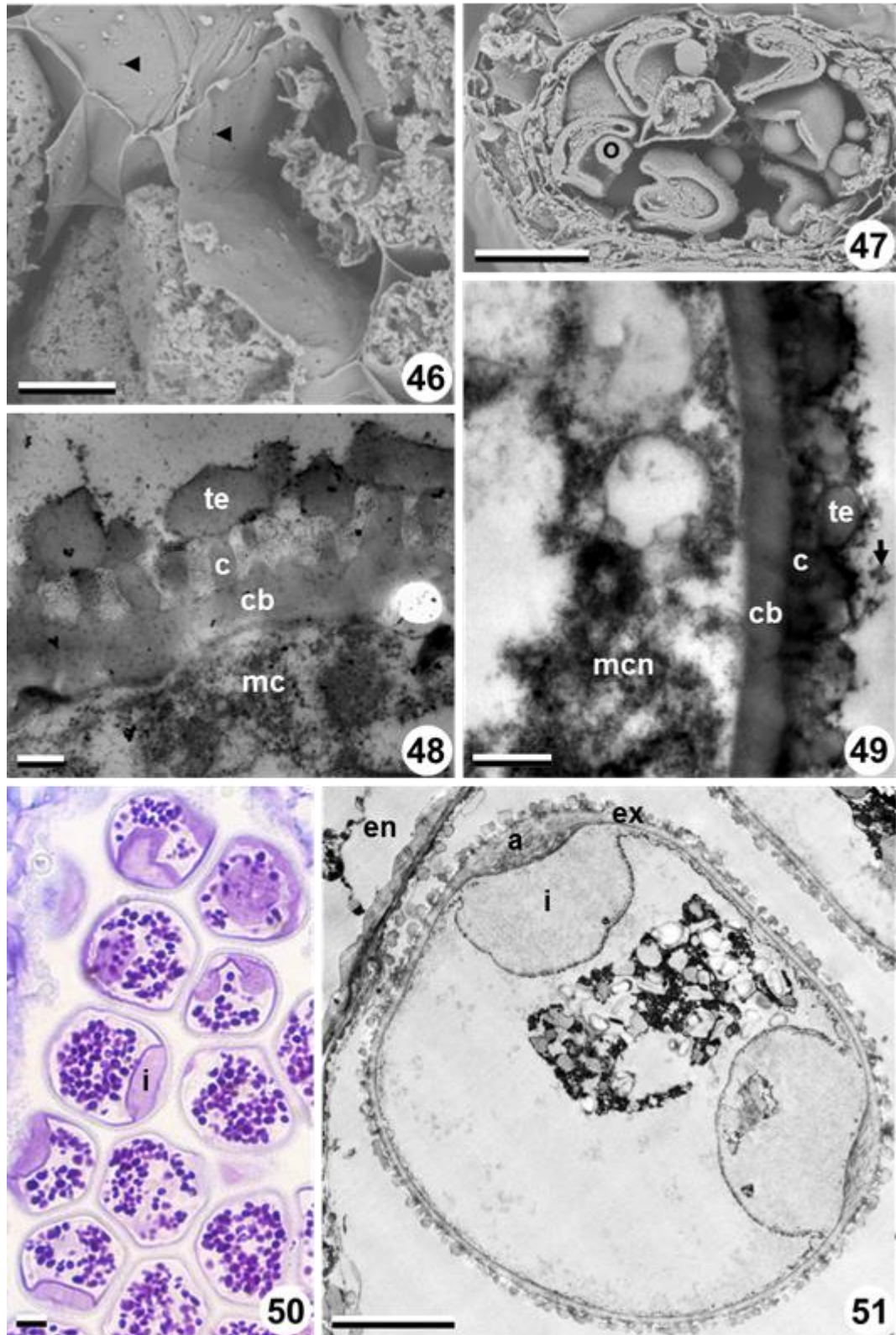
Os orbículos remanescentes podem ser observados na periferia do microsporângio, aderidos à membrana peritapetal (Figs 18, 21, 52 – seta), ou sobre a parede da pseudomônade (Fig. 53).

As pseudomônades em desenvolvimento e quando maduras se dispõem centralmente nas cavidades dos microsporângios (Fig. 53).

As pseudomônades maduras das três espécies de *Mapania* apresentam forma, número de aberturas e ornamentação da sexina distintas. *Mapania macrophylla* (Fig. 54) e *M. sylvatica* (Fig. 56) possuem pseudomônades esféricas com uma abertura distal. A ornamentação da sexina, sob microscopia eletrônica de varredura, é reticulada em *M. macrophylla* (Fig. 55) e microreticulada em *M. sylvatica* (Fig. 57). *M. pycnostachya* (Fig. 58) apresenta a pseudomônade levemente cuneiforme com três aberturas, sendo duas distais (Fig. 59) e uma proximal (Fig. 60), e a ornamentação de sua sexina é microreticulada (Fig. 61).

As características da antera e da pseudomônade observadas nas três espécies de *Mapania* foram agrupadas na Tabela 2 e acrescidas de informações disponíveis na literatura para o gênero correlacionado, *Hypolytrum*, e para Mapanioideae e Cyperoideae senso Simpson et al. (2003).

Uma representação esquemática da microsporogênese observada nas espécies de *Mapania* aqui estudadas é apresentada na Figura 62.



Figuras 46-51: Aspectos da formação da parede da pseudomônade de *Mapania sylvatica* (46, 47) e *M. pycnostachya* (48-51). 46. Paredes celulares dos microsporócitos com campos de pontuações primários (cabeça de seta) (MEV). 47. Orbículos dispersos na cavidade do microsporângio (MEV). 48. Detalhe da figura 31 com a exina já formada (MET). 49. Detalhe da figura 33 mostrando partículas de esporopolenina (seta) na exina em formação (MET). 50. Pseudomônade em desenvolvimento com a intina espessa na região da abertura (ML). 51. Visão geral da intina em uma pseudomônade em desenvolvimento (MET). a. abertura, c. columela, cb. camada basal, en. endotécio, ex. exina, i. intina, mc. microsporo, mcn. microsporo não-funcional, o. orbículo, te. teto. Barras de escalas: 46, 50, 51= 5µm; 47= 25µm; 48= 0,2µm; 49= 0,5µm.

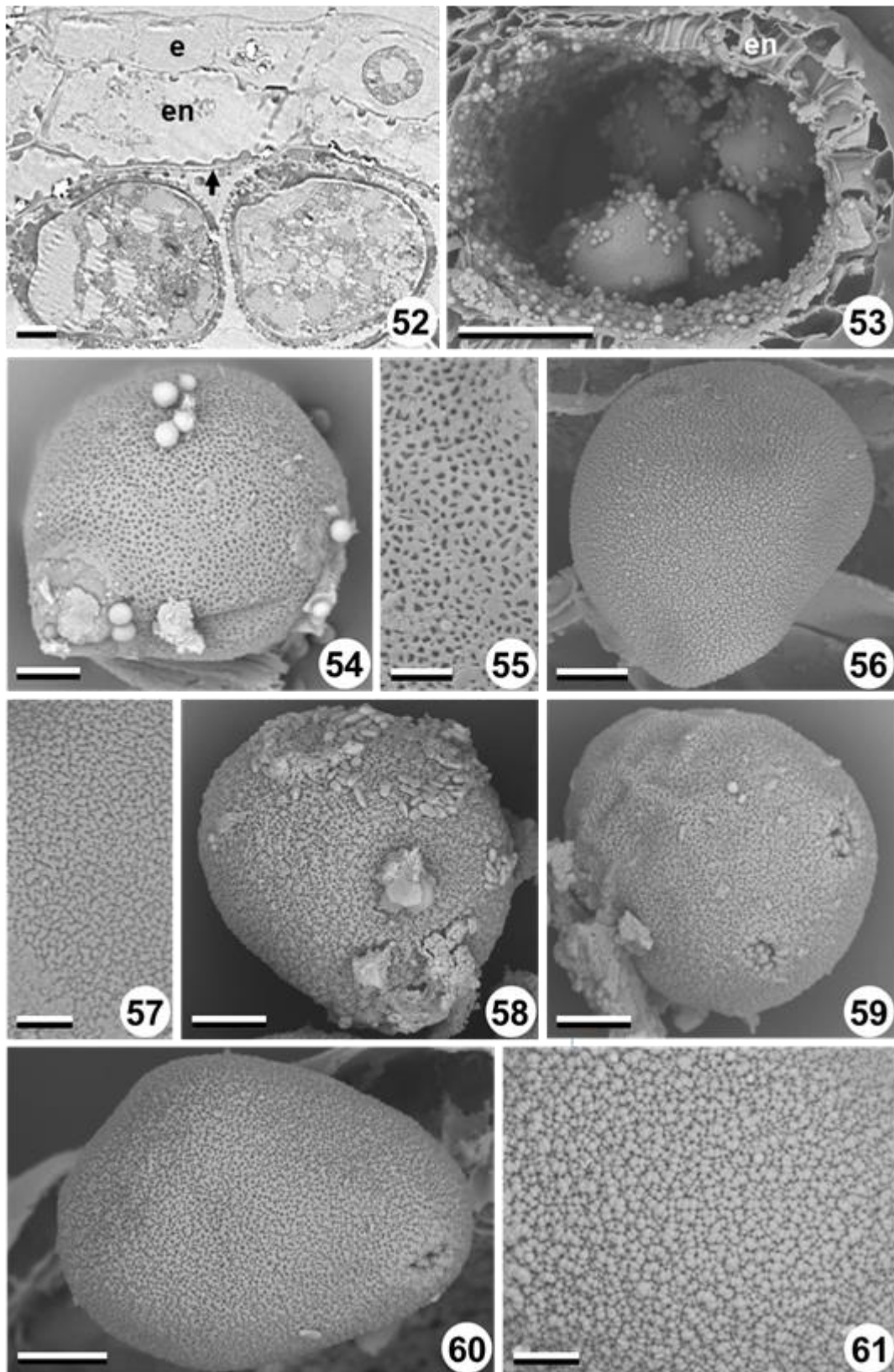


Tabela 2 – Características da antera e da pseudomônade de *Mapania*, complementadas com dados disponíveis na literatura para o gênero correlato, *Hypolytrum*, e para as subfamílias Mapanioideae e Cyperoideae (senso Simpson et al. 2003). As características diferenciais foram destacadas em negrito.

Característica	<i>Hypolytrum</i>	<i>Mapania</i>	Outras Mapanioideae	Cyperoideae
Desenvolvimento do tipo monocotiledôneo da parede da antera	+ ²⁹	+ ³⁵	?	+ 8, 13, 15, 16, 29
Epiderme	Papilosa ²⁹	Não papilosa ³⁵	?	Papilosa ^{13, 16, 29}
Espessamento da epiderme	?	Barra ³⁵	?	?
Espessamento do endotécio	Espiral ²⁹	Espiral ³⁵	?	Espiral ^{8, 9, 13, 16, 17, 29}
Camada mediana	Efêmera ²⁹	Efêmera ³⁵	?	Efêmera ^{8, 13, 16, 29}
Tipo de tapete	Secretor ^{10, 29}	Secretor ^{24, 35}	Secretor ²⁴	Secretor ^{5, 8, 9, 13, 15, 16, 29}
Idioblastos fenólicos	- ²⁹	- ³⁵	?	- ⁵ + 8, 9, 13, 29
Acúmulo de grânulos de amido nos tecidos da antera	- ^{10, 29}	+ ³⁵	?	- ^{5, 8, 9, 13, 15, 16, 29}
Antera tetrasporangiada	+ ²⁹	+ ³⁵	?	+ 9, 13, 15, 29
Microsporogênese	Simultânea (tipo-Cyperaceae) ²⁹	Simultânea (tipo-Cyperaceae) ³⁵	Simultânea (tipo-Cyperaceae) ²⁴	Simultânea (tipo-Cyperaceae) ^{8, 21, 29}
Meiose	?	Diferencial ³⁵ Sincrônica ³⁵ Assincrônica ³⁵	?	Sincrônica ¹³ Assincrônica ¹³ Regular ²⁰ Normal ²³
Número de micrósporos formados	4 ^{10, 29}	3 ³⁵	?	4 ^{8, 11, 15, 23, 29}
Citocinese	+, simultânea ¹⁰	+, simultânea por sulcamento centrípeto e diferencial ³⁵	- ²⁴	- ¹³ + 6, 11, 15, 23, 34 Simultânea ^{15, 23, 34} Assimétrica ³⁴
Presença de uma delimitação entre os micrósporos formados	+, parede fina ¹⁰	+, parede incompleta ³⁵	+, septo ²⁴	+, septo efêmero ¹ +, septo ^{3-5, 8, 9, 21} +, fina membrana ^{7, 9}

				+, placa celular efêmera ⁶ +, placa celular incompleta ²³ +, placa celular completa ^{11, 21, 34} +, sulco ²¹ - ²
Partição do citoplasma durante a citocinese ?		Diferencial ³⁵	?	Desigual ²³
Região onde os três núcleos não-funcionais degeneram	Periférica ²⁹	Periférica ³⁵	Apical ²⁴	Superior ¹ Apical ^{2-4, 7, 8, 13} Basal ^{4, 29} Proximal ⁵ Adaxial ^{11, 23} Abaxial ³⁴
Presença de células vegetativa e generativa	-, apenas dos núcleos ²⁹	+ ³⁵ -, apenas dos núcleos ²⁴	?	-, apenas núcleos ^{1, 2, 16, 21, 29} + ^{3-9, 11, 13, 15, 23, 34}
Presença de células espermáticas	+ ²⁹	+ ²⁴ -, apenas dos núcleos ³⁵	+, apenas uma célula ²⁴	+ ^{2-6, 8, 9, 11, 13, 15, 16, 21, 29} -, apenas dos núcleos ⁷
Número de núcleos no pólen maduro	3 ^{10, 29}	3 ³⁵	?	3 ^{1-6, 8, 9, 13, 15, 16, 29, 34}
Arranjo do pólen madura nas cavidades dos microsporângios	Central ²⁹	Central ^{18, 35}	Periférico ²⁴	Periférico ^{18, 24}
Grão de amido no pólen maduro	+ ²⁹	+ ³⁵	?	+ ^{13, 29}
Tipo de grão de pólen	Pseudomônade ²⁹	Pólen tipo-Mapania ²⁴ Pseudomônade ³⁵	Pólen tipo-Mapania ²⁴ Pseudomônade ^{24, 33}	Pseudomônade ^{5, 6, 8, 12, 13, 16, 18, 20, 21, 23, 24, 29, 30, 32, 34}
Forma do grão de pólen	Esférica ^{22, 27-29}	Esférica ^{18, 22, 24, 27, 35} Levemente cuneiforme ³⁵	Cuneiforme ^{22, 33} Esférica ^{19, 24, 27}	Cuneiforme ^{1, 6, 9, 18, 19, 22, 23, 25, 26, 29} Esférica ^{27, 30, 32}
Número de aberturas no grão de pólen	1 ²⁷⁻²⁹	1 ^{24, 27, 35} 3 (2 distais + 1 proximal) ³⁵	1 ^{19, 22, 27} 5 (1 distal + 4 laterais) ²⁷	≥ 4 (1 distal + ≥ 3 laterais) ^{19, 22, 26, 27, 30-32} 3-5 ou mais ²⁷
Presença de exina e intina	+ ¹⁰	+ ^{24, 35}	+ ²⁴	+ ^{1, 9, 11}
Ornamentação da sexina	Microreticulada ²⁷ Microreticulada rugulada ²⁸ Microreticulada heterogênea ²⁹	Reticulada ^{24, 35} Microreticulada ^{27, 35} Microequinada ²⁷ Fossulada ²⁷	Microreticulada ²⁷ Granulada ²⁷ Rugulada ²⁷	Granulosa ^{25, 26, 27, 30} Fossulada ²⁷ Microreticulada negativa ^{27, 29} Microequinada ^{27, 30, 31} Psilada ²⁷
Presença de teto, columela e camada basal	+ ²⁸	+ ^{24, 35}	+ ²⁴	+ ^{12, 14; 30}

Intina espessa na região da abertura	?	+ 24, 35	+ 24	- 30
Presença de orbículos	+ 27, 28	+ 24, 27, 35	+ 24, 27	+ 9, 11, 13, 16, 26, 27, 30, 31

Referências: ¹ Elfving (1879); ² Stout (1912); ³ Tanaka (1940); ⁴ Tanaka (1941); ⁵ Padhye e Moharir (1958); ⁶ Carniel (1962); ⁷ Strandhede (1965); ⁸ Padhye et al. (1970); ⁹ Padhye (1971); ¹⁰ Nagaraj e Nijalingappa (1972); ¹¹ Dunbar (1973); ¹² Hesse (1980); ¹³ Makde (1982); ¹⁴ Zavada (1983); ¹⁵ Nijalingappa (1986); ¹⁶ Makde e Bhuskute (1987); ¹⁷ Manning e Linder (1990); ¹⁸ Kirpes et al. (1996); ¹⁹ Goetghebeur (1998); ²⁰ Dopchiz e Poggio (1999); ²¹ Furness e Rudall (1999); ²² van Wichelen et al. (1999); ²³ Brown e Lemmon (2000); ²⁴ Simpson et al. (2003); ²⁵ Pignotti e Mariotti (2004); ²⁶ Vrijdaghs et al. (2006); ²⁷ Nagels et al. (2009); ²⁸ Smith et al. (2009); ²⁹ Coan et al. (2010); ³⁰ Halbritter et al. (2010); ³¹ Muasya et al. (2010); ³² Wronska-Pilarek et al. (2010); ³³ Furness e Rudall (2011); ³⁴ San Martin et al. (2013); ³⁵ presente estudo.

Nota: +: Presente; -: Ausente.

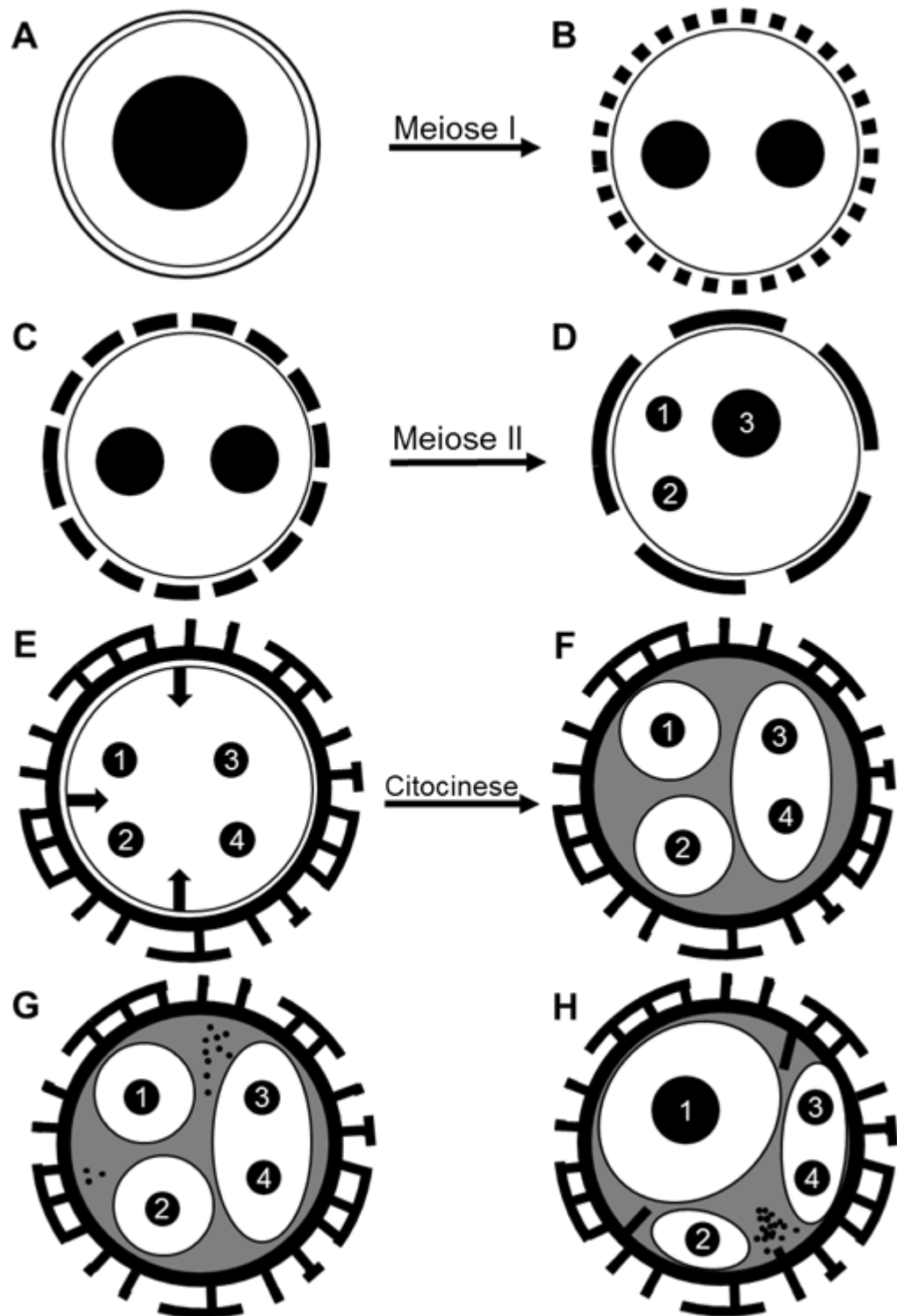


Figura 62: Representação esquemática da microsporogênese e formação da parede da pseudomônade de *Mapania macrophylla*, *M. pycnostachya* e *M. sylvatica*. A. Microsporócito. B, C. Díade de núcleos de micrósporos com o início da formação da exina. D. Tríade de núcleos de micrósporos. E. Tétrade de núcleos de micrósporos com a exina formada. F. Tríade de micrósporos. G. Glóbulos de esporopolenina (●) presentes em um sulco. H. Pseudomônade em desenvolvimento mostrando o micrósporo funcional e os dois micrósporos não-funcionais. — = membrana plasmática; - - - = parede celular; ■ = exina em formação; ▬ = exina formada.

6. DISCUSSÃO

A maioria dos resultados apresentados nesta dissertação, para as três espécies de *Mapania* estudadas, está de acordo com o descrito para a família. Estes são: formação da parede da antera do tipo monocotiledôneo; parede do endotécio com espessamento em espiral; camada mediana efêmera; tapete do tipo secretor; antera tetrasporangiada; microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae; acúmulo de grãos de amido no interior da pseudomônade; pseudomônade liberada com três núcleos; parede da pseudomônade formada por exina e intina, com a exina diferenciada em teto, columela e camada basal (Tabela 2).

Porém, resultados diferentes foram encontrados para as três espécies de *Mapania* e são inéditos para a família e são eles: parede periclinal externa das células da epiderme levemente espessada; presença de muitos vacúolos no citoplasma dos microsporócitos; meiose II assincrônica; citocinese simultânea através de sulcamento centrípeto diferencial formando uma tríade de micrósporos; formação incompleta de paredes entre os três micrósporos, em tempos distintos; e a parede da pseudomônade formada pela esporopolenina proveniente do tapete durante a microsporogênese.

Ainda, foram encontrados resultados diferentes entre as espécies de *Mapania* estudadas e são eles: acúmulo de grânulos de amido em diferentes partes do tecido das anteras jovens das três espécies de *Mapania*; espessamento em barra nas paredes periclinais externas das células da epiderme em *M. pycnostachya*; meiose I assincrônica entre os microsporócitos do mesmo microsporângio em *M. pycnostachya*; pseudomônade de formato esférico e monoporado em *M. macrophylla* e *M. sylvatica* e levemente cuneiforme e triporada em *M. pycnostachya*; e sexina reticulada em *M. macrophylla* e microreticulada em *M. pycnostachya* e *M. sylvatica*.

6.1 Desenvolvimento da parede da antera

Grânulos de amido foram encontrados em diferentes partes do tecido das anteras jovens das três espécies de *Mapania* aqui estudadas, como, por exemplo, nas células da epiderme em *M. pycnostachya* e *M. sylvatica*, do endotécio de *M. macrophylla* e *M. sylvatica*, e da camada mediana e do conectivo de *M. sylvatica*, sendo consumidos durante a microsporogênese, provavelmente para nutrir tanto a célula nele presente como os micrósporos em desenvolvimento. Em Poaceae, constatou-se acúmulo de grânulos de amido na epiderme e no endotécio das anteras jovens de *Olyra humilis* Nees e *Sucrea monophylla* Soderstr. (Bambusoideae), não sendo observado nas anteras maduras das mesmas (Nakamura et al. 2010). Segundo Bhandari (1984), o desaparecimento desse amido nos tecidos das anteras maduras foi devido a sua utilização no desenvolvimento do pólen.

Epiderme papilosa com acúmulo de compostos fenólicos, uma característica não observada nas espécies de *Mapania* aqui estudadas, é comumente observada nas anteras de Cyperaceae (Padhye et al. 1970; Padhye 1971; Makde 1982; Makde e Bhuskute 1987; Coan et al. 2010). Uma outra característica observada foi um leve espessamento na parede periclinal externa da epiderme das três espécies estudadas de *Mapania* e a presença do espessamento em barra também na mesma parede em *M. pycnostachya* apenas. Estas características são novidades para o gênero e a última é inédita para família, podendo ser usada como um caráter diagnóstico para diferenciar anatomicamente *M. pycnostachya* das outras duas espécies estudadas, e provavelmente esse espessamento na epiderme junto com aquele observado no endotécio podem auxiliar na deiscência da antera.

6.2 Microsporogênese

Nas três espécies estudadas de *Mapania* há a presença de vacúolos proeminentes no citoplasma dos microsporócitos, característica não descrita nos estudos de ontogenia polínica de espécies de Cyperaceae (Stout 1912; Tanaka 1940, 1941; Padhye e Moharir 1958; Padhye et al. 1970; Padhye 1971; Nagaraj e Nijalingappa 1972; Makde 1982; Makde e Bhuskute 1987; Kirpes et al. 1996; Brown e Lemmon 2000; Coan et al. 2010). Durante a microgametogênese, nas espécies estudadas de *Mapania*, esses vacúolos se coalescem no interior da célula vegetativa.

Na literatura, a formação de vários vacúolos é relatada no interior dos micrósporos de *Hordeum vulgare* L. (Poaceae) (Charzýnska e Lenart 1989). Neste caso, os pequenos vacúolos também se coalescem num grande vacúolo, que auxilia na migração dos núcleos vegetativo e generativo até a abertura do pólen (Charzýnska e Lenart 1989).

Durante a microsporogênese das três espécies de *Mapania* estudadas, constatou-se a ocorrência de uma meiose diferencial, onde as díades de núcleos de micrósporos passavam pela segunda divisão meiótica em tempos diferentes. Provavelmente, esta meiose colaborou na ausência de uma citocinese simultânea através de sulcamento centrípeto regular entre os quatro núcleos formados, originando, assim, uma tríade de micrósporos, com um deles possuindo dois núcleos. Após a citocinese, o aparecimento de glóbulos de esporopolenina para a formação da parede entre os micrósporos recém-formados, primeiramente em apenas um dos sulcos, possibilitou identificar quem era o micrósporo funcional e quem eram os micrósporos não-funcionais. Infelizmente, no presente estudo, não se pode acompanhar toda a microsporogênese sob microscopia eletrônica de transmissão ao ponto de se conhecer de quais dos núcleos da díade o micrósporo funcional se originou.

Os estudos de desenvolvimento do pólen em Cyperaceae descrevem que a meiose é regular (Dopchiz e Poggio 1999), ou sincrônica (Makde 1982), ou normal (Brown e Lemmon

2000), sendo algumas vezes seguida por uma citocinese simultânea (Nagaraj e Nijalingappa 1972; Dunbar 1973; Nijalingappa 1986; Brown e Lemmon 2000; San Martin et al. 2013) e assimétrica (San Martin et al. 2013), produzindo quatro micrósporos. Esses micrósporos passam por mudança de tamanho e volume no final da microsporogênese, de modo que se distinguem o micrósporo funcional e os micrósporos não-funcionais (Carniel 1962; Nijalingappa 1986; Brown e Lemmon 2000). O micrósporo funcional é caracterizado por ser maior do que os não-funcionais, o mesmo para seus núcleos (Carniel 1962; Nijalingappa 1986; Brown e Lemmon 2000). Posteriormente, os micrósporos não-funcionais migram para periferia da pseudomônade, onde se degeneram (Carniel 1962; Nagaraj e Nijalingappa 1972; Dunbar 1973; Makde 1982; Nijalingappa 1986; Brown e Lemmon 2000; San Martin et al. 2013).

No estudo polínico realizado para o gênero-irmão de *Mapania*, *Hypolytrum* (Coan et al. 2010), não houve relato de uma meiose II assincrônica seguida por uma citocinese simultânea através de sulcamento centrípeto diferencial, mesmo que evidências anatômicas em *H. bullatum* C.B.Clarke mostrem dois núcleos não-funcionais juntos e distantes do terceiro.

Citocinese através de sulcamento centrípeto entre a tétrade de núcleos foi observada, ultraestruturalmente, em *M. pycnostachya*, resultando numa tríade de micrósporos. Esse tipo de citocinese também foi descrito em *Luzula* DC. (Juncaceae) (Furness e Rudall 1999), também em nível ultraestrutural, mas com a formação de quatro micrósporos.

A presença de um septo, ou sulco ou parede ou placa celular – mesmo sendo estas incompletas ou efêmeras –, delimitando o micrósporo funcional dos não-funcionais, foi observada em algumas espécies de Cyperaceae (Elfving 1879; Tanaka 1940, 1941; Padhye e Moharir 1958; Carniel 1962; Strandhede 1965; Padhye et al. 1970; Padhye 1971; Nagaraj e Nijalingappa 1972; Dunbar 1973; Furness e Rudall 1999; Brown e Lemmon 2000; Simpson et

al. 2003; San Martin et al. 2013). Nas espécies estudadas de *Mapania*, observaram-se paredes incompletas entre a tríade de micrósporos, que foram formadas em tempos distintos. Em *Luzula*, nenhuma parede é observada entre a tétrade de micrósporos, a não ser a íntina (Furness e Rudall 1999).

Em *Luzula*, após a citocinese, glóbulos de esporopolenina aparecem nos sulcos entre a tétrade de micrósporos, mas não se coalescem formando uma parede (Furness e Rudall 1999). Nas três espécies de *Mapania* estudadas, esses glóbulos também aparecem nos sulcos após a citocinese, mas neste caso eles se coalescem e formam paredes incompletas. Em *Eleocharis* R. Bripomo (Cyperoideae) (Dunbar 1973), os glóbulos de esporopolenina só aparecem um pouco antes da íntina envolver os três micrósporos não-funcionais. Neste momento, a placa celular que delimitava o micrósporo funcional dos não-funcionais enfraquece e logo é reforçada pelos glóbulos de esporopolenina e também pela calose. Tanto os glóbulos como a calose terminam sendo agregadas a íntina, quando esta está envolvendo os micrósporos não-funcionais.

Esses resultados listados anteriormente demonstram que os glóbulos de esporopolenina ganharam funcionalidade em Cyperaceae com uma parede ou reforçando a já existente e nota-se uma temporização em seu surgimento na família; aparecendo após a citocinese em *Mapania* e antes do envolvimento dos micrósporos não-funcionais pela íntina em *Eleocharis*.

6.3 Microgametogênese

O local onde os três núcleos não-funcionais migram ao final da microsporogênese para se degenerar varia entre as espécies de Cyperaceae. Na maioria das espécies estudadas (Stout 1912; Tanaka 1940, 1941; Padhye et al. 1970; Padhye 1971; Nijalingappa 1986; Makde e Bhuskute 1987; Brown e Lemmon 2000; Simpson et al. 2003), os núcleos não-

funcionais migram para a região apical do pólen (porção afunilada da pseudomônade cuneiforme), oposta a abertura distal, onde degeneram. Em espécies de *Rhynchospora* Vahl (Tanaka 1941; Coan et al. 2010), esses três núcleos migram para a região basal do pólen (porção mais alargada da pseudomônade cuneiforme) próxima à abertura distal. Em gêneros com pseudomônades esféricas (Nagaraj e Nijalingappa 1972; Coan et al. 2010), os três núcleos migram para a periferia da pseudomônade, mas próximos a abertura distal. Nas três espécies de *Mapania* do estudo, os três núcleos não-funcionais migram – ou seja, são empurrados pelo micrósporo funcional em crescimento –, também, para a periferia da pseudomônade, mas ficam opostos à abertura distal, assemelhando-se àqueles observados nas espécies de Cyperaceae listadas acima.

A posição da célula vegetativa nas três espécies de *Mapania* estudadas é adjacente aos micrósporos não-funcionais, diferente do que normalmente ocorre em Cyperaceae. Na maioria das espécies dessa família já estudadas, a célula generativa é que ocupa essa posição, ao passo que a célula vegetativa sempre se encontra adjacente a abertura distal (Tanaka 1940, 1941; Padhye et al. 1970; Nagaraj e Nijalingappa 1972; Makde 1982; Makde e Bhuskute 1987; Kirpes et al. 1996; Brown e Lemmon 2000; Coan et al. 2010). Essa observação em *Mapania* pode ser resultado de uma reversão da polaridade da mitose do núcleo funcional, ou seja, o polo generativo se encontra na região distal do pólen, enquanto que o polo vegetativo, na proximal. Esse tipo de reversão é observado em *Phalaenopsis* Blume (Orchidaceae) (Brown e Lemmon 1992).

No presente estudo, os três núcleos não-funcionais das espécies de *Mapania* são envolvidos pela intina, onde se degeneram. Esse resultado corrobora com aquele descrito em *Eleocharis* (Dunbar 1973).

6.4 Desenvolvimento da parede da pseudomônade

Estudos de formação da parede da pseudomônade de Cyperaceae ainda são incipientes.

Nas espécies de *Mapania* aqui estudadas, o tapete produz e secreta as esporopoleninas – na forma de orbículo –, necessárias para a formação da exina de suas pseudomônades durante a microsporogênese. Esse resultado difere daquele descrito durante a formação da exina de *Eleocharis* (Cyperoideae) (Dunbar 1973). Nesta espécie, a esporopolenina é produzida e secretada pela tétrade de núcleos de micrósporos envolvida ainda pela parede de calose.

Segundo alguns estudos (Heslop-Harrison 1968, 1971; Knox 1984), a parede de calose serve como uma barreira que impede qualquer influência do esporófito sobre o desenvolvimento do pólen. Somente após a dissolução desta parede, no estágio de micrósporo livre, o esporófito realiza alguma contribuição, como, por exemplo, o seu tapete produz e secreta esporopoleninas que são acrescentadas à exina (Heslop-Harrison 1968, 1971; Knox 1984; Pacini et al. 1985).

Segundo Pacini (2010), os orbículos são produtos da degeneração do tapete e compostos por esporopolenina, cuja origem no tapete e função ainda são incertas. Especula-se que os orbículos, por constituir-se de esporopolenina, possam ajudar na formação da parede do pólen no estágio de micrósporo livre, mas tal especulação ainda não está bem fundamentada (Bhandari 1984). Para as três espécies estudadas de *Mapania* notaram-se que os orbículos são provenientes do tapete em plena atividade, cuja esporopolenina é depositada sobre a parede da díade de núcleos de micrósporos. Esse resultado contraria a declaração de Pacini (2010) e mostra que os orbículos podem, também, vir de um tapete ainda saudável.

Do estágio de díade de núcleos de micrósporos ao estágio de diferenciação dos núcleos funcional e não-funcionais, os orbículos presentes no lóculo da antera das três

espécies estudadas de *Mapania* são consumidos para a formação da exina. Esse consumo pode ser causado por uma enzima chamada esterase (Ahokas 1976). A esterase pode estar presente no tapete, no orbículo, na superfície do pólen e na abertura deste e tem a função de hidrolisar a esporopolenina presente no meio para que esta seja usada na construção da exina, (Alorkas 1976). Essa enzima geralmente aparece no momento da deposição da esporopolenina e permanece até a conclusão da exina (Ahokas 1976). Em *H. vulgare*, a esterase presente no poro garante que este não seja obstruído, hidrolisando a esporopolenina presente nele e usando-a para a formação do opérculo. (Ahokas 1976).

Em *M. pycnostachya*, em ultraestrutura, observou-se que a esporopolenina é depositada na forma de partículas sobre a parede da pseudomônade, o mesmo é observado sobre a parede do micrósporo de *H. vulgare* (Ahokas 1975).

As pseudomônades das espécies de *Mapania* aqui estudadas apresentam a exina diferenciada em teto, columela e camada basal. Essa mesma estratificação é encontrada na exina de *Carex* L. (Cyperoideae) (Hesse 1980; Zavada 1983), *Eleocharis* (Cyperoideae), *Scirpus* L. (Cyperoideae) (Zavada 1983), *Diplasia* (Mapanioideae) (Simpson et al. 2003), *Hypolytrum* (Mapanioideae) (Smith et al. 2009) e *Mapania* (Mapanioideae) (Simpson et al. 2003), como também na exina de vários pólenes de angiospermas (Heslop-Harrison 1971; Knox 1984). Estratificação distinta a esta foi relatada para *Volkeria messelensis* S. Y. Smith, Collinson, Simpson, Rudall, Marone & Stampanoni (Mapanioideae), uma espécie fóssil de Cyperaceae, onde a exina do pólen é desprovida de teto e columela, possuindo apenas uma camada basal (Smith et al. 2009). Na região da abertura da pseudomônade das espécies estudadas de *Mapania*, a exina se diferencia em teto, columela e camada basal lamelada. Tal resultado foi observado em espécies de *Diplasia* e também de *Mapania* (Simpson et al 2003).

A intina, nas três espécies de *Mapania* do presente estudo, é espessa na região da abertura e delgada no restante da pseudomônade. Este resultado corrobora com o observado

para as espécies de *Capitularina*, *Diplasia*, *Exocarya*, *Mapania* (Mapanioideae) e *Hellmuthia* Steud. (Cyperoideae) (Simpson et al. 2003). Porém, em *Carex* L. (Cyperoideae) (Halbritter et al. 2010), a intina é delgada na região de abertura e espessa no restante da pseudomônade.

Nas espécies de *Mapania* estudadas observaram-se que os orbículos que não foram consumidos durante a formação da exina permaneceram aderidos a membrana peritapetal e na superfície das pseudomônades, corroborando com o relatado prévio em *Mapania cuatrecasasii* T.Koyama e em outras espécies de Cyperaceae (Nagels et al. 2009).

Pólen com formato cuneiforme e com duas aberturas já foi observado em *M. humilis* [= *M. cuspidata*] (Erdtman 1952), porém tal morfologia não foi levada em consideração na descrição para o gênero. Em *Mapania*, os pólenes normalmente são descritos como sendo esféricos e monoporados (Simpson et al. 2003). No entanto, a pseudomônade de *M. pycnostachya*, quando imatura possui formato esférico e triporado, mas à medida que vai se desenvolvendo, a mesma se alonga e se torna levemente cuneiforme e triporada, com um poro proximal e dois poros distais.

Uma abertura distal é comumente encontrada nos pólenes de espécies estudadas de Cyperaceae (Goetghebeur 1998; van Wichelen et al. 1999; Vrijdaghs et al. 2006; Nagels et al. 2009; Halbritter et al. 2010; Muasya et al. 2010; Wronska-Pilarek et al. 2010). Mas, no presente estudo, também duas aberturas distais são vistas no pólen maduro de *M. pycnostachya*. Além dessa abertura distal, algumas espécies de Cyperaceae também apresentam aberturas laterais (Goetghebeur 1998; Van Wichelen et al. 1999; Vrijdaghs et al. 2006; Nagels et al. 2009; Halbritter et al. 2010; Muasya et al. 2010; Wronska-Pilarek et al. 2010), também designadas de pseudoaberturas (Dahlgren et al. 1985; Meltsov et al. 2008), já que a abertura distal é o local onde o tubo polínico se projeta durante a germinação do pólen (Meltsov et al. 2008). Uma outra função sugerida para a abertura distal seria o local de passagem de nutrientes do tapete para o pólen, como o que ocorre em Poaceae, pois esta

abertura se encontra durante todo desenvolvimento em contato com o tapete (Halbritter et al. 2010).

Assim, conforme apresentado acima, o pólen das três de *Mapania* estudadas é uma pseudomônade, resultante da microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae. Esta microsporogênese, no presente estudo, apresentou uma diferença quanto àquela descrita para *Hypolytrum* (Nagaraj e Nijalingappa 1972; Coan et al 2010) e para outras espécies de Cyperaceae (Elfving 1879; Stout 1912; Tanaka 1940, 1941; Padhye e Moharir 1958; Carniel 1962; Strandhede 1965; Padhye et al. 1970; Padhye 1971; Dunbar 1973; Makde 1982; Nijalingappa 1986; Makde e Bhuskute 1987; Brown e Lemmon 2000; Coan et al. 2010), por apresentar uma meiose II assincrônica e isso, possivelmente, prejudicou a citocinese entre os quatro núcleos formados, originando apenas três micrósporos. Duas hipóteses são sugeridas sobre a presença desta tríade de micrósporos em *Mapania*, e são estas:

1. O aparecimento desta tríade seria um modo da planta poupar energia no final da microsporogênese, destinando-a para outras etapas do desenvolvimento da pseudomônade; ou
2. O aparecimento da tríade seria um dos passos evolutivos que culminou na formação dos micrósporos funcional e não-funcionais em Cyperaceae e, por fim, no surgimento da pseudomônade.

Baseando-se nestas hipóteses, *Mapania* poderia ser um gênero derivado, ou ser um gênero basal, respectivamente.

Portanto, o presente estudo apresentou novos conhecimento para a microsporogênese em Cyperaceae, como também abriu perspectivas para novos estudos em Mapanioideae, especialmente em Hypolytreae.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este é o primeiro estudo que abordou toda a ontogenia polínica em *Mapania*.

Os resultados encontrados aqui constatarem que o pólen tipo-*Mapania*, na verdade, é uma pseudomônade, resultado da degeneração de três dos quatro núcleos, produtos da meiose, confirmando, assim, a presença da microsporogênese simultânea tipo-Cyperaceae.

Em relação à meiose, observou-se que a fase I é assincrônica entre os núcleos dos microsporócitos de um mesmo microsporângio em *M. pycnostachya*. Ainda na meiose, a fase II é assincrônica em todas as espécies estudadas de *Mapania*, pois cada um dos dois núcleos resultantes da meiose I passam por esta divisão, em tempos distintos.

Com o auxílio do microscópio eletrônico de transmissão pode-se observar a citocinese simultânea através de sulcamento centrípeto diferencial. Diferencial porque nem todos os quatro núcleos passam pela citocinese, originando, desta forma, uma tríade de micrósporos. Também pode-se observar o aparecimento de glóbulos de esporopolenina para a formação da parede, primeiramente, em apenas um dos sulcos que separava um micrósporo dos outros dois, identificando assim o micrósporo funcional e os dois micrósporos não-funcionais. Isso acabou sendo confirmado em seguida, com o aumento de volume do primeiro, que empurrou os outros dois para periferia da pseudomônade.

Com relação à microgametogênese, esta é semelhante aos demais estudos em Cyperaceae. Neste processo observou-se, também, os três núcleos não-funcionais sendo envolvidos pela intina, confirmando assim resultados prévios de outros estudos de Cyperaceae.

Por fim, a partir deste estudo há a perspectiva de produção de dois manuscritos que serão enviados para periódicos da área.

8. REFERÊNCIAS

- Ahokas H (1975) Male sterile mutants of barley. II. Cytochemistry of non-mutant and msg6cf microspores and pollen. *Hereditas* 81: 33-46.
- Ahokas H (1976) Evidence of a pollen esterase capable of hydrolyzing sporopollenin. *Experientia* 32(2): 175-177.
- Alves M, Araújo AC, Hefler SM, Trevisan R, Silveira GH, Luz CL (2016) Cyperaceae. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB35112>. Acesso em 19 Janeiro 2016.
- APG III (2009) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105-121.
- Bhandari NN (1984) The microsporangium. In: Johri BM (ed.) *Embryology of Angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, pp. 53-121.
- Bouchenak-Khelladi Y, Muasya M, Linder HP (2014) A revised evolutionary of Poales: origins and diversification. *Botanical Journal of the Linnean Society* 175: 4-16.
- Brown RC, Lemmon BE (1992) Pollen development in orchids 4. Cytoskeleton and ultrastructure of the unequal pollen mitosis in *Phalaenopsis*. *Protoplasma* 167: 183-192.
- Brown RC, Lemmon BE (2000) The cytoskeleton and polarization during pollen development in *Carex blanda* (Cyperaceae). *American Journal of Botany* 87(1): 1-11.
- Bruhl J (1995) Sedge genera of the world: relationships and a new classification. *Australian Systematic Botany* 8: 125-315.
- Carniel K (1962) Beiträge zur entwicklungsgeschichte des sporogenen gewebes der Gramineen und Cyperaceen. II. Cyperaceae. *Österreichische botanische Zeitschrift* 109(1): 81-95.
- Charzyńska M, Lenart N (1989) Pollen grain of barley (*Hordeum vulgare* L.) – pattern of development. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 58(3): 313-320.
- Chase MW, Soltis DE, Olmstead RG, Morgan D, Les DH, Mishler BD, Durvall MR, Price RA, Hills HG, Qiu Y-L, Kron KA, Rettig JH, Conti E, Palmer JD, Manhart JR, Systma KJ, Michaels HJ, Kress WJ, Karol KG, Clark WD, Hedrén M, Gaut BS, Jansen RK, Kim K-J, Wimpee CF, Smith JF, Furnier GR, Strauss SH, Xiang Q-Y, Plunkett GM, Soltis PS, Swensen SM, Williams SE, Gadek PA, Quinn CJ, Eguiarte LE, Golenberg E, Learn Jr GH, Graham SW, Barret SCH, Dayanandan S, Albert VA (1993) Phylogenetics of seed plants:

- an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 80: 529-580.
- Coan AI, Alves MV, Scatena VL (2010) Evidence of pseudomonad pollen formation in *Hypolytrum* (Mapanioideae, Cyperaceae). *Australian Journal of Botany* 58: 663-672.
- Dahlgren RMT, Clifford HT, Yeo PF (1985) *The families of the monocotyledons: structure, evolution and taxonomy*. Springer, Berlin.
- Dopchiz LP, Poggio L (1999) Meiosis and pollen grain development in *Isolepis cernua* f. *cernua* (Cyperaceae). *Caryologia* 52(3-4): 197-201.
- Dunbar A (1973) Pollen development in the *Eleocharis palustris* group (Cyperaceae). I. Ultrastructure and ontogeny. *Botaniska Notiser* 126(2): 197-254.
- Durvall MR, Clegg MT, Chase MW, Clark WD, Kress WJ, Hills HG, Eguiarte LE, Smith JF, Gaut BS, Zimmer EA, Learn Jr GH (1993) Phylogenetic hypotheses for the monocotyledons constructed from *rbcL* sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 80: 607-619.
- Elfving F (1879) Studien über die pollenkörner der Angiospermen. *Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaften* 13: 1-28.
- Erdtman G (1952) Pollen morphology and plant taxonomy – Angiosperms (An introduction to Palynology). *Almqvist and Wiksell*, Stockholm, pp. 141-142.
- Fægri K, Iversen J (1989) *Textbook of pollen analysis*. NJ Blackburn Press, Caldwell.
- Feder N, O'Brien TP (1968) Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* 55: 123-142.
- Furness CA, Rudall PJ (1999) Microsporogenesis in monocotyledons. *Annals of Botany* 84: 475-499.
- Furness CA, Rudall PJ (2011) Selective microspore abortion correlated with aneuploidy: an indication of meiotic drive. *Sexual Plant Reproduction* 24: 1-8.
- Givnish TJ, Ames M, McNeal JR, McKain MR, Steele PR, dePamphilis CW, Graham SW, Pires JC, Stevenson DW, Zomlefer WB, Briggs BG, Durvall MR, Moore MJ, Heaney JM, Soltis DE, Soltis PS, Thiele K, Leebens-Mack JH (2010) Assembling the tree of the Monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 97: 584-616.
- Goetghebeur P (1998) Cyperaceae. In: Kubitzki K (ed.) *The families and genera of vascular plants*. IV. Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae). Springer, Berlin, pp. 141-190.

- Halbritter H, Weber M, Hess M (2010) Unique aperture stratification in *Carex* (Cyperaceae) pollen. *Grana* 49: 1-11.
- Harris PJ, Hartley RD (1980) Phenolic constituents of the cell walls of monocotyledons. *Biochemical Systematics and Ecology* 8: 153-160.
- Hertweck KL, Kinney MS, Stuart SA, Maurin O, Mathews S, Chase MW, Gondolfo MA, Pires JC (2015) Phylogenetics, divergence times and diversification from three genomic partitions in monocots. *Botanical Journal of the Linnean Society* 178: 375-393.
- Heslop-Harrison J (1968) Pollen wall development. *Science* 161: 230-237.
- Heslop-Harrison J (1971) The pollen wall: structure and development. In: Heslop-Harrison J (ed.) *Pollen: Development and physiology*, Butterworth, London, pp. 75-98.
- Hesse M (1980) Entwicklungsgeschichte und ultrastruktur von pollenkitt und exine bei nahe verwandten entomophilen und anemophilen Angiospermensippen der Alismataceae, Liliaceae, Juncaceae, Cyperaceae, Poaceae und Araceae. *Plant Systematics and Evolution* 134: 229-267.
- Horisberger M, Rosset J, Bauer H (1975) Colloidal gold granules as markers for cell surface receptors in the scanning electron microscope. *Experientia* 31: 1147-1149.
- Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Kirpes CC, Lynn LG, Lersten NR (1996) Systematic significance of pollen arrangement in microsporangia of Poaceae and Cyperaceae: review and observation on representative taxa. *American Journal of Botany* 83(12): 1609-1622.
- Knox RB (1984) The pollen grain. In: Johri BM (ed.) *Embryology of Angiosperms*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, pp. 197-271.
- Koyama T (1961) Classification of the family Cyperaceae (1). *Journal of Faculty of Science, University of Tokyo* 8(3): 37-148.
- Léveillé-Bourret E, Gilmour CN, Starr JR, Naczi RFC, Spalink D, Sytsma KJ (2014) Searching for the sister to sedge (*Carex*): resolving relationships in the Cariceae-Dulichieae-Scirpeae clade (Cyperaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 176(1): 1-21.
- Linder HP, Kellogg EA (1995) Phylogenetic patterns in the Commelinid clade. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ (eds) *Monocotyledons: systematics and evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 473-496.
- Linder HP, Rudall PJ (2005) Evolutionary history of Poales. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36: 107-124.

- Maheshwari P (1950) An introduction to the embryology of angiosperms. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Makde KH (1982) Pollen development in the Cyperaceae. *Journal of the Indian Botanical Society* 61: 242-249.
- Makde KH, Bhuskute SM (1987) Embryology of *Kyllinga monocephala* (Cyperaceae) and its systematic position. *Plant Systematics and Evolution* 156: 143-150.
- Manning JLC, Linder HP (1990) Cladistic analysis of patterns of endothelial thickenings in the Poales/Restionales. *American Journal of Botany* 77(2): 196-201.
- Meltsov V, Poska A, Saar M (2008) Pollen size in Carex: The effect of different chemical treatments and mounting media. *Grana* 47: 220-233.
- Muasya AM, Simpson DA, Verboom GA, Goetghebeur P, Naczi RFC, Chase MW, Smets E (2009) Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data: Current progress and future prospects. *Botanical Revision* 75: 2-21.
- Muasya AM, Musili PM, Vrijdaghs A (2010) *Kyllinga mbitheana* (Cyperaceae) – Description, floral ontogeny and pollen micromorphology of a new species from Kenya. *Journal of East African Natural History Society* 99(1): 65-75.
- Nagaraj M, Nijalingappa BHM (1972) Sporogeneses and development of gametophytes in *Hypolytrum latifolium* L.C. Rich. *Current Science* 41(7): 260-261.
- Nagels A, Muasya AM, Huysmans S, Vrijdaghs A, Smets E, Vinckier S (2009) Palynological diversity and major evolutionary trends in Cyperaceae. *Plant Systematics and Evolution* 277: 117-142.
- Nakamura AT, Longhi-Wagner HM, Scatena VL (2010) Anther and pollen development in some species of Poaceae (Poales). *Brazilian Journal of Biology* 70(2): 351-360.
- Nijalingappa BHM (1986) Embryology of *Scleria foliosa* (Cyperaceae). *Plant Systematics and Evolution* 152: 219-231.
- Pacini E (2010) Relationships between tapetum, loculus, and pollen during development. *International Journal of Plant Sciences* 171(1): 1-11.
- Pacini E, Franchi GG, Hesse M (1985) The tapetum: Its form, function, and possible phylogeny in Embryophyta. *Plant Systematics and Evolution* 149: 155-185.
- Padhye MD (1971) Studies in Cyperaceae. III. Life history of *Kyllinga brevifolia* Rottb. with a brief discussion on systematic position of *Kyllinga*. *Botanical Gazette* 132(3): 172-179.
- Padhye MD, Moharir SK (1958) Studies in embryology of *Cyperus tegetum* Roxb. *Indian Academy of Sciences, Proceedings*, B 48: 89-95.

- Padhye MD, Chaube SN, Iyer AV (1970) Studies in Cyperaceae – VIII. Gametophytes and fertilization in two members of Cyperaceae. *Journal of the Indian Botanical Society* 49: 86-92.
- Pignotti L, Mariotti LP (2004) Micromorphology of *Scirpus* (Cyperaceae) and related genera in South-west Europe. *Biological Journal of the Linnean Society* 145: 45-58.
- Plant list. The Plant List of The Royal Botanic Gardens Kew and Missouri Botanical Garden (2016) World checklist of selected plant genus and species. Disponível em <http://www.theplantlist.org/>. Acesso em 19 Janeiro 2016.
- Reynolds ES (1963) The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *The Journal of Cell Biology* 17: 208-212.
- Ribeiro JELS, Hopkins MJG, Vicentini A, Sothers CA, Costa MAS, Brito JM, Souza MAD, Martins LHP, Lohmann LG, Assunção PACL, Pereira EC, Silva CF, Mesquita MR, Procópio LC (1999) Flora da Reserva Ducke – Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. INPA, Manaus.
- Richards JH, Bruhl JJ, Wilson KL (2006) Flower or spikelet? Understanding the morphology and development of reproductive structures in *Exocarya* (Cyperaceae, Mapanioideae, Chrysitricheae). *American Journal of Botany* 93(9): 1241-1250.
- San Martin JAB, Andrade CGTJ, Mastroberti AA, Mariarth JEA, Vanzela ALL (2013) Asymmetric cytokinesis guide the development of pseudomonads in *Rhynchospora pubera* (Cyperaceae). *Cell Biology International* 37: 203-212.
- Simpson DA (1989) Some interesting geographical disjunctions in *Mapania* sect. *Mapania* (Cyperaceae). *Kew Bulletin* 44(1): 139-142.
- Simpson DA (1992) A revision of the genus *Mapania*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Simpson DA (1995) Relationships within Juncales. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ (eds) *Monocotyledons: systematics and evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 497-509.
- Simpson DA (1996) New taxa and combinations in *Mapania* (Cyperaceae) from South America. *Kew Bulletin* 51(4): 730-740.
- Simpson DA, Furness CA, Hodkinson TR, Muasya AM, Chase MW (2003) Phylogenetic relationships in Cyperaceae subfamily Mapanioideae inferred from pollen and plastid DNA sequence data. *American Journal of Botany* 90: 1071-1086.
- Simpson DA, Muasya AM, Alves MV, Bruhl JJ, Dhooge S, Chase MW, Furness CA, Ghamkhar K, Goetghebeur P, Hodkinson TR, Marchant AD, Reznicek AA, Nieuwborg R,

- Roalson EH, Smets E, Starr JR, Thomas WW, Wilson KL, Zhang X (2007) Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data – a new rbcL analysis. *Aliso* 23: 72-83.
- Smith SY, Collinson ME, Simpson DA, Rudall PJ, Marone F, Stampanoni M (2009) Elucidating the affinities and habitat of ancient widespread Cyperaceae: *Volkeria messelensis* gen. et sp. nov., a fossil mapanioid sedge from the Eocene of Europe. *American Journal of Botany* 98(8): 1506-1518.
- Stevens PF (2016) Angiosperms Phylogeny Website. Version 12, July 2012. Disponível em <http://www.mobot.org/MOBOT/research/apweb/>. Acesso em 19 Janeiro 2016.
- Stevenson DW, Loconte H (1995) Cladistic analysis of monocot families. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ (eds) *Monocotyledons: systematics and evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 543-578.
- Stout AB (1912) The individuality of the chromosomes and their serial arrangement in *Carex aqualitis*. *Archiv für Experimentelle Zellforschung* 9: 114-138.
- Strandhede S-O (1965) Chromosome studies in *Eleocharis*, subser. *palustres*. II. Pollen mitosis with special reference to some strains with 15 chromosomes, and formation of secondarily unreduced pollen grains. *Here* 53(26): 374-388.
- Tanaka N (1940) Chromosome Studies in Cyperaceae, VI. Pollen development and additional evidence for the compound chromosome in *Scirpus lacustris* L. *Cytologia* 10: 348-362.
- Tanaka N (1941) Chromosome Studies in Cyperaceae, XII. Pollen development in five genera, with special reference to *Rhynchospora*. *The Botanical Magazine (Tokyo)* 55(650): 55-65.
- van Wichelen J, Camelbeke K, Chaerle P, Goetghebeur P, Huysmans S (1999) Comparison of different treatments for LM and SEM studies and systematic value of pollen grains in Cyperaceae. *Grana* 38: 50-58.
- Vrijdaghs A, Goetghebeur P, Smets E, Muasya M (2006) The floral scales in *Hellmuthia* (Cyperaceae, Cyperoideae) and *Paramapania* (Cyperaceae, Mapanioideae): An ontogenetic study. *Annals of Botany* 98: 619-630.
- Watson ML (1958) Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *The Journal Biophysical and Biochemical Cytology* 4: 475-478.
- Wronska-Pilarek D, Janyszek M, Jagodzinski AM (2010) Pollen morphology of selected Central European species from subgenera *Vignea* and *Carex* (*Carex*, Cyperaceae) and its relation to taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society* 164: 422-439.
- Zavada MS (1983) Comparative morphology of monocot pollen and evolutionary trends of aperture and wall structures. *The Botanical Review* 49(4): 352-353.