

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 07/05/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Filipe Alisson Ribeiro

**Sistema reprodutivo de *Couroupita guianensis* Aubl.
(Lecythidaceae): estudo sobre a causa da autoesterilidade**

São José do Rio Preto
2024

Filipe Alisson Ribeiro

**Sistema reprodutivo de *Couroupita guianensis* Aubl.
(Lecythidaceae): estudo sobre a causa da autoesterilidade**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Nelson Sabino Bittencourt

São José do Rio Preto
2024

R484s Ribeiro, Filipe Alisson
Sistema reprodutivo de *Couroupita guianensis* Aubl.
(Lecythidaceae): estudo sobre a causa da autoesterilidade /
Filipe Alisson Ribeiro. -- São José do Rio Preto, 2024
65 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas,
São José do Rio Preto
Orientador: Nelson Sabino Bittencourt Jr.

1. Sistema reprodutivo. 2. Autoincompatibilidade de ação
tardia. 3. Autoesterilidade. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências
Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Filipe Alisson Ribeiro

**Sistema reprodutivo de *Couroupita guianensis* Aubl.
(Lecythidaceae): estudo sobre a causa da autoesterilidade**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Nelson Sabino Bittencourt Jr.
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Prof^a. Dra. Diana Salles Sampaio
UFU – Universidade Federal de Uberlândia

Prof^a. Dra. Edivani Villaron Franceschinelli
UFG – Universidade Federal de Goiás

São José do Rio Preto
05 de abril de 2024

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

A espécie arbórea *Couroupita guianensis* Aubl. (Lecythidaceae) é nativa da região amazônica no Brasil, embora não endêmica. A árvore é conhecida pela beleza e agradável odor de suas flores reunidas em inflorescências caulifloras e por apresentar frutos lenhosos, grandes e esféricos, o que torna comum sua presença em diversas cidades brasileiras. O sistema reprodutivo de *C. guianensis* foi alvo de discussões, uma vez que foi identificado como autocompatível, contrariando o esperado para a família Lecythidaceae. Posteriormente, em um estudo de polinizações controladas, a autocompatibilidade foi questionada, embora as causas de sua autoesterilidade permanecessem desconhecidas. Este trabalho teve como objetivo investigar os eventos posteriores à polinização no gineceu, para elucidar as possíveis causas da autoesterilidade observada. Para isto, polinizações controladas e análise histológica dos pistilos/frutos foram realizadas em espécimes cultivados. Os pistilos autopolinizados apresentaram longevidade estendida em relação aos pistilos não polinizados. Nesses dois tratamentos, o aborto dos pistilos/frutos ocorreu de forma precoce e nenhum fruto derivado de autopolinização atingiu a maturidade. No momento do aborto, os pistilos autopolinizados apresentaram comprimento e largura significativamente maiores que os não polinizados. Os pistilos autopolinizados apresentaram muitos primórdios seminais penetrados por tubos polínicos e houve dupla fecundação, mas o zigoto não sofreu divisões (não houve desenvolvimento embrionário), embora os estádios iniciais de um desenvolvimento aparentemente normal do endosperma nuclear tenham sido verificados até o momento da abscisão do fruto. Nos quatro primeiros dias após a polinização, não houve diferença significativa na quantidade de sementes que apresentavam endosperma em desenvolvimento entre frutos iniciados por autopolinização vs. polinização cruzada. Os dados indicam a autoincompatibilidade de ação tardia como causa da autoesterilidade em *C. guianensis*.

Palavras-chave: Autoesterilidade. Autoincompatibilidade de ação tardia. Sistema reprodutivo.

ABSTRACT

Couroupita guianensis Aubl. (Lecythidaceae) is native to the Amazon region in Brazil, although not endemic. This tree is known for the beauty and pleasant scent of their flowers, as well as their peculiar spheric, big woody fruits, which makes the species presence relatively common in several Brazilian cities. The reproductive system of *C. guianensis* was the subject of discussions, since it was formerly treated as self-compatible, contrary to what was expected for the Lecythidaceae family. However, in a study on controlled pollinations, self-compatibility in this species was questioned, although the causes of its self-sterility remained unknown. This work aimed to investigate post-pollination events in the gynoecium/initiating fruit, to elucidate the possible causes of the observed self-sterility. For this, controlled pollinations and histological analysis of pistils/fruits were carried out on cultivated specimens. Self-pollinated pistils showed extended longevity compared to non-pollinated pistils. In these two treatments, the abortion of the pistils/fruits occurred early and no self-pollinated fruit reached maturity. At the time of abortion, self-pollinated pistils were significantly greater in length and width than non-pollinated ones. In self-pollinated pistils many ovules were penetrated by pollen tubes and double fertilization occurred. However, the zygote did not undergo divisions (there was no embryo formation), although the nuclear endosperm seemed to grow normally until the moment of fruit abscission. In the first four days after pollination, there was no difference in the number of seeds showing a developing endosperm in selfed vs. crossed pistils/initiating fruits. The data indicate late-acting self-incompatibility as the cause of the self-sterility in *C. guianensis*.

Key words: Self-sterility. Late-acting self-incompatibility. Breeding system.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Localização dos espécimes de <i>C. guianensis</i> no Campus IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto/SP	19
Figura 2 - Polinizações controladas	21
Figura 3 - Medidas de comprimento e largura dos pistilos e frutos coletados	23
Figura 4 - Crescimento em largura e comprimento dos pistilos não polinizados até o 21º dia após a antese	25
Figura 5 - Longevidade dos pistilos não polinizados	25
Figura 6 - Crescimento em largura e comprimento dos pistilos autopolinizados coletados até o 32º dia após a antese	26
Figura 7 - Longevidade dos pistilos autopolinizados	27
Figura 8 - Crescimento em largura e comprimento dos pistilos cruzados coletados até o 47º dia após a antese	28
Figura 9 - Longevidade dos pistilos cruzados	28
Figura 10 - Longevidade (primeiro dia de antese até abscisão) dos pistilos não polinizados, autopolinizados e cruzados	29
Figura 11 - Comprimento e largura dos pistilos/frutos ao abortarem	30
Figura 12 - Primórdio seminal de <i>C. guianensis</i> .	32
Figura 13 – Detalhe do primórdio seminal de <i>C. guianensis</i> .	33
Figura 14 - Saco embrionário de <i>C. guianensis</i> , em estágio de antese	34
Figura 15 - Saco embrionário de <i>C. guianensis</i> , em estágio de pré-antese	35
Figura 16 - Primórdios seminais de pistilos não polinizados em estádios posteriores à antese	37
Figura 17 - Aparelho oosférico em primórdio seminal, sete dias após a antese.	38
Figura 18 - Secção transversal na porção média do ovário de <i>C. guianensis</i> , em pistilos polinizados	39
Figura 19 - Secções longitudinais da região micropilar de primórdios seminais no primeiro e segundo dia após a polinização.	41
Figura 20 - Secções longitudinais da região micropilar de primórdios seminais no segundo dia após a polinização	42
Figura 21 - Secções oblíquas (400x) de primórdios seminais/sementes de <i>C. guianensis</i> , no segundo dia após a polinização	43

Figura 22 - Sementes de <i>C. guianensis</i> em estágio inicial de desenvolvimento (4 dias após a autopolinização)	44
Figura 23 - Zigoto em pistilos cruzados e autopolinizados	46
Figura 24 - Desenvolvimento do endosperma em sementes derivadas de polinização cruzada e autopolinização	47
Figura 25 - Endosperma celularizado em uma semente com 56 dias após a polinização cruzada	48
Figura 26 - Expansão e degeneração do tegumento interno e das camadas mais internas do tegumento externo em sementes derivadas de polinização cruzada	48
Figura 27 - Degeneração do endotélio em primórdios seminais sete dias após a polinização	49
Figura 28 - Endosperma de semente em degeneração, 20 dias após a autopolinização	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Desenvolvimento do endosperma em sementes derivadas de autopolinização e polinização cruzada	40
Tabela 2 - Quantidade de primórdios seminais e sementes degeneradas para cada tratamento realizado	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVO	17
2.1 Objetivos específicos	17
3 MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 Descrição da espécie	18
3.2 Procedimentos em campo	19
3.3 Procedimentos em laboratório	22
3.4 Análises estatísticas	23
4 RESULTADOS	24
4.1 Longevidade e comparação do tamanho dos pistilos/frutos abortados	24
4.2 Caracterização do primórdio seminal	30
4.3 Pistilos não polinizados	35
4.4 Pistilos polinizados	38
5 DISCUSSÃO	51
5.1 Longevidade e crescimento dos pistilos e frutos	51
5.2 Eventos posteriores à antese e à polinização manual	53
5.3 Causa da autoesterilidade: autoincompatibilidade ou depressão endogâmica?	55
6 CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

A família Lecythidaceae, ordem Ericales, possui distribuição Pantropical (MORI et.al., 2017; SOUZA; LORENZI, 2019) e integra 3 subfamílias (HUANG; MORI; KELLY, 2015; MORI et.al., 2017): Barringtonioideae, encontrada na Ásia tropical, Malásia, norte da Austrália, Ilhas do Pacífico e Madagascar; Foetidioideae encontrada em Madagascar, Ilhas Maurício e leste da África; e Lecythidoideae que está restrita a região neotropical (MORI, 2004).

As flores da família recebem destaque devido, principalmente, ao androceu, local onde as adaptações para polinização sofreram maior seleção (MORI, 2004). Suas flores podem apresentar simetria actinomorfa ou zigomorfa, as primeiras ocorrendo nas subfamílias Foetidioideae, Barringtonioideae e representantes basais de Lecythidoideae (*Grias* L. e *Gustavia* L.) (PRANCE; MORI, 2004). *Gustavia superba* (Kunth) O. Berg (Lecythidoideae) é um exemplo característico de simetria actinomorfa, oferecendo como recompensa para os polinizadores pólen fértil, como tipicamente ocorre em flores com tal simetria. Diferentemente, as flores com simetria zigomorfa, presentes em todos os demais gêneros que constituem a subfamília Lecythidoideae (*Allantoma* Miers, *Bertholletia* Bonpl., *Cariniana* Casar., *Corythophora* R.Knuth, *Couratari* Aubl., *Couroupita* Aubl., *Eschweilera* Mart. ex DC. e *Lecythis* Loefl.), são consideradas como mais derivadas e costumam oferecer pólen estéril e néctar como recompensa para os visitantes florais. Os principais polinizadores em Lecythidaceae são diferentes gêneros de abelhas, com exceção de algumas espécies que são polinizadas por morcegos (MORI, 2004).

A família Lecythidaceae é reconhecida principalmente graças à castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa* Bonpl.), sendo apelidada de “*the Brazil nut family*”. A importância de *B. excelsa* advém do tecido de reserva das sementes, bastante apreciado na culinária (SOUZA; LORENZI, 2019; MORI, 2004). No Brasil ocorrem cerca de 10 gêneros e 120 espécies de Lecythidaceae, encontrados principalmente na Floresta Amazônica, todos pertencentes à subfamília Lecythidoideae (MORI, 2004; SOUZA; LORENZI, 2019; VARGAS; DICK, 2020).

Couropita guianensis Aublet é encontrada em toda região amazônica, não sendo endêmica do Brasil, e costuma estar associada às margens inundáveis de rios. Suas flores são caulifloras, dispostas em racemos, de cor rosa avermelhada e muito cheirosas (LORENZI, 1992), graças aos osmóforos localizados na corola e nos estaminódios. Estes últimos são muito numerosos, dispostos num aparato funcional constituído de estames e estaminódios conatos (androceu). Os estaminódios estão dispostos na parte superior do androceu e produzem pólen estéril, oferecido como recompensa para os visitantes florais. Devido a sua posição, a estrutura na qual os múltiplos estaminódios estão dispostos é tipicamente referida como capuz, uma vez que cobre o estigma e a parte inferior do androceu. Nessa última, se encontram múltiplos estames férteis, em uma estrutura que possui formato de anel, envolvendo a porção apical do gineceu e conectada de um dos lados ao capuz. Somente os estames do anel, como é tipicamente referida a parte inferior do androceu, produzem pólen viável (ORMOND et.al, 1981; YARSICK, 1986).

Em estudo baseado em experimentos de polinizações controladas, Ormond et al. (1981) reconheceram *C. guianensis* como uma espécie alógama, porém autocompatível. Isto porque, os autores observaram no local de estudo um único espécime florido e que posteriormente formou frutos. Ademais, observaram o crescimento “normal” dos pistilos autopolinizados em frutos, sendo que de 100 flores autopolinizadas, 2 frutos foram formados a partir do pólen próprio. Todavia, vale mencionar que não há menção no trabalho quanto ao monitoramento do desenvolvimento dos frutos até sua maturidade. Prance (1976), em um dos primeiros estudos sobre a biologia da polinização em Lecythidaceae, mencionou que *C. guianensis* e demais integrantes da família costumam ser autoincompatíveis e dependem de polinização cruzada para produzir frutos. No mesmo ano, Mori e Kallunki's (1976), relataram a autoincompatibilidade em *Gustavia superba*. Em função dos relatos de Prance sobre suposta autoesterilidade em *C. guianensis*, inferida com base em observações da ausência de frutificação em árvores cultivadas em condições de isolamento, Mori e Kallunki's (1976) sugeriram que devido ao fato de gêneros distantes filogeneticamente (*Gustavia* e *Couropita*) serem semelhantes quanto à impossibilidade de formar frutos por autopolinização, essa deveria ser a condição geral na família Lecythidaceae.

Entende-se autoincompatibilidade como a condição em que plantas (indivíduos) de uma dada espécie ou população são incapazes de se autofecundarem (i.e., terem seus primórdios seminais fertilizados por tubos polínicos oriundos de seu próprio pólen), situação em que se torna pouco provável ou impossível a formação de sementes por autopolinização (SEAVEY; BAWA, 1986; SAGE; BERTIN; WILLIAMS, 1994). Ao nível genético, pelo menos três tipos básicos de autoincompatibilidade são tradicionalmente bem conhecidos em espécies com flores completas (angiospermas homóicas), embora menos compreendidos quanto aos mecanismos moleculares que os governam. São eles: o Sistema Homomórfico Gametofítico, o Sistema Homomórfico Esporofítico e o Sistema Heteromórfico (GIBBS, 2014).

Segundo Gibbs (2014) o sistema homomórfico gametofítico foi relatado em 18 famílias. Tipicamente a reação de incompatibilidade é mediada por um único locus multialélico, denominado locus *S*. Em tal sistema, após o grão de pólen germinar e penetrar o estigma, o tubo polínico só irá alcançar o primórdio seminal caso o alelo *s* portado pelo gametófito masculino não esteja presente no genoma diploide do pistilo. Assim, se um grão de pólen *s1* é depositado no estigma de uma planta *s1s2*, a reação de incompatibilidade é desencadeada. E o mesmo acontece com o pólen *s2*. Contudo, um grão de pólen *s3*, é compatível com o pistilo de uma planta *s1s2* e o desenvolvimento do tubo polínico no tecido transmissor, a penetração e a fecundação do primórdio seminal ocorrem normalmente. Em outras palavras, na autoincompatibilidade gametofítica, a reação depende do genótipo haploide do gametófito masculino e a resposta de incompatibilidade (i.e., o bloqueio do desenvolvimento dos tubos polínicos incompatíveis) usualmente se expressa ao longo do estilete (SEAVEY; BAWA, 1986).

O sistema homomórfico esporofítico usualmente também é controlado por um único locus *S*, constituído por diversas formas alélicas. Entretanto, a reação de incompatibilidade neste sistema é desencadeada em virtude da ação de ambos os alelos *s* presentes no genótipo diploide do esporófito paterno, i.e., do indivíduo que originou os grãos de pólen. Se o esporófito paterno, por exemplo, for composto pelos alelos *s4s5*, todos os grãos de pólen produzidos (50% *s4* e 50% *s5*) serão incompatíveis com um pistilo portador de um ou ambos esses alelos. Dessa forma,

um grão de pólen que contém o alelo *s4* ou o *s5* em seu genótipo haploide, derivado de um esporófito cujo genótipo é *s4s5*, só é compatível com um indivíduo (esporófito) que não seja portador nem do alelo *s4*, nem do alelo *s5*. Vale frisar que pistilos com genótipo *s3s5*, *s1s5*, *s4s3*, *s2s4* serão todos incompatíveis com o pólen oriundo de um indivíduo *s4s5*, justamente por apresentarem identidade alélica com o esporófito doador de pólen. Daí o porquê deste sistema ser esporofítico, pois o genótipo do indivíduo formador do pólen é decisivo para a determinação da reação de incompatibilidade (GIBBS, 2014). Em plantas que apresentam tal sistema, a resposta de incompatibilidade normalmente é estigmática, pois os grãos de pólen incompatíveis são impedidos de germinar; ou estes germinam, mas têm o seu desenvolvimento bloqueado ainda no estigma (SEAVEY; BAWA, 1986).

No sistema heteromórfico, a reação de autoincompatibilidade também é esporofítica, isto porque seu desencadeamento é determinado pela constituição alélica do esporófito doador de pólen. Caracteristicamente, plantas com tal sistema de incompatibilidade apresentam formas florais distintas (heterostilia). A distília (quando na mesma população alguns indivíduos possuem flores com estilete longo, enquanto outros portam flores com estilete curto, com reciprocidade contrária em relação à altura dos estames) é a forma mais comum, seguida da tristília (indivíduos cujas flores apresentam três tamanhos distintos de estilete). Um caso clássico é o que acontece com o gênero *Primula*. Neste as espécies distílicas apresentam indivíduos com forma floral de estilete curto (brevistila), que são heterozigotos para o locus *S* (genótipo *Ss*), e outros indivíduos cujas flores possuem estilete longo (longistila) e são homozigotos recessivos *ss*. Os cruzamentos compatíveis são somente aqueles entre indivíduos com flores brevistilas (*Ss*) x longistilas (*ss*). Isto porque, o alelo *S* apresenta uma relação de dominância sobre o alelo *s*, determinando dessa forma que qualquer grão de pólen formado por um esporófito paterno *Ss*, seja compatível com um pistilo *ss*, a despeito do alelo *s* no genoma nuclear de metade dos grãos de pólen originados pelo primeiro. Se *S* fosse codominante com *s*, nenhum grão de pólen de um indivíduo com estilete longo (*ss*) seria compatível com um indivíduo de estilete curto (*Ss*), pois ambos apresentam o alelo *s* (GIBBS, 2014). Em plantas com o sistema heteromórfico, o local no pistilo onde se expressa a reação de incompatibilidade pode variar de espécie para

espécie, sendo que em alguns casos o pólen é incapaz de se reidratar e germinar na superfície estigmática, ao passo que em outros o pólen germina, penetra o estigma e a reação de incompatibilidade só ocorre na parte superior do estilete. Há casos ainda em que os tubos polínicos incompatíveis podem crescer prolificamente até a base do estilete, eventualmente alcançando o ovário e penetrando alguns primórdios seminais (GIBBS 1990).

Para além dos sistemas de incompatibilidade acima mencionados, Seavey e Bawa (1986) forneceram a primeira revisão de trabalhos que reportaram casos de autoincompatibilidade nos quais, em pistilos autopolinizados, os tubos polínicos crescem normalmente até atingir o ovário, contudo frutos não são gerados. Diante desse cenário os autores sugeriram uma nova categoria para esses achados: a Autoincompatibilidade de Ação Tardia. Baseado em Seavey & Bawa (1986) e Gibbs (2014), a autoincompatibilidade de ação tardia em geral é caracterizada por uma das seguintes três situações: (1) os primórdios seminais não chegam a ser penetrados pelos tubos polínicos, apesar destes apresentarem crescimento consistente pelo tecido transmissor até alcançar o ovário; (2) os tubos polínicos penetram os primórdios seminais, mas são retidos na micrópila ou então falham no ato de fecundação; (3) tanto a penetração dos primórdios seminais como sua fecundação ocorrem, porém os pistilos não se desenvolvem em frutos ou estes abortam nos estádios iniciais de seu desenvolvimento, caracterizando um presumível mecanismo de ação pós-zigótica na rejeição dos pistilos autopolinizados. Evidências da autoincompatibilidade de ação tardia foram encontradas em pelo menos 27 famílias e 16 ordens de angiospermas (GIBBS, 2014).

Contudo, conforme apontado por Sage et al. (1994) e Bianchi et al. (2021), alguns autores rechaçam a autoincompatibilidade de ação tardia, alegando que a não frutificação em caso de autopolinização é reflexo da expressão de alelos recessivos deletérios, uma vez que nesses casos também se espera o desenvolvimento normal dos tubos polínicos e a efetiva ocorrência da dupla fecundação. Ou seja, uma depressão endogâmica de ação precoce estaria mimetizando os efeitos de um sistema genético de autoincompatibilidade, causando o aborto dos pistilos autopolinizados ou dos frutos decorrentes de autopolinização.

Em relação a *C. guianensis*, conforme mencionado anteriormente, a autoincompatibilidade da espécie é controversa. As pesquisas realizadas até então sugerem que *C. guianensis*, assim como outros representantes da família Lecythidaceae já estudados, são plantas alógamas e autoincompatíveis (MORI; KALLUNKI'S, 1976; MORI, 2004; PRANCE, 1976). Porém, como explicar os resultados de Ormond e colaboradores (1981), que sugerem a autocompatibilidade da espécie? Em estudo sobre o sistema reprodutivo de *C. guianensis* previamente realizado, baseado em experimentos de polinizações controladas e análises da germinação do pólen e do desenvolvimento *in situ* dos tubos polínicos, o presente grupo de pesquisa chegou às seguintes conclusões: apesar de alguns pistilos autopolinizados iniciarem a formação de frutos, estes abortam em um período relativamente curto após a polinização, nunca atingindo a maturidade (Motta & Bittencourt 2016); aparentemente não há discrepâncias quanto à eficácia de germinação dos grãos de pólen no estigma, ao crescimento dos tubos polínicos ao longo do tecido transmissor e à penetração dos primórdios seminais entre flores submetidas à autopolinização e à polinização cruzada (MOTTA; BITTENCOURT 2017).

O mecanismo clássico do sistema homomórfico esporofítico não é satisfatório para justificar os resultados obtidos até então em *C. guianensis*, pois em espécies com esse tipo de autoincompatibilidade não se esperaria a germinação dos grãos de pólen no estigma e/ou o desenvolvimento subsequente dos tubos polínicos nos pistilos autopolinizados. Da mesma forma, o tradicional mecanismo gametofítico também não é coerente com o fato de que, aparentemente, não há diferenças significativas quanto à eficácia do desenvolvimento dos tubos polínicos e da penetração dos primórdios seminais entre pistilos autopolinizados vs. submetidos à polinização cruzada. Portanto, diante dessa incongruência e dos estudos previamente realizados, o presente grupo de pesquisa sugeriu a autoincompatibilidade de ação tardia como hipótese para a autoesterilidade verificada em *C. guianensis* (MOTTA; BITTENCOURT 2016, 2017).

Porém, até o momento nada se sabe sobre os eventos que sucedem a penetração dos primórdios seminais em pistilos autopolinizados de *C. guianensis*, ou quanto aos eventos que precedem a rejeição dos frutos iniciados. São os primórdios

seminais (de pistilos autopolinizados em *C. guianensis*) efetivamente fecundados? Os desenvolvimentos endospermico e embrionário são iniciados nas sementes? Até que estágio progride o desenvolvimento dos embriões em sementes de frutos iniciados por autopolinização? O número de embriões iniciados em sementes de frutos decorrentes de autopolinização é equivalente ao número de embriões formados em frutos resultantes de polinização cruzada no mesmo período (i.e., até o aborto dos frutos decorrentes de autopolinização)? Análises histológicas sobre os eventos que se sucedem no gineceu após polinizações controladas têm contribuído para um melhor entendimento do sistema reprodutivo em táxons pertencentes a diversas famílias (SEAVEY; BAWA, 1986; SAGE *et.al.*, 1994; GIBBS, 2014), pois respostas para tais questões podem fornecer importantes indicações quanto à causa fundamental subjacente à autoesterilidade.

Sendo assim, buscando ampliar o entendimento do sistema reprodutivo desta espécie para além dos resultados já obtidos com experimentos de polinizações controladas e análises do desenvolvimento *in situ* dos tubos polínicos em pistilos autopolinizados vs. submetidos à polinização cruzada (MOTTA; BITTENCOURT 2016, 2017), realizamos no presente trabalho um estudo histológico dos eventos que sucedem o início da antese no gineceu, buscando comparar as alterações estruturais que se processam nos primórdios seminiais entre pistilos não polinizados, autopolinizados e submetidos à polinização cruzada, bem como verificar se ocorre fecundação e o posterior desenvolvimento do endosperma e do embrião em primórdios seminiais de pistilos autopolinizados, comparativamente aos eventos que se sucedem nos pistilos cruzados.

6 CONCLUSÃO

Uma forte autoesteridade foi observada em *C. guianensis*, uma vez todos os frutos derivados de autopolinização abortam precocemente (cerca de 1 mês). Foi verificada a ocorrência da dupla fecundação em pistilos autopolinizados (tubo polínicos no interior da micrópila, penetração de uma das sinérgides, evidências indiretas da transferência dos gametas masculinos para a oosfera e para a célula central, formação do zigoto e desenvolvimento inicial do endosperma). No momento de abscisão dos frutos derivados de autopolinização, o zigoto se encontra dormente, restringindo a possibilidade de expressão de alelos recessivos deletérios. Já o endosperma nesses frutos sofre divisões nucleares, sem sinais de malformação, ao passo que, em pistilos não polinizados, não há sinais de endospermogênese, assim como da formação do zigoto. Os dados indicam a autoincompatibilidade de ação tardia como a causa da autoesterilidade em *C. guianensis*, uma vez que em caso de depressão endogâmica de ação precoce se esperaria o aborto do fruto ao longo de todas as etapas do desenvolvimento (ou seja, ao longo de 12 meses), com algumas sementes derivadas de autofecundação eventualmente alcançando a maturidade.

REFERÊNCIAS

BIANCHI, Marta B; MEAGHER, Thomas R; GIBBS, Peter e. Do s genes or deleterious recessives control late-acting self-incompatibility in *Handroanthus heptaphyllus* (Bignoniaceae)? A diallel study with four full-sib progeny arrays. **Annals Of Botany**, [S.L.], v. 127, n. 6, p. 723-736, 23 fev. 2021. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcab031>.

BITTENCOURT jr., Nelson Sabino. Evidence for post-zygotic self-incompatibility in *Handroanthus impetiginosus* (Bignoniaceae). **Plant Reproduction**, [S.L.], v. 30, n. 2, p. 69-79, 16 mar. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00497-017-0300-7>.

BITTENCOURT Jr., Nelson Sabino; SEMIR, João. Late-Acting Self-Incompatibility and Other Breeding Systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). **International Journal Of Plant Sciences**, [S.L.], v. 166, n. 3, p. 493-506, maio 2005. University of Chicago Press. <http://dx.doi.org/10.1086/428758>.

BITTENCOURT jr., Nelson Sabino; SEMIR, João. Floral biology and late-acting self-incompatibility in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). **Australian Journal Of Botany**, [S.L.], v. 54, n. 3, p. 315, 2006. CSIRO Publishing. <http://dx.doi.org/10.1071/bt04221>.

BITTENCOURT jr., Nelson Sabino; SEMIR, João. Pollination biology and breeding system of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae). **Plant Systematics And Evolution**, [S.L.], v. 247, n. 3-4, p. 241-254, 27 maio 2004. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00606-004-0142-2>.

BITTENCOURT jr., Nelson Sabino; GIBBS, Peter E.; SEMIR, João. Histological Study of Post-pollination Events in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae), a Species with Late-acting Self-incompatibility. **Annals Of Botany**, [S.L.], v. 91, n. 7, p. 827-834, 28 mar. 2003. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcg088>.

BITTENCOURT jr., Nelson Sabino; MORAES, Camila Ismael Giorgi. Self-fertility and polyembryony in South American yellow trumpet trees (*Handroanthus chrysotrichus* and *H. ochraceus*, Bignoniaceae): a histological study of postpollination events. **Plant Systematics And Evolution**, [S.L.], v. 288, n. 1-2, p. 59-76, 4 jul. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00606-010-0313-2>.

BITTENCOURT jr., Nelson Sabino; PEREIRA, Eduardo João; SÃO-THIAGO, Paula de Souza; SEMIR, João. The reproductive biology of *Cybistax antisyphilitica* (Bignoniaceae), a characteristic tree of the South American savannah-like “Cerrado” vegetation. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology Of Plants**, [S.L.], v. 206, n. 10, p. 872-886, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.flora.2011.05.004>.

BITTENCOURT jr., Nelson Sabino; PEREIRA, Eduardo João; SÃO-THIAGO, Paula de Souza; SEMIR, João. The reproductive biology of *Cybistax antisyphilitica* (Bignoniaceae), a characteristic tree of the South American savannah-like “Cerrado” vegetation. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology Of Plants**,

[S.L.], v. 206, n. 10, p. 872-886, out. 2011. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.flora.2011.05.004>.

GANDOLPHI, Gabriel; BITTENCOURT, Nelson Sabino. Sistema reprodutivo do Ipê-Branco – *Tabebuia roseo-alba* (Ridley) Sandwith (Bignoniaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 840-851, 2010.

GIBBS, Peter E. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. **Revista Brasileira de Botânica**. São Paulo, p. 125-136. 1990.

GIBBS, Peter E.; BIANCHI, Marta. Post-pollination Events in Species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with Late-acting Self-incompatibility. **Botanica Acta**, [S.L.], v. 106, n. 1, p. 64-71, fev. 1993. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1438-8677.1993.tb00339.x>.

GIBBS, P; BIANCHI, Marta B. Does Late-acting Self-incompatibility (LSI) Show Family Clustering? Two More Species of Bignoniaceae with LSI: *dolichandra cynanchoides* and *tabebuia nodosa*. **Annals Of Botany**, [S.L.], v. 84, n. 4, p. 449-457, out. 1999. Oxford University Press (OUP).
<http://dx.doi.org/10.1006/anbo.1999.0933>.

GIBBS, Peter E.; BIANCHI, M. B.; TARODA RANGA, N.. Effects of Self-, Chase and Mixed Self/Cross-pollinations on Pistil Longevity and Fruit Set in *Ceiba* Species (Bombacaceae) with Late-acting Self-incompatibility. **Annals Of Botany**, [S.L.], v. 94, n. 2, p. 305-310, 1 ago. 2004. Oxford University Press (OUP).
<http://dx.doi.org/10.1093/aob/mch141>.

GIBBS, Peter E. Late-acting self-incompatibility – the pariah breeding system in flowering plants. **New Phytologist**, [S.L.], v. 203, n. 3, p. 717-734, 6 jun. 2014. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.1111/nph.12874>.

GIBBS, Peter E.; SASSAKI, Regina. Reproductive Biology of *Dalbergia miscolobium* Benth. (Leguminosae-Papilionoideae) in SE Brazil: the effects of pistillate sorting on fruit-set. **Annals Of Botany**, [S.L.], v. 81, n. 6, p. 735-740, jun. 1998. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1006/anbo.1998.0623>.

HAO, Yi-Qi *et al.* The Role of Late-Acting Self-Incompatibility and Early-Acting Inbreeding Depression in Governing Female Fertility in Monkshood, *Aconitum kusnezoffii*. **Plos One**, [S.L.], v. 7, n. 10, e47034, 9 out. 2012. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0047034>.

HUANG, Ya-Yi; MORI, Scott A.; KELLY, Lawrence M.. Toward a phylogenetic-based Generic Classification of Neotropical Lecythidaceae—I. Status of *Bertholletia*, *Corythophora*, *Eschweilera* and *Lecythis*. **Phytotaxa**, [S.L.], v. 203, n. 2, p. 85, 23 mar. 2015. Magnolia Press. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.203.2.1>.

MCDOWELL, Emily M; TRUMP, Benjamin F. Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. **Archives Of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 100, n. 8, p. 405-414, 1976.

MONTEIRO-SCANAVACCA, Walkyria Rossi. Estudo de Placentação em Lecythidaceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, [s. l.], v. 3, p. 75-85, 1975.

MORI, Scott Alan., E.A. KIERNAN, N.P. SMITH, L.M. KELLEY, Y-Y. HUANG, G.T. PRANCE & B. THIERS. Observations on the phytogeography of the Lecythidaceae clade (Brazil nut family). **Phytoneuron**, [S. l.], v. 2017, n. 30, p. 1-85, 2017.

MORI, Scott Alan. Lecythidaceae. In: BURLEY, Jeffery (ed.). **Encyclopedia of Forest Sciences**. [S. l.]: Elsevier, 2004. p. 1745-1752.

MORI, Scott Allan; PRANCE, Ghilleen T.; ZEEUW, Carl H. de. Lecythidaceae, Part 2. The Zygomorphic-Flowered New World Genera (*Couroupita*, *Corythophora*, *Bertholletia*, *Couratari*, *Eschweilera*, & *Lecythis*), With a Study of Secondary Xylem of Neotropical Lecythidaceae. **Flora Neotropica**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 1-373, 10 abr. 1990.

MORI, Scott Alan.; KALLUNKI, Jacquelyn A. Phenology and Floral Biology of *Gustavia superba* (Lecythidaceae) in Central Panama. **Biotropica**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 184, set. 1976. JSTOR. <http://dx.doi.org/10.2307/2989684>.

MORI, Scott A.; TSOU, Chi-Hua; WU, Chi-Chih; CRONHOLM, Bodil; ANDERBERG, Arne A.. Evolution of Lecythidaceae with an Emphasis on the Circumscription of Neotropical Genera: Information from Combined ndhF and trnL-F Sequence Data. **American Journal Of Botany**, [s. l.], v. 94, n. 3, p. 289-301, mar. 2007.

MOTTA, Ana Carolina Isepan; BITTENCOURT, Nelson Sabino. Análise do desenvolvimento in situ de tubos polínicos em indivíduos autoestéreis de *Couroupita guianensis* Aubl. (Lecythidoideae, Lecythidaceae). In: 68º CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA XXXVI JORNADA FLUMINENSE DE BOTÂNICA, 68., 2017, Rio de Janeiro. **Livro de resumos e programação**. Rio de Janeiro: Sociedade Botânica do Brasil, 2018. p. 80. Disponível em: <https://www.botanica.org.br/wp-content/uploads/Anais68CNBot.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2024.

MOTTA, Ana Carolina Isepan; BITTENCOURT, Nelson Sabino. *Couroupita guianensis* Aublet. (Lecythidoideae, Lecythidaceae): uma espécie autocompatível? In: XXVIII CIC - CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 28., 2016, São José do Rio Preto. **Anais do Congresso de Iniciação Científica da UNESP**. 2016. Disponível em: https://prope.unesp.br/cic_isbn/index.php?slcg=38&mn=1. Acesso em: 20 abr. 2024.

ORMOND, Wilma T.; PINHEIRO, Maria Celia B.; CASTELLS, Alicia R. Cortella de. A Contribution to the Floral Biology and Reproductive System of *Couroupita guianensis* Aubl. (Lecythidaceae). **Annals Of the Missouri Botanical Garden**, [S.L.], v. 68, n. 4, p. 514, 1981. JSTOR. <http://dx.doi.org/10.2307/2398885>.

PRANCE, Ghilleen Tolmie; MORI, Scott Alan. Lecythidaceae. In: KUBITZKI, Klaus (ed.). **The Families and Genera of Vascular Plants**: volume VI flowering plants dicotyledons: Celastrales, Oxalidales, Rosales, Cornales, Ericales. [S. L.]: Springer Nature, 2004. p. 221-231.

PRIMO, Luis Miguel; MACHADO, Isabel Cristina. A new case of late-acting self-incompatibility in Capparis L. (Brassicaceae): *C. jacobinae* Moric. ex Eichler, an endemic andromonoecious species of the caatinga, Pernambuco state, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 764-768, set. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-33062009000300016>.

SAGE, Tammy L.; BERTIN, Robert I.; WILLIAMS, Elizabeth G.. Ovarian and other late-acting self-incompatibility systems. In: WILLIAMS, Elizabeth G.; CLARKE, Adrienne E.; KNOX, R. Bruce (ed.). **Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants**. [S. L.]: Advances In Cellular And Molecular Biology Of Plants, 1994. p. 116-140.

SAGE, Tammy L.; SAMPSON, F. Bruce. Evidence for Ovarian Self-incompatibility as a Cause of Self-sterility in the Relictual Woody Angiosperm, *Pseudowintera axillaris* (Winteraceae). **Annals Of Botany**, [S.L.], v. 91, n. 7, p. 807-816, 3 abr. 2003. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcg085>.

SCHOENBERG, Maria Miranda. Carpologia de *Couroupita guianensis* Aublet (Lecythidaceae) I - Morfologia e classificação. **Acta Biológica Paranaense**, Curitiba, v. 12, n. 6, p. 43-77, 1983.

SCHOENBERG, Maria Miranda. Carpologia de *Couroupita guianensis* Aublet (Lecythidaceae) II - Anatomia. **Acta Biológica Paranaense**, Curitiba, v. 12, n. 6, p. 79-123, 1983.

SOUZA, Vinicius Castro; LORENZI, Harri. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas do Brasil, baseado em APG IV. 4. ed. Nova Odessa: Jardim Botânico Plantarum, 2019. 768 p.

STEEGE, Hans Ter *et al.* Hyperdominance in the Amazonian Tree Flora. **Science**, [S.I.], v. 342, n. 6156, p. 325-342, 18 out. 2013. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1243092>.

SEAVEY, Steven R.; BAWA, Kamaljit S.. Late-Acting Self-Incompatibility in Angiosperms. **Botanical Review**, Bronx, v. 52, n. 2, p. 195-2019, abr-jun. 1986.

TSOU, Chih-Hua. The embryology, reproductive morphology, and systematics of Lecythidaceae. **Memoirs Of The New York Botanical Garden**, New York, v. 71, p. 11-110, 11 mar. 1994.

VALTUEÑA, Francisco J. *et al.* Self-sterility in two *Cytisus* species (Leguminosae, Papilionoideae) due to early-acting inbreeding depression. **American Journal Of Botany**, [S.L.], v. 97, n. 1, p. 123-135, jan. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.3732/ajb.0800332>.

VARGAS, Oscar M.; DICK, Christopher W. Diversification History of Neotropical Lecythidaceae, an Ecologically Dominant Tree Family of Amazon Rain Forest. **Neotropical Diversification: Patterns and Processes**, [S.L.], p. 791-809, 2020. Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-31167-4_29.

YE, Xiu-Lin; YEUNG, Edward; ZEE, Sze-Yong. Sperm movement during double fertilization of a flowering plant, *Phaius tankervilleae*. **Planta**, [S.L.], v. 215, n. 1, p. 60-66, 1 maio 2002. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00425-002-0736-2>.