UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INARA REGIANE MOREIRA CONEGLIAN

"MORFOLOGIA E ONTOGÊNESE DO PERICARPO E

SEMENTE DE Eugenia punicifolia (H. B. & K.) DC., Myrcia bella

Camb. E Campomanesia pubescens (DC.) Berg (MYRTACEAE)"

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do Título de Mestre em Biologia Vegetal, na área de Anatomia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Maria Carmello Guerreiro

Campinas, 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

C756m

Coneglian, Inara Regiane Moreira

Morfologia e ontogênese do pericarpo e semente de Eugenia punicifolia (H.B. & K) DC., Myrcia bella Camb. e Campomanesia pubescens (DC.) Berg (Myrtaceae) / Roque Cielo Filho. – Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientadora: Sandra Maria Carmello Guerreiro. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

Morfologia vegetal.
 Anatomia vegetal.
 Myrtaceae.
 Pericarpo.
 Sementes - Anatomia.
 Guerreiro, Sandra Maria Carmello.
 Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia.
 Título.

(rcdt/ib)

Título em inglês: Morphology and anatomy of the pericarp and seed of *Eugenia punicifolia* (H.B. & K.) DC., *Myrcia bella* Camb. and *Campomanesia pubescens* (DC.) Berg (Myrtaceae). **Palavras-chave em inglês**: Plant morphology; Plant anatomy; Myrtaceae; Pericarp; Seeds -

Anatomy.

Área de concentração: Bologia Vegetal. Titulação: Doutora em Biologia Vegetal.

Banca examinadora: Sandra Maria Carmello Guerreiro, Beatriz Apezatto-da-glória, Ismar

Sebastião Moscheta.

Data da defesa: 02/05/2007.

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Sandra Maria Carmello Guerreiro (Orientadora)

Prof. Dr. Ismar Sebastião Moscheta (Titular)

Profa. Dra. Beatriz Apezzatto-da-Glória (Titular)

Profa. Dra. Beatriz Apezzatto-da-Glória (Titular)

Profa. Dra. Marilia de Moraes Castro (Suplente)

Assinatura

Dra. Ana Paula Stechhahn Lacchia (Suplente)

200731129

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
CERAR LATTES
DESENVOLVIMENTO DE COLEÇÃO

Assinatura

AÇÕES DE GRAÇA¹

Graças dou por esta vida
Pelo bem que revelou,
Graças dou pelo futuro
E por tudo o que passou.
Pelas bençãos derramadas,
Pelo amor, pela aflição,
Pelas graças reveladas,
Graças dou pelo perdão.

Graças pelo azul celeste
E por nuvens que há também,
Pelas rosas do caminho
E os espinhos que elas têm.
Pelas noites desta vida,
Pela estrela que brilhou,
Pela prece respondida
E a esperança que falhou.

Pela cruz e o sofrimento,
E, afinal, ressureição,
Pelo amor, que é sem medida,
Pela paz no coração;
Pela lágrima vertida
E o consolo que é sem par,
Pelo dom da eterna vida,
Sempre graças hei de dar.

_

¹ Hinário Novo Cântico, Igreja Presbiteriana do Brasil, hino n.61, autores: A.L. Storm - A.O. Denyszezuk

A todos que me viram crescer...

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas inúmeras orações (por iluminação, por inspiração, por paciência, por saúde, por discernimento e até pelo florescimento das plantas) respondidas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, UNICAMP.

À CAPES e ao CNPq, pelas bolsas de estudo concedidas.

À FAPESP, pelo auxílio financeiro do projeto "Estudos morfológicos, anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais em plantas de cerrado (*senso lato*) do Estado de São Paulo" (Programa Biota Proc. nº 2000/12469-3), no qual esta dissertação está inserida.

À Profa. Dra. Sandra Maria Carmello-Guerreiro, pela paciência, compreensão e confiança que depositou em mim. Espero ter correspondido às suas expectativas.

À Profa. Dra. Denise Maria Trombert de Oliveira, do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, UNESP-Botucatu, minha primeira orientadora, pela grande amizade e por tudo o que fez e tem feito por mim.

À Dra. Ana Paula Stechhahn Lacchia, pela grande ajuda na interpretação dos resultados dos testes microquímicos.

Ao Ms. Itayguara Ribeiro da Costa, pela colaboração na identificação das espécies utilizadas neste trabalho.

À Karina Luiz Chamma, minha grande amiga, pela elaboração do abstract.

Aos professores do Departamento de Botânica da UNICAMP, pelos conselhos e ensinamentos que me proporcionaram, e aos professores do Departamento de Botânica

da UNESP, câmpus de Botucatu, onde dei meus primeiros passos, pela compreensão, ajuda e pelo carinho com que sempre me trataram.

À Ana Cristina de Andrade Aguiar, Raquel Moreira Antunes e Rosilene Rodrigues Silva, pela maneira carinhosa com que me receberam em suas casas quando precisei pernoitar em Campinas... Meu muito obrigada!!!

A todos os meus familiares, que me incentivaram e presenciaram a minha caminhada até aqui, em especial aos meus pais, Ivan e Jandira, meu avô Jayro, minha tia Janira e minha prima Thais Cristine.

Ao meu marido Renato, pela compreensão e apoio incondicional, e à minha filhinha Sofia, pela luz que trouxe à minha vida.

A todos os irmãos da Igreja Presbiteriana "Monte Sião", pelas orações e pelo incentivo que sempre me deram, em especial ao casal Fernando Colen e Keila.

RESUMO GERAL

O cerrado vem sendo destruído e os aspectos estruturais de suas plantas são pouco conhecidos perante sua diversidade. A maioria das espécies nativas de Myrtaceae, uma das mais representativas da flora brasileira e dos cerrados, não possui estudos de suas estruturas reprodutivas; as análises de frutos e sementes de membros desta família limitam-se a espécies de interesse econômico e raramente envolvem aspectos anatômicos e ontogenéticos. Este trabalho objetiva detalhar a morfologia e ontogênese dos frutos e sementes de Eugenia punicifolia, Myrcia bella e Campomanesia pubescens, espécies comumente encontradas no cerrado sensu lato, comparando-as. O material foi processado seguindo técnicas anatômicas usuais para inclusão em resina plástica. Nas três espécies, tanto na parede ovariana quanto no pericarpo, destaca-se a região fundamental, dividida em três áreas, a grande freqüência de células com conteúdo fenólico e a presença de cavidades secretoras com conteúdo lipídico. Os óvulos são campilótropos; em E. punicifolia, a calaza é extensa e há hipóstase; nas outras espécies, a calaza é menos extensa e não observa-se hipóstase. Durante o desenvolvimento dos frutos, há, inicialmente, intensa atividade mitótica em todas as regiões dos frutos. Formam-se espaços intercelulares no mesocarpo de E. punicifolia e M. bella; em C. pubescens, diferenciam-se esclereídes isoladas no mesocarpo e as camadas mais internas do mesocarpo e o endocarpo concrescem com o tegumento seminal. No fruto maduro, as células mesocárpicas alongam-se

radialmente, originando a polpa carnosa nas três espécies. Embora pertençam a subtribos diferentes, o desenvolvimento dos pericarpos de *E. punicifolia* e *M. bella* mostraram-se bastante semelhantes; *C. pubescens* apresentou características particulares, seguindo o padrão descrito para o gênero.

Durante o desenvolvimento seminal, ocorre maior crescimento na região antirafeal, originando sementes reniformes. Em Eugenia punicifolia, a calaza se expande, evidenciando o desenvolvimento paquicalazal da semente. Em Myrcia bella e Campomanesia pubescens, desenvolve-se a hipóstase. Em M. bella, forma-se uma pericalaza. Em C. pubescens, a expansão da calaza é restrita ao hilo. As células da exotesta alongam-se radialmente. Divisões celulares aumentam o número de camadas da mesotesta, e em *E. punicifolia* e *M. bella*, esta torna-se fenólica em todo o envoltório seminal. A epiderme interna da testa e o tegumento interno não apresentam modificações. O eixo embrionário de E. punicifolia é curto e contínuo com os cotilédones espessos e parcialmente concrescidos; os de M. bella e C. pubescens são bastante alongados. Em M. bella, identifica-se dois cotilédones foliáceos torcidos. Em C. pubescens, os cotilédones são bastante reduzidos e não foram encontrados anatomicamente. As sementes maduras são campilótropas. A exotesta de Eugenia punicifolia é constituída por uma camada paliçádica lignificada; em M. bella, depositamse espessamentos em forma de "U", e em C. pubescens, origina-se uma camada de esclereídes. As células mesotestais de E. punicifolia apresentam espessamentos secundários; em M. bella e C. pubescens, elas permanecem sem lignificação e são comprimidas tangencialmente. No embrião da semente madura, diferenciam-se idioblastos fenólicos e depositam-se grãos de amido nas três espécies e cavidades

secretoras subepidérmicas em *E. punicifolia* e *M. bella*. Os caracteres seminais também seguiram os já descritos para os gêneros.

Palavras-chave: Myrtaceae, fruto, semente, Eugenia, Myrcia, Campomanesia

ABSTRACT

The Brazilian cerrado has been devastated and the structural aspects of the plants in this biome have been scarcely investigated considering its great diversity. In literature, there are no studies about the reproductive structures of the majority of the indigenous species of Myrtaceae, one of the most representative of the Brazilian flora and cerrados. Analyses of fruits and seeds are limited to economically important species and rarely include anatomical and ontogenetic aspects. The present work aimed at detailing and comparing the morphology and ontogenesis of the fruits and seeds of Eugenia punicifolia, Myrcia bella and Campomanesia pubescens, three species commonly found at cerrado sensu lato. Material was processed according to standard anatomical techniques for inclusion in plastic resin. In all three species, both in the ovarian wall and in the pericarp, there were a fundamental region, which was divided into three areas; a great number of cells with phenolic content; and secretory cavities with lipidic content. Ovules were campylotropous; in E. punicifolia, chalaza was extensive; in the remaining species, chalaza was less extensive. In the beginning of the fruits development, intense mitotic activity was noticed in all regions of the fruits. There were intercellular spaces in the mesocarp of E. punicifolia and M. bella as well as differentiated and isolated sclereids in the mesocarp and concrescence of the most inner layers of the mesocarp and endocarp with the seminal tegument of *C. pubescens*. The mesocarpic cells of mature fruits elongated radially, originating the fleshy pulp in all three species. *E. punicifolia* and *M. bella* presented very similar pericarp development; *C. pubescens* showed particular characteristics, following the pattern already described for its genus.

During seminal development, more intense growth occurred in the anti-raphe region, originating reniform seeds. In Eugenia punicifolia, chalaza expanded, making evident the pachychalazal development of the seed. Perichalaza was formed in *M. bella*. In C. pubescens, chalaza expansion was restricted to the hilum. Exotesta cells elongated radially. Cell divisions increased the number of layers of mesotesta, which was phenolic all over the seminal involucrate in E. punicifolia and M. bella. The testa inner epidermis and the inner tegument did not show any alterations. The embryonic axis of E. punicifolia was short and continuous to the thick and partially concrescent cotyledons; those of *M. bella* and *C. pubescens* were very elongated. In *M. bella*, two twisted foliaceous cotyledons were identified. In C. pubescens, cotyledons were extremely small and could not be found anatomically. Mature seeds were campylotropous. The exotesta of Eugenia punicifolia had a lignified palisadic layer. In M. bella, "U"-shaped thicknesses were noticed, and sclereids layers were observed in C. pubescens. Mesotestal cells of E. punicifolia showed secondary thicknesses; those of M. bella and C. pubescens did not show lignification and were tangentially compressed. In the embryo of the mature seed, differentiated phenolic idioblasts were observed as well as deposits of amid granules in all three species and subepidermic secretory cavities in E. punicifolia and M. bella. Seminal characters also followed the pattern already described for their genera.

Key words: Myrtaceae, fruit, seed, Eugenia, Myrcia, Campomanesia

SUMÁRIO

Introdução Geral	1
Objetivos	12
Capítulo 1: Morfologia e ontogênese do pericarpo de Eug	genia punicifolia
(H. B. & K.) DC., Myrcia bella Camb. e	Campomanesia
pubescens (DC.) Berg (Myrtaceae)	13
Resumo	15
Introdução	16
Material e Métodos	18
Resultados	20
Discussão	30
Agradecimentos	33
Referências Bibliográficas	34
Tabela 1	40
Tabela 2	41
Figuras	42
Capítulo 2: Morfologia e ontogênese da semente de Eug	genia punicifolia
((H. B. & K.) DC., Myrcia bella Camb. e	Campomanesia
pubescens (DC.) Berg (Myrtaceae)	51

Resumo	53
Introdução	54
Material e Métodos	55
Resultados	57
Discussão	63
Referências Bibliográficas	67
Tabela	72
Figuras	73
Conclusões Gerais	83
Referências Bibliográficas	84

INTRODUÇÃO GERAL

A família Myrtaceae

A família Myrtaceae é uma das maiores famílias incluídas na ordem Myrtales, que possui mais de 9.000 espécies vegetais (Conti *et al.* 1997). Esta família é constituída por 150 gêneros (Cronquist 1981) e mais de 4.000 espécies (Nic Lughadha & Snow 2000), cujo hábito varia de grandes árvores perenes, como muitas espécies de *Eucalyptus*, a arbustos pequenos ou prostrados (Rye & James 1992, Beardsell *et al.* 1993). Apresenta centros de diversidade na Austrália, sudeste da Ásia e América tropical a temperada, sendo pouco representada na África (Nic Lughadha & Snow 2000, Wilson *et al.* 2001).

A presença de glândulas translúcidas dispersas no limbo foliar é uma das características mais marcantes de Myrtaceae. Estas glândulas são, na verdade, cavidades secretoras contendo terpenóides e outros compostos aromáticos (Judd *et al.* 1999), que se distribuem não só na lâmina foliar, mas também no caule jovem, flores e frutos (Heywood 1993). As folhas são opostas ou alternas, usualmente com nervação pinada (Judd *et al.* 1999). As flores são geralmente epíginas, mas níveis variáveis de periginia são encontrados (Heywood 1993); os estames são comumente numerosos; os ovários são usualmente ínferos a semi-ínferos, com número variável de lóculos (Heywood 1993, Barroso *et al.* 1991, Judd *et al.* 1999).

Vários caracteres vêm sendo estudados a fim de elucidar as relações existentes dentro da família Myrtaceae e entre ela e as demais famílias constituintes da ordem Myrtales. As relações intrafamiliares têm sido investigadas por meio de análises cladísticas, utilizando-se características morfológicas e anatômicas (Johnson & Briggs 1984), e moleculares (Gadek *et al.* 1996, Sytsma *et al.* 1996, Conti *et al.* 1997, Wilson *et al.* 2001). Além disso, estudos cromossômicos vêm sendo conduzidos, principalmente com espécies pertencentes à flora brasileira (Forni-Martins *et al.* 1995, Forni-Martins & Martins 2000, Costa 2004).

Os problemas taxonômicos referentes às mirtáceas são reflexos da considerável variação morfológica, genética e de capacidade reprodutiva das espécies constituintes da família (Rye & James 1992). A nomenclatura utilizada para a família é inoportuna e com problemas sistemáticos (Schmid 1972a), havendo várias classificações diferentes para suas subfamílias, tribos, subtribos e demais categorias taxonômicas; não havendo consenso, os autores dividem-na de maneira diferente, incluindo novas subfamílias e/ou tratando as subdivisões com classes taxonômicas diferentes.

Em 1893, Niedenzu dividiu a família em duas subfamílias, baseando-se principalmente no tipo de fruto existente: Myrtoideae, com frutos carnosos, e Leptospermoideae, com frutos secos (Schmid 1980). Esta subdivisão tornou-se a mais utilizada e vinha sendo considerada natural até recentemente (Schmid 1980, Wilson *et al.* 2001). Atualmente, ela tem sido questionada, pois estudos vêm mostrando que ela é artificial e, portanto, deve ser abandonada (Johnson & Briggs 1984, Wilson *et al.* 2001). Johnson & Briggs (1984) recomendaram o uso da nomenclatura informal "aliança" e "sub-aliança" para os diferentes grupos de gêneros com afinidades em Myrtaceae.

Wilson *et al.* (2001) concluíram que os taxa de frutos carnosos (Myrtoideae) não formam um grupo monofilético, não podendo ser definidos como uma subfamília. De acordo com Wilson *et al.* (2001), este grupo poderia ser mais apropriadamente posicionado em uma tribo (Myrteae).

A subfamília Myrtoideae está concentrada em partes tropicais e subtropicais do globo terrestre, particularmente na América do Sul (Rye & James 1992), mas também é bem representada nos trópicos do Velho Mundo (Schmid 1980); a subfamília Leptospermoideae (com exceção da subtribo Metrosiderinae) concentra-se na Austrália (Schmid 1980).

Todas as Myrtaceae brasileiras pertencem à tribo Myrteae, única tribo da subfamília Myrtoideae (Niedenzu 1893), com cerca de 70 gêneros (Briggs & Johnson 1979) e 2.400 espécies (Nic Lughadha & Proença 1996). Esta tribo é dividida em três subtribos (Eugeniinae, Myrciinae e Myrtinae), baseando-se principalmente na estrutura do embrião (Berg 1855-56, 1857-59), embora esta distinção também não venha sendo confirmada por análises moleculares (Wilson *et al.* 2001).

No Brasil, as Myrtaceae apresentam-se como uma das famílias mais importantes e características da flora (Jorge *et al.* 2000), possuindo cerca de 1.000 espécies (Landrum & Kawasaki 1997a). Ela aparece como a terceira mais representativa dos cerrados brasileiros (Heringer *et al.* 1997), podendo ser a família dominante (em número de espécies, número de indivíduos e na área basal total) em algumas florestas úmidas do leste do Brasil (Mori *et al.* 1983).

A referida família apresenta potencial e significativo interesse econômico para o Brasil (Jorge *et al.* 2000), devido principalmente à presença de frutos comestíveis e

comerciáveis, tais como goiaba, jabuticaba, pitanga, cagaita, araçá e cambuci (Silva *et al.* 2001, 2003, Pizo 2002). Além desta importância, espécies de Myrtaceae são usadas na arborização urbana (Silva *et al.* 2001), para uso medicinal (Jorge *et al.* 2000, Silva *et al.* 2001), produção de madeira e como ornamentais (Demattê 1997, Judd *et al.*1999).

Pesquisas focando as Myrtaceae sul-americanas e asiáticas são raras e isso reflete-se na falta de conhecimento desta família quando comparada com outras (Nic Lughadha & Snow 2000). Estudos comparativos envolvendo as três subtribos de Myrtoideae são inexistentes, embora pudessem fornecer dados sobre as características dos membros de cada subtribo e da subfamília como um todo, e, com isso, contribuir para inferências da filogenia destes grupos.

Myrtaceae e os cerrados

O cerrado é considerado uma das mais ricas savanas do mundo (Klink 1996). Esta vegetação, que ocorre principalmente na região centro-norte do Brasil (Toledo-Filho *et al.* 1984), representa cerca de um terço da biota brasileira (Alho & Martins 1995) e cobre mais de 20% do território brasileiro, sendo a segunda em termos de cobertura de área nacional (Felfili & Silva-Júnior 1993).

Estudos atuais têm elevado constantemente o número de espécies encontradas nos cerrados; de forma conservadora, estima-se cerca de 3.000 espécies, sendo 1.000 delas do estrato arbóreo-arbustivo e 2.000 do herbáceo-subarbustivo (Coutinho 2006).

É um bioma que apresenta grande variação fisionômica, possuindo formas florestais, savânicas e campestres (Ribeiro & Walter 1998). A fisionomia "cerrado *sensu stricto*" ocupa cerca de 70% da vegetação de cerrado (Felfili & Silva-Júnior 1993) e é

formada por uma camada herbácea contínua dominada por gramíneas e uma camada lenhosa de árvores e arbustos (Eiten 1978).

Apesar de sua grande importância, o cerrado vem sendo intensamente destruído e resta, apenas, 1% da vegetação existente há um século (Zorzetto *et al.* 2003), e vários aspectos estruturais, ecológicos, florísticos, fitossociológicos, entre outros, ainda não foram estudados (Felfili & Silva-Júnior 1993).

A família Myrtaceae é uma das mais representativas do cerrado (Mendonça *et al.* 1998, Heringer *et al.* 1997) e, da mesma forma que em outras famílias, a maioria de suas espécies não possui estudos referentes às suas estruturas reprodutivas (Schmid 1972b).

Frutos e sementes na família Myrtaceae

Trabalhos com frutos e sementes são de extrema importância para o melhor conhecimento das espécies vegetais, principalmente as pertencentes a biomas ameaçados de extinção, e para contribuir para a análise da filogenia de grupos nos quais ainda há certa indefinição.

A família Myrtaceae apresenta ampla variedade de tipos de frutos. São encontradas nozes, bagas suculentas e cápsulas lenhosas (Beardsell *et al.* 1993). Algumas considerações com relação aos frutos de Myrtaceae já foram feitas; pôde-se concluir que frutos com muitas sementes são primitivos em Myrtaceae (Rye & James 1992), e que o estado plesiomórfico na família é o fruto deiscente, com surgimento de frutos indeiscentes em quatro linhagens distintas (Wilson *et al.* 2001).

A subfamília Myrtoideae, especificamente, também apresenta grande variação na morfologia de frutos; estes variam em cor, tamanho, textura e espermia (Nic Lughadha & Proença 1996). Nic Lughadha & Proença (1996) caracterizaram o fruto típico de Myrtoideae como sendo um fruto carnoso monospérmico de coloração alaranjada, vermelha ou cereja-escura; porém também verificaram a presença de bagas secas ou semi-secas, frutos subdrupáceos e frutos drupóides. Segundo os referidos autores, esta ampla variedade morfológica estaria relacionada à dispersão endozoocórica destes frutos, feita por classes diferentes de dispersores.

Dentre os trabalhos desenvolvidos com frutos, a maioria refere-se a espécies de interesse comercial, pouco se conhecendo das demais espécies. Estes estudos são ainda mais limitados quando se trata especificamente da subfamília Myrtoideae. Alguns exemplos são os trabalhos de Ikeda (1979), que caracterizou morfologicamente os frutos de *Syzygium javanicum* Merrill & Perry no Vietnã do Sul, de Gentil & Clement (1997), que reuniram em um trabalho de revisão de literatura dados sobre frutos e sementes de *Eugenia stipitata* McVaugh, de Bhatnagar *et al.* (1997), que estudaram o desenvolvimento do epicarpo de *Eugenia jambos* L., de Silva *et al.* (2001), que fizeram estudos morfométricos em frutos de *Eugenia dysenterica* DC., e de Hernández *et al.* (2002) que estudaram morfológica e anatomicamente os frutos de *Eugenia stipitata* McVaugh, dentre poucos outros.

O desenvolvimento e a estrutura das sementes de Myrtaceae, e principalmente de Myrtoideae, também têm sido pouco estudados, embora estas apresentem características diretamente ligadas à sistemática da subfamília (Berg 1855-1856, 1857-

1859). As sementes das espécies desta subfamília variam em tamanho, estrutura do tegumento seminal e na morfologia do embrião (Nic Lughadha & Proença 1996).

McVaugh (1968) notou que a testa apresenta espessura variável nas Myrtoideae neotropicais, podendo ser membranácea, coriácea, cartilaginosa ou lenhosa. Em seu amplo trabalho com sementes, Corner (1976) apresentou características de alguns gêneros das duas subfamílias de Myrtaceae. Van Wyk (1980) e Van Wyk & Botha (1984) descreveram a morfologia e a ontogênese, respectivamente, de sementes de espécies de *Eugenia* da África do Sul. Landrum (1982) e Landrum & Sharp (1989) estudaram sementes de *Campomanesia* e *Psidium*, respectivamente, adotando algumas características seminais como sendo de importância taxonômica. Contudo, algumas características devem ser mais bem estudadas em Myrtaceae, como a distribuição da condição unitegumentada de óvulos e a participação de um ou ambos os tegumentos na formação da micrópila (Tobe & Raven 1983). Segundo Tobe & Raven (1983), a primeira característica pode ajudar a inferir relações filogenéticas e a segunda, apresenta significado taxonômico.

Apesar da necessidade e importância dos estudos morfoanatômicos em frutos e sementes de Myrtaceae, estes ainda são escassos (Schmid 1972b). Alguns fatores podem estar relacionados à falta destes estudos, tais como problemas na identificação das espécies e dificuldades na fixação do material (Mauritzon 1939), esta presumivelmente relacionada à ampla distribuição de células contendo óleos e fenóis em todos os órgãos das mirtáceas (Beardsell *et al.* 1993). Contudo, estudos ontogenéticos com tais órgãos são de fundamental valor para a classificação de frutos e

para a correta descrição das estruturas seminais (Marzinek & Mourão 2003, Silva *et al.* 2003).

O gênero Eugenia

Eugenia Linneaus (1753), membro da subtribo Eugeniinae, é o segundo maior gênero da família e tem sido um dos mais difíceis e controversos gêneros para definição nas angiospermas (Schmid 1972a). Originalmente, foi considerado o gênero mais amplo de árvores e arbustos, compreendendo cerca de 2.000 espécies (Haron & Moore 1996). Atualmente, considera-se que ele apresenta cerca de 400 espécies (Judd et al. 1999), sendo que 350 delas estão presentes no Brasil (Landrum & Kawasaki 1997a).

O gênero distribui-se nos trópicos e subtrópicos do Novo Mundo, trópicos da Ásia, África e Austrália, com espécies alcançando até a Nova Zelândia (Haron & Moore 1996). No continente americano, ele ocorre do México e Caribe ao noroeste da Argentina (Landrum & Kawasaki 1997a). É um dos pouquíssimos gêneros de Myrtaceae encontrados, concomitantemente, no Novo e no Velho Mundo (McVaugh 1968). No Paraguai e Argentina, as espécies de *Eugenia* assumem destaque quando se trata de plantas utilizadas como medicinais, tais como *E. uniflora* L., *E. moraviana* O. Berg e *E. pyriformis* Camb. (Silva *et al.* 2003).

Schmid (1972a) dividiu *Eugenia lato sensu*, baseando-se em considerações geográficas e anatômicas, em dois gêneros: *Eugenia*, principalmente americano, e *Syzygium*, exclusivo do Velho Mundo. Parece que muitos caracteres poderiam separar

estes dois gêneros, já que evidências anatômicas e palinológicas demonstram as diferenças entre *Eugenia* e *Syzygium* (Schmid 1972a).

O estudo de órgãos reprodutivos de *Eugenia s.l.*, particularmente de flores, pode fornecer dados de valor taxonômico (Schmid 1972a). Schmid (1972a) e Merrill & Perry (1939) concluíram que há diferenças anatômicas evidentes entre as flores de espécies americanas de *Eugenia s.l.*, e que caracteres florais e do fruto são essenciais para circunscrição do gênero.

Eugenia é o gênero mais variável na morfologia do fruto e nos taxa de dispersores de sementes dentro das Myrtoideae (Pizo 2002). Este gênero foi escolhido pela necessidade de estudos referentes a frutos e sementes de suas espécies, pois o mesmo apresenta grande variação nestes órgãos (Landrum & Kawasaki 1997a), e por ser um representante da subtribo Eugeniinae presente nos cerrados.

A espécie selecionada para o estudo foi *Eugenia punicifolia* (H. B. & K.) DC., popularmente conhecida como cereja-do-cerrado (Durigan *et al.* 2004), um arbusto que floresce de maio a julho e frutifica de julho a setembro (BDT 2007). Há referências do uso desta espécie como fitoterápico, devido à sua suposta ação hipoglicemiante (Jorge *et al.* 2000). É uma espécie abundante nos cerrados da região sudeste do Brasil, cujos órgãos reprodutivos ainda não são conhecidos anatomicamente.

O gênero Myrcia

Este gênero da subtribo Myrciinae é encontrado do México e Caribe ao norte da Argentina, estando distribuído por todo o território brasileiro, no qual há cerca de 400 espécies (Landrum & Kawasaki 1997a).

Algumas espécies deste gênero são referidas como medicinais: *Myrcia sphaerocarpa* DC., *M. citrifolia* (Aubl.) Urb. e *M. guianensis* (Aubl.) DC., conhecidas popularmente como pedra-hume-caá, são indicadas para o tratamento de diabetes (Jorge *et al.* 2000); *Myrcia fallax* (Rich.) DC., possui ação anti-tumoral; e *Myrcia acris* (Sw.) DC., que tem ação anti-microbiana (Nadal 1959).

Os frutos de *Myrcia* são bagas pequenas, com 1 ou 2 sementes, e a testa é referida como membranácea ou crustácea (Legrand & Klein 1969); o embrião assemelha-se a uma pequena planta, com cotilédones pouco carnosos, contorduplicados (Landrum 1986, Legrand & Klein 1969).

Dentre as várias espécies de *Myrcia* encontradas nos cerrados do estado de São Paulo, foi escolhida *Myrcia bella* Camb., arbusto que floresce de outubro a novembro e frutifica de novembro a dezembro (BDT 2007).

O gênero Campomanesia

Este gênero, pertencente à subtribo Myrtinae, é composto por árvores e arbustos (Landrum 1982), é estritamente americano (Landrum 1986), encontrando-se distribuído do norte da Argentina a Trindade e da costa do Brasil aos Andes do Peru, Equador e Colômbia (Landrum 1982). Nas florestas subtropicais e tropicais do leste do Brasil, norte da Argentina e nos Andes, encontram-se as árvores; os arbustos ocorrem nos campos e cerrados do interior do Brasil (Landrum 1986). Possui cerca de 30 espécies, 24 delas no Brasil (Landrum & Kawasaki 1997a).

O desenvolvimento dos frutos e sementes de *Campomanesia* não tem sido compreendido desde a descrição original do gênero por Ruiz e Pavón, em 1794, sendo

que vários autores deram interpretações diferentes para as diversas partes constituintes do pericarpo e da semente (Landrum 1982). Landrum (1982) realizou estudos de desenvolvimento em frutos e sementes de *Campomanesia*, e pôde verificar algumas informações contraditórias difundidas na literatura.

Segundo Landrum (1982), a testa têm sido a característica mais valiosa para o reconhecimento do gênero. Outra característica citada por este mesmo autor é a parede do lóculo, que serve como falso tegumento seminal, aderindo-se ao tegumento verdadeiro, característica que parece ser exclusiva deste gênero dentro da família Myrtaceae. Tal particularidade e sua confusa descrição na literatura, aliada à ampla presença de espécies de *Campomanesia* em áreas de cerrado, contribuíram para a escolha do gênero.

A espécie escolhida para este trabalho foi *Campomanesia pubescens* (DC.) Berg, popularmente conhecida por guabiroba, guabiroba-do-campo ou guabiroba-felpuda (Landrum 1986). É um arbusto de campo sujo (Proença & Gibbs 1994) encontrado em Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná e Paraguai, e raramente nos campos da Bahia (Landrum 1986). Sua ampla distribuição em regiões de cerrado (Landrum & Kawasaki 1997b) colaborou para a escolha da mesma para este estudo.

OBJETIVOS

Frente ao exposto, este trabalho, que é parte de uma ampla pesquisa sobre frutos e sementes de espécies do cerrado, tem como objetivos:

- descrever anatomicamente e comparar as etapas de desenvolvimento de frutos e sementes de *Eugenia punicifolia* (H., B. & K.) DC., *Myrcia bella* Camb. e *Campomanesia pubescens* (DC.) Berg, fornecendo subsídios para estudos taxonômicos que venham a abranger espécies americanas de Myrtaceae.
- inferir, através de testes microquímicos, as principais classes químicas presentes nas cavidades e células secretoras dos ovários, frutos e sementes das três espécies estudadas.

O trabalho foi dividido em duas partes descritas e organizadas nos moldes das revistas escolhidas para publicação: Capítulo 1 – Morfologia e ontogênese do pericarpo de *Eugenia punicifolia* (H. B. & K.) DC., *Myrcia bella* Camb. e *Campomanesia pubescens* (DC.) Berg (Myrtaceae) – e Capítulo 2 - Morfologia e ontogênese da semente de *Eugenia punicifolia* (H. B. & K.) DC., *Myrcia bella* Camb. e *Campomanesia pubescens* (DC.) Berg (Myrtaceae).

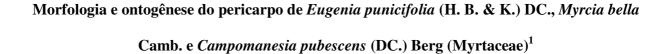
CAPÍTULO 12

MORFOLOGIA E ONTOGÊNESE DO PERICARPO DE Eugenia punicifolia
(H. B. & K.) DC., Myrcia bella CAMB. E Campomanesia pubescens (DC.)

BERG (MYRTACEAE)

_

² Trabalho elaborado segundo as normas da Revista Brasileira de Botânica, à qual será submetido.



INARA REGIANE MOREIRA-CONEGLIAN 2 e SANDRA MARIA CARMELLO- ${\rm GUERREIRO}^{2,\,3}$

Título resumido: Morfologia e ontogênese do pericarpo de espécies de Myrtaceae

¹ Parte da dissertação de mestrado desenvolvida junto ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

² Laboratório de Anatomia Vegetal do Deportemento de Posta de Post

² Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, CP6109, Universidade Estadual de Campinas, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

RESUMO - (Morfologia e ontogênese do pericarpo de Eugenia punicifolia (H. B. & K.) DC., Myrcia bella Camb. e Campomanesia pubescens (DC.) Berg (Myrtaceae)). Estudos com frutos de Myrtaceae, uma das famílias mais representativas da flora brasileira, limitam-se a espécies de interesse econômico e raramente envolvem aspectos anatômicos e ontogenéticos. Neste trabalho, são detalhadas a morfologia e ontogênese dos frutos de Eugenia punicifolia, Myrcia bella e Campomanesia pubescens, espécies comumente encontradas no cerrado sensu lato. O material foi processado segundo técnicas anatômicas convencionais. Nas três espécies, tanto na parede ovariana quanto no pericarpo, destaca-se a região fundamental, dividida em três áreas, a grande frequência de células com conteúdo fenólico e a presença de cavidades secretoras com conteúdo lipídico. Durante o desenvolvimento dos frutos, há, inicialmente, intensa atividade mitótica em todas as regiões do fruto. Formam-se espaços intercelulares no mesocarpo de E. punicifolia e M. bella, e as células mesocárpicas mais internas alongam-se radialmente, originando a polpa carnosa nas três espécies. Em C. pubescens, diferenciam-se esclereídes isoladas no mesocarpo e o pericarpo concresce com o tegumento seminal. Nas três espécies, os compostos fenólicos são convertidos em açúcares na maturação. Embora pertençam a subtribos diferentes, o desenvolvimento dos pericarpos de E. punicifolia e M. bella mostraram-se bastante semelhantes; já C. pubescens apresentou características particulares, seguindo o padrão descrito para o gênero.

Palavras-chave: Campomanesia, Eugenia, fruto, Myrcia, Myrtaceae

³ Autor para correspondência: smcg@unicamp.br

INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae, uma das maiores da ordem Myrtales, é constituída por 150 gêneros (Cronquist 1981) e mais de 4.000 espécies (Nic Lughadha & Snow 2000, Souza & Lorenzi 2005). Os centros de diversidade estão na Austrália, sudeste da Ásia e América tropical e temperada, sendo pouco representada na África (Nic Lughadha & Snow 2000, Wilson *et al.* 2001). No Brasil, é uma das famílias mais importantes e características da flora (Jorge *et al.* 2000, Souza & Lorenzi 2005), com cerca de 1.000 espécies (Landrum & Kawasaki 1997a), sendo a terceira mais representativa dos cerrados (Heringer *et al.* 1997), podendo ser dominante em algumas florestas úmidas do leste do Brasil (Mori *et al.* 1983).

As Myrtaceae vêm sendo tradicionalmente divididas em duas subfamílias: Myrtoideae, caracterizada por possuir frutos carnosos e distribuída em partes tropicais e subtropicais do globo terrestre, particularmente na América do Sul, mas também bem representada nos trópicos do Velho Mundo, e Leptospermoideae, com frutos secos, limitada, com exceção da subtribo Metrosiderinae, à Austrália (Schmid 1980, Rye & James 1992).

Todas as Myrtaceae brasileiras pertencem a Myrteae, única tribo de Myrtoideae (Niedenzu 1893), que abrange cerca de 70 gêneros (Briggs & Johnson 1979) e 2.400 espécies (Nic Lughadha & Proença 1996). Esta tribo é dividida em três subtribos (Eugeniinae, Myrciinae e Myrtinae), principalmente em função da estrutura do embrião (Berg 1855-56, 1857-59); esta distinção não tem sido, contudo, confirmada por análises moleculares (Wilson *et al.* 2001).

A subfamília Myrtoideae apresenta grande variedade de frutos e sementes (Nic Lughadha & Proença 1996). Contudo, os frutos das espécies deste grupo são pouco estudados, e os trabalhos existentes com tais órgãos limitam-se a descrições morfológicas de algumas espécies (Ikeda 1979, Gentil & Clement 1997, Silva *et al.* 2001). Características anatômicas, que podem

fornecer dados importantes para a classificação e caracterização dos frutos, e também para futuras interpretações filogenéticas, não são englobadas nestes trabalhos. Ainda deve ser destacado que estudos comparativos com espécies das três subtribos são raros e poderiam fornecer informações importantes, principalmente a respeito de aspectos taxonômicos, ecológicos e evolutivos.

O gênero *Eugenia* L. (Eugeniinae), apresenta, aproximadamente, 400 espécies (Judd *et al.* 1999), 350 delas presentes no Brasil (Landrum & Kawasaki 1997a) e tem sido demonstrado que caracteres florais e do fruto são essenciais para circunscrição deste gênero (Schmid 1972, Merrill & Perry 1939). Estudos referentes a frutos de espécies de *Eugenia* são também importantes devido à grande variação encontrada nesses órgãos (Landrum & Kawasaki 1997a); de acordo com Pizo (2002), dentre as Myrtoideae, este é o gênero mais variável na morfologia do fruto e nos *taxa* de dispersores associados.

Eugenia punicifolia (H. B. & K.) DC., popularmente conhecida como cereja-do-cerrado (Durigan *et al.* 2004), é um arbusto que floresce de maio a julho, frutificando entre julho e setembro (BDT 2007). É uma espécie ocorrente nos cerrados da região sudeste do Brasil (Durigan *et al.* 2004), cujos órgãos reprodutivos ainda não foram detalhados anatomicamente.

Entre os gêneros da subtribo Myrciinae, *Myrcia* DC. é encontrado em todo o território brasileiro, onde ocorrem cerca de 400 espécies (Landrum & Kawasaki 1997a). Os órgãos reprodutivos de espécies deste gênero são pouco conhecidos anatomicamente. A presença de várias espécies de *Myrcia* em cerrados do estado de São Paulo levou à escolha de *Myrcia bella* Camb., espécie arbustiva que floresce de outubro a novembro e frutifica de novembro a dezembro (BDT 2007), para a realização deste trabalho.

Na subtribo Myrtinae, o gênero *Campomanesia* Ruiz & Pavón destaca-se por ser estritamente americano (Landrum 1986), possuindo 24 espécies no Brasil (Landrum & Kawasaki 1997a). Em estudos de desenvolvimento de frutos e sementes de *Campomanesia*, Landrum (1982) verificou que há algumas informações contraditórias difundidas na literatura. Por isso, a importância da análise do desenvolvimento de frutos em espécies deste gênero. A espécie selecionada para este trabalho foi *Campomanesia pubescens* (DC.) Berg, popularmente conhecida por guabiroba, guabiroba-do-campo ou guabiroba-felpuda (Landrum 1986). É um arbusto que ocorre em campo sujo (Proença & Gibbs 1994) e sua ampla distribuição em regiões de cerrado (Landrum & Kawasaki 1997b) colaborou para a seleção da mesma para este estudo.

Frente ao exposto, este trabalho tem como objetivo descrever anatomicamente as etapas de desenvolvimento dos pericarpos de *Eugenia punicifolia*, *Myrcia bella* e *Campomanesia pubescens*, comparando-as entre si e com a literatura, e verificar os principais tipos de compostos presentes em tais órgãos através de testes microquímicos.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram feitas em área de cerrado da Fazenda Palmeira da Serra, município de Pratânia, estado de São Paulo, Brasil (S22°48' W48°44'). O material coletado foi herborizado, identificado por Ms. Itayguara Ribeiro da Costa e será depositado no Herbário do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, UNICAMP (UEC): *E. punicifolia* (H., B. & K.) DC.: BRASIL, SÃO PAULO, Pratânia, 12-IX-2003, *I.R. Moreira-Coneglian 20*; *M. bella* Camb.: BRASIL, SÃO PAULO, Pratânia, 13-I-2004, *I.R.Moreira-Coneglian 28*; *Campomanesia pubescens* (Dc.) Berg: BRASIL, SÃO PAULO, Pratânia, 25-II-2004, *I.R.Moreira-Coneglian 35*.

Foram coletados ovários de botões florais e flores em antese, e frutos nas diferentes fases de desenvolvimento, de vários indivíduos de cada espécie, separando-os em duas classes: frutos em desenvolvimento – desde o momento em que os verticilos reprodutivos caem até que os frutos estejam com o tamanho de maduros, porém ainda sem a coloração característica desta fase, ou seja, coloração verde em *E. punicifolia* e *C. pubescens*, e verde com manchas púrpuras a amarelado com manchas púrpuras em *M. bella* – e frutos maduros – assim definidos pela coloração vermelha em *E. punicifolia*, púrpura intenso em *M. bella* e amarela em *C. pubescens*.

O material foi fixado em FAA (Johansen 1940) por 24 horas, sendo conservado em etanol 70%. Para os testes microquímicos que detectam substâncias lipídicas, o fixador utilizado foi formalina neutra tamponada (FNT) (Lillie 1965), no qual o material foi mantido por 48 horas, sendo lavado em água destilada e desidratado até etanol 70%, solução utilizada para armazenamento.

Para a análise anatômica, amostras do material fixado foram desidratadas em série etílica e incluídas em resina plástica (historesin Leica), seguindo-se Gerrits & Smid (1983) e recomendações do fabricante. Amostras de grandes dimensões (frutos em desenvolvimento e frutos maduros) foram polimerizadas em freezer (E.A.S. Paiva, com. pessoal). Posteriormente, os blocos foram seccionados em micrótomo rotativo Leica RM 2145, com espessura de 8μm. As lâminas obtidas foram coradas com Azul de Toluidina 0,05% em tampão acetato pH 4,7 (O'Brien et al. 1964). As descrições do fruto seguiram a terminologia de Roth (1977) e Barroso et al. (1999). Em função da ausência de delimitação entre o hipanto e a parede ovariana, optou-se por caracterizar as regiões ovarianas e pericárpicas segundo o conceito morfológico e não ontogenético, considerando-se o exocarpo derivado da epiderme externa, mesocarpo de toda a região fundamental vascularizada e endocarpo da epiderme interna.

Os testes microquímicos foram conduzidos em amostras também desidratadas e incluídas em resina plástica. No material fixado em FNT, foram feitos testes com vermelho de Sudão IV e preto de Sudão B (Pearse 1980), para detecção de lipídios totais; sulfato azul do Nilo (Cain 1947), para verificação de lipídios ácidos e neutros; e acetato de cobre associado a ácido rubeânico (Ganter & Jollés 1969, 1970), para localização de ácidos graxos. No material fixado em FAA, foram feitos testes com cloreto férrico (Johansen 1940), buscando-se compostos fenólicos; PAS (Periodic-acid-Shiff's reagent, pararosanilina, Cl 42510) (Jensen 1962), para verificação de polissacarídeos totais; lugol (Jensen 1962), para detecção de amido; vermelho de rutênio (Gregory & Baas 1989), para localização de mucilagens ácidas; azul de alcião (Pearse 1980), para verificação de muco-polissacarídeos ácidos; ácido tânico associado a cloreto férrico (Pizzolato & Lillie 1973), para localização de mucilagens; e azul brilhante de comassie (Fischer 1968), para detecção de proteínas.

As fotomicrografias foram feitas em fotomicroscópio Zeiss e os diagramas preparados em estereomicroscópio Carl Zeiss-Jena com câmara clara acoplada, com escalas fotografadas e desenhadas, respectivamente, nas mesmas condições ópticas.

RESULTADOS

O ovário das três espécies é ínfero (figuras 1, 9, 19), com placentação axilar (figuras 2, 10, 17). *Eugenia punicifolia* apresenta ovário bilocular (figura 2), com muitos óvulos fixados em um único ponto. Em *Myrcia bella*, o ovário é trilocular (figura 17) e possui dois óvulos por lóculo, dispostos lado a lado (figura 17); *Campomanesia pubescens* apresenta número de lóculos variável (entre cinco e oito), e em cada um deles há duas fileiras paralelas de óvulos (figura 10).

Em *E. punicifolia*, os idioblastos fenólicos são preenchidas por compostos fenólicos lipossolúveis, como indicam as reações positivas aos testes com cloreto férrico, dicromato de potássio, preto de Sudão B (figura 51) e acetato de cobre associado a ácido rubeânico (figura 57). Em *M. bella* e *C. pubescens*, tais compostos fenólicos são hidrossolúveis, pois reagem positivamente aos testes com cloreto férrico e dicromato de potássio, mas não reagem positivamente aos testes para substâncias lipídicas.

A epiderme externa do ovário das três espécies é unisseriada (figuras 14-15, 18, 21), composta por células justapostas, levemente alongadas no sentido radial (figuras 15, 18, 21), recobertas por cutícula delgada (figuras 49-51, tabela 2).

Em *E. punicifolia*, as paredes periclinais externas e internas das células da epiderme externa apresentam-se levemente espessadas (figura 15), e observam-se divisões celulares (figura 15) em planos variados. *M. bella* possui células com paredes periclinais externas mais espessas que as demais (figura 18) e *C. pubescens* apresenta estômatos e tricomas tectores unisseriados e unicelulares, curvados (figura 21).

A região fundamental do ovário das três espécies pode ser dividida em três áreas, baseando-se no tamanho, arranjo e conteúdo das células e/ou espessura das paredes das células. A mais externa, subjacente à epiderme externa, é constituída por células parenquimáticas isodiamétricas (figuras 14-15, 18, 20-21). Em *E. punicifolia*, esta região é constituída por três a cinco camadas de células cujas paredes apresentam-se pouco espessadas (figura 15); imediatamente subjacentes à epiderme externa e imersas neste tecido, encontram-se cavidades secretoras (figuras 14-15) em variados graus de diferenciação; nas cavidades, inicialmente, o lume não se encontra diferenciado e observam-se células de conteúdo denso que começam a se afastar, evidenciando o início do desenvolvimento esquizógeno; naquelas ativas, as células

epiteliais possuem citoplasma denso e observa-se conteúdo no lume (figura 15). As células epiteliais da cavidade possuem conteúdo fenólico lipossolúvel (figura 51, tabela 2) e a secreção contida na cavidade também tem natureza lipídica, havendo lipídeos totais, ácidos e neutros, ácidos graxos (figuras 49-51, 53, tabela 2), além de proteínas (figura 52, tabela 2).

Em *M. bella*, a região fundamental externa constitui-se de uma a três camadas de células de paredes pécticas levemente espessadas, com conteúdo fenólico granulado ou amorfo (figura 18); já em *C. pubescens*, esta região é composta por duas a três camadas de células de paredes delgadas (figura 21), entre as quais observam-se cavidades secretoras em desenvolvimento e em atividade de secreção, cujas células secretoras reagem positivamente aos testes com cloreto férrico (figura 58) e acetato de cobre associado a ácido rubeânico (figura 61), indicando a presença de compostos fenólicos lipossolúveis, e cujo conteúdo secretado é lipídico (reage positivamente aos testes com vermelho de Sudão IV e preto de Sudão B – tabela 2).

A região fundamental mediana do ovário das espécies estudadas é constituída por células parenquimáticas isodiamétricas. Em *Eugenia punicifolia* e *Myrcia bella*, esta região é delimitada externamente pela região fundamental externa e, internamente, pelos feixes vasculares mais calibrosos (figuras 14, 18). Nestas duas espécies, as paredes das células desta região apresentam-se levemente espessadas (figuras 15, 18) e alguns idioblastos fenólicos (figuras 14, 18) e idioblastos cristalíferos contendo drusas (figuras 15, 18) são encontrados.

Em *E. punicifolia*, esta região é formada por três a seis camadas de células, com grandes vacúolos (figura 15) e núcleos evidentes. Em *M. bella*, tal região é composta por aproximadamente dez camadas celulares (figura 18); no limite externo desta região, encontram-se cavidades secretoras em desenvolvimento e em atividade de secreção, cujas células secretoras

apresentam-se preenchidas por compostos fenólicos hidrossolúveis (figuras 58, 61) e cujo conteúdo secretado é composto por substâncias lipofílicas (lipídeos totais) (tabela 2).

Em *C. pubescens*, devido à homogeneidade que ocorre nas células das regiões externa e interna aos feixes vasculares, a região fundamental mediana foi definida abrangendo desde a região fundamental externa até a porção mais interna do ovário (figura 20), sendo assim a região mais ampla do ovário. As paredes das células são delgadas (figura 21) e há idioblastos fenólicos (tabela 2), e cristalíferos com drusas dispersos por toda a região. Na periferia deste tecido, há feixes vasculares colaterais calibrosos (figura 20), que se distribuem em um círculo concêntrico, variando em número conforme o número de carpelos constituintes do ovário, além de vários feixes menores distribuídos aleatoriamente por toda a região fundamental mediana. No parênquima vascular dos feixes, há alguns idioblastos fenólicos.

Em termos comparativos, a região fundamental interna do ovário é a mais variável entre as espécies estudadas. Em *E. punicifolia*, esta região é a mais ampla do ovário e suas células possuem paredes levemente espessadas (figura 16), com espaços intercelulares entre si (figura 16); delimitando externamente esta região, ocorrem oito feixes vasculares anficrivais calibrosos (figura 14) e numerosos feixes de menor calibre encontram-se imersos nesta região (figura 14). Nos feixes, também ocorrem idioblastos fenólicos dispersos (figura 16). As camadas mais internas desta região apresentam células levemente achatadas no sentido tangencial e maior freqüência de idioblastos fenólicos e cristalíferos (figura 16).

Em *M. bella*, as células têm paredes mais delgadas do que as da região fundamental mediana (figura 18) e, como em *E. punicifolia*, são tangencialmente achatadas nas camadas mais internas (figuras 17-18). Delimitando externamente esta região, há sete feixes vasculares colaterais em arranjo concêntrico (figuras 17-18), com idioblastos fenólicos na região do

parênquima floemático (tabela 2), e há vários feixes colaterais de menor calibre dispersos nas porções mais internas deste tecido (figura 18). Especificamente na região dos feixes dorsais dos carpelos, há muitos idioblastos fenólicos nas camadas mais próximas aos lóculos (figuras 17-18, 61).

Na região fundamental interna de *C. pubescens*, as células apresentam paredes delgadas e núcleos conspícuos (figura 22), sendo menores e de arranjo mais denso do que as células da região parenquimática mediana (figuras 20, 22). Nesta região, diferentemente das outras duas espécies, também se encontram cavidades secretoras, embora ainda em desenvolvimento (figura 22).

A epiderme ovariana interna é unisseriada, porém com características celulares distintas em cada espécie. *Eugenia punicifolia* apresenta células cubóides e justapostas, de paredes periclinais levemente espessadas (figura 16) de natureza péctica e conteúdo fenólico (figura 16), como a epiderme externa; na região de placentação, as células epidérmicas internas são alongadas radialmente. *Myrcia bella* possui células levemente alongadas no sentido radial, de paredes periclinais espessadas (figura 18) e núcleos evidentes. Já *Campomanesia pubescens* tem células fenólicas alongadas radialmente, de paredes periclinais internas mais espessadas que as demais (figura 22).

Em *E. punicifolia* e *M. bella*, há grande quantidade de idioblastos fenólicos na região de placentação. Nas três espécies, pode-se observar que há uma abertura que comunica os lóculos do ovário na região mediana do septo (figuras 9, 19). As células que delimitam esta área apresentam paredes primárias espessadas e lume reduzido.

Fruto em desenvolvimento

As modificações ocorridas nos frutos em desenvolvimento de cada espécie são particulares (tabela 1) e, portanto, a descrição será feita separadamente.

Durante o desenvolvimento do fruto de *Eugenia punicifolia*, ocorrem, em todas as camadas do pericarpo, numerosas divisões celulares nos diversos planos, que aumentam o número de camadas de todas as regiões do ovário em desenvolvimento, iniciando-se pelas mais internas (figura 23) e, posteriormente, atingindo as mais externas (figura 24). Na epiderme externa, diferenciam-se alguns estômatos anomocíticos.

Há aumento do espessamento péctico-celulósico (figura 56) das paredes das células da região fundamental, que se assemelham a células colenquimáticas (figura 56). Aumenta o calibre dos feixes vasculares (figura 23), pela adição de células xilemáticas e floemáticas, atingindo seu tamanho e desenvolvimento máximos (figura 24); também é observado o aumento do número de idioblastos fenólicos distribuídos pelo parênquima vascular (comparar figuras 23 e 24, figura 57).

Na região parenquimática interna, ampliam-se os espaços intercelulares (figura 23) que, ao final do desenvolvimento, predominam nas proximidades da epiderme interna (figura 24), cujas células também se afastam, apresentando arranjo laxo (figura 24).

Durante o desenvolvimento do fruto de *M. bella*, também ocorrem divisões celulares em todas as regiões do pericarpo, responsáveis pelo aumento do número de camadas no fruto em desenvolvimento como um todo.

No exocarpo, desenvolvem-se alguns estômatos (figura 33), que se mantém até a maturação (figura 45). A maioria das células do exocarpo e do mesocarpo externo deixam de apresentar conteúdo fenólico (figuras 26-28, 30-34, 62-64). Nas regiões distais do fruto em desenvolvimento, subepidermicamente, é possível observar a formação de periderme de cicatrização, principalmente na região do disco floral e na base das sépalas (figuras 25, 30).

Á medida em que o fruto se desenvolve e há divisões celulares nas camadas mais periféricas (exocarpo e mesocarpo externo), formam-se novas cavidades secretoras (figuras 26-28, 30-32), havendo, portanto, cavidades em início de desenvolvimento ao lado de cavidades em atividade de secreção. O desenvolvimento das cavidades é, inicialmente, esquizógeno, evidenciado pelo afastamento das células presentes no interior da cavidade (figura 28). Tais cavidades apresentam, em seu interior, conteúdo que reage positivamente aos testes com vermelho de Sudão IV, preto de Sudão B e acetato de cobre associado a ácido rubeânico (figura 65), indicando a presença de lipídeos totais e ácidos graxos.

O espessamento parietal existente nas células da região fundamental mediana deixa de ser evidente no mesocarpo médio (figuras 27-28, 31-34). Os feixes aumentam de calibre pela adição de células xilemáticas e floemáticas (figuras 27, 31-32, 34).

No mesocarpo interno, após leve compressão tangencial ocasionada pelo crescimento seminal (figura 31), surgem espaços intercelulares conspícuos (figura 32). Observa-se acúmulo de compostos fenólicos lipofílicos (figura 62-64, tabela 2) em muitas células desta região, originando camadas fenólicas próximas ao endocarpo. As camadas celulares em contato com o endocarpo, que são originadas por divisão anticlinal das células epidérmicas internas (figura 29), também têm suas paredes espessadas, porém não acumulam substâncias (figuras 32, 34).

No endocarpo, durante o desenvolvimento, o espessamento das paredes periclinais internas e externas, deixa de ser evidente (comparar figuras 29 e 32). No início do desenvolvimento, ainda é possível localizar a região do compitum (figura 25), que, à medida que a semente se desenvolve, deixa de ser identificado, pois os lóculos que não apresentam semente em desenvolvimento são colapsados (figura 30).

Durante o desenvolvimento do fruto de *C. pubescens*, da mesma maneira que nas outras duas espécies, há intensa atividade mitótica, resultando em um grande aumento do número de camadas de todas as regiões do fruto (figuras 35, 38, 41). As células do exocarpo começam a adquirir aspecto papiloso e os tricomas tectores começam a escassear até que deixam de ser encontrados. As cavidades secretoras presentes no mesocarpo externo encontram-se totalmente desenvolvidas (figuras 35-36, 38, 41), com células epiteliais de conteúdo fenólico lipofílico (tabela 2), e em atividade de secreção, evidenciada pela presença de conteúdo lipídico no lume da cavidade.

Algumas células localizadas perifericamente no mesocarpo médio aumentam de volume e têm suas paredes espessadas e lignificadas (figuras 35-36), originando esclereídes isoladas ou em pequenos grupos (figura 36), em cujas paredes, quando totalmente desenvolvidas, observam-se pontoações simples e ramificadas (figura 39). À medida que o desenvolvimento avança, por este mesmo processo, formam-se esclereídes também nas porções mais internas do mesocarpo médio (figuras 38, 41), embora nestas regiões elas ocorram em menor número.

Há aumento no número de idioblastos fenólicos na porção periférica do mesocarpo médio (figuras 35, 38). Nota-se, também aumento na quantidade de idioblastos cristalíferos com drusas.

Semelhantemente ao que acontece com *E. punicifolia* e *M. bella*, todos os feixes vasculares aumentam de calibre, pela adição de células xilemáticas e floemáticas (figura 41), e encontram-se muitos idioblastos fenólicos no parênquima vascular.

Ocorre também, nesta fase, o concrescimento do endocarpo com o tegumento seminal (figura 40). As células mais internas do mesocarpo médio alongam-se no sentido radial (figura 42), aumentando grandemente de volume. Este processo difunde-se até a região dos feixes mais calibrosos, e origina a polpa carnosa do fruto.

As células do mesocarpo interno não alteram seu tamanho (figura 42), e cavidades secretoras continuam a se desenvolver (figura 37), até que atinjem estádio de secreção (figuras 40, 42).

Fruto maduro

O fruto maduro de *Eugenia punicifolia* é simples, carnoso e indeiscente (figuras 3-5), de cálice marcescente (figuras 3-4). Seu formato é obovado (figura 3) a elíptico (figura 4), apresentando comprimento cerca de duas vezes maior que a largura (figura 3). Possui uma ampla semente que preenche a cavidade seminal (figuras 4-5); eventualmente podem se formar duas ou três sementes. Na maturidade, o fruto tem cor vermelha intensa e superfície glabra, lisa e brilhante.

No pericarpo, o amadurecimento é caracterizado por alterações mesocárpicas. Alguns grupos aleatórios de células próximos ao endocarpo, mais comumente ao redor dos feixes vasculares, aumentam de volume, alongando-se principalmente no sentido radial, e suas paredes celulares tornam-se muito delgadas (figura 43). No mesocarpo médio e interno, há grande aumento de volume das células, que constituem a região suculenta do fruto (figura 43). Somente as células das camadas mais internas do mesocarpo interno não têm seu tamanho alterado, porém ampliam-se os espaços intercelulares (figura 43).

Quando comparado ao ovário (verificar figura 14), nota-se que o pericarpo maduro mantém sem grandes alterações a epiderme externa e a região fundamental externa (figura 43). A suculência do fruto se restringe às regiões fundamentais mediana e interna, como descrito anteriormente. A epiderme interna mantém-se unisseriada, embora com arranjo laxo. Não é mais constatada a presença de compostos fenólicos nas células mesocárpicas.

O fruto de *Myrcia bella* também é uma baga, de formato globóide (figuras 6-8). Sua coloração quando maduro é púrpura intenso. Sua superfície é lisa, glabra e brilhante. O cálice é marcescente (figuras 6, 8). Geralmente apresenta-se monospérmico (figuras 7-8), porém foram encontrados frutos com duas ou, mais raramente, três sementes.

No fruto maduro de *M. bella*, observam-se estômatos (figura 45) e as cavidades secretoras encontram-se colapsadas pela expansão das células do mesocarpo médio (figura 44). Ocorre grande aumento de volume das células do mesocarpo médio e interno, principalmente (figuras 34, 44), originando a polpa carnosa do fruto. Este processo se inicia nas camadas mais internas (próximas ao endocarpo) e é dissipado por todo o mesocarpo, exceto externo (figura 44). No mesocarpo interno, os idioblastos que possuíam conteúdo fenólico, da mesma maneira que em *E. punicifolia*, deixam de apresentá-lo (figuras 44). Devido ao crescimento da semente, o endocarpo passa a apresentar formato achatado tangencialmente (figura 44).

O fruto de *Campomanesia pubescens* é uma baga de coloração amarela quando madura, que apresenta número variável de sementes, normalmente uma por lóculo. O cálice também é marcescente (figuras 11-12). A superfície do fruto é ligeiramente rugosa e não apresenta pilosidade. O formato é globular levemente achatado no sentido do comprimento (figuras 11-13).

O exocarpo maduro é formado por células de aspecto papiloso (figura 47), com estômatos projetados externamente e câmara subestomática evidente (figura 47).

No amadurecimento, as células do mesocarpo médio aumentam ainda mais de volume e as suas paredes chegam a ser desintegradas (figura 48), originando a polpa carnosa do fruto.

O mesocarpo interno apresenta células de paredes pécticas fortemente coradas (figura 48) e, juntamente com o endocarpo, mostra-se fortemente aderido ao tegumento seminal.

O conteúdo da cavidade secretora não foi preservado em nenhuma das três espécies.

DISCUSSÃO

Muitos autores enquadraram o desenvolvimento de frutos carnosos em estádios de desenvolvimento (Lilleland 1930, 1932, 1933, Tukey & Young 1939, Nitsch 1953), registrando que há um período inicial de divisão celular intensa, seguido por um período de expansão ou alongamento celular. Estas fases foram reconhecidas durante o desenvolvimento dos frutos de *E. punicifolia*, *M. bella* e *C. pubescens*, confirmando as observações dos referidos autores.

Os frutos carnosos das espécies de Myrtoideae são comumente referidos como bagas (Dahlgren & Thorne 1984, Barroso *et al.* 1991, Judd *et al.* 1999, Souza & Lorenzi 2005). Barroso *et al.* (1999) classificaram os frutos das Myrtaceae sul-americanas como bacóides, que são frutos carnosos e indeiscentes, com pericarpo muito ou pouco espessado e endocarpo formado apenas pela epiderme interna, que nunca é lenhosa, esclerificada ou coriácea, e com número de sementes variável. Os dados obtidos neste trabalho permitem afirmar que os frutos de *E. punicifolia* e *M. bella* enquadram-se no subtipo bacáceo, descrito por Barroso *et al.* (1999) para espécies de *Eugenia* e *Myrcia*, no qual há variação na espessura do pericarpo e as sementes (geralmente poucas) não são envolvidas por polpa. Já os frutos de *Campomanesia* são classificados como campomanesoídeos, cujo pericarpo é carnoso e há um tecido pulposo central no qual dispõem-se os lóculos radialmente (Barroso *et al.* 1999), assim como é o fruto de *C. pubescens*.

Frutos como os de *E. punicifolia* e *M. bella* com grande suculência e coloração atrativa, relacionam-se à dispersão zoocórica (Pijl 1969). Especificamente para Myrtaceae, Pizo (2002) relacionou aves e mamíferos como agentes dispersores.

Nas três espécies estudadas, como na maioria das Myrtoideae, o número de sementes maduras é muito menor que o número de óvulos presentes no ovário (Nic Lughadha & Proença 1996). Esta redução é uma tendência nas Myrtaceae (Barroso *et al.* 1999) e, segundo Landrum

(1986), é consequência do aumento de investimento em um embrião único por fruto, que o autor considera que poderia aumentar as chances de sucesso de propagação dessas espécies.

O número variável de lóculos nos ovários de *Campomanesia* relaciona-se, provavelmente, ao tamanho da flor, podendo atingir até 18 lóculos (Landrum 1982). Como a unidade de dispersão de *C. pubescens* é a semente somada à porção pericárpica aderida a ela, quanto maior o número de lóculos, maior a probabilidade de sucesso na reprodução.

Embora não tenha sido feito teste microquímico específico para detecção de taninos mas inferindo-se que os compostos fenólicos observados em todas as fases do desenvolvimento dos frutos das três espécies estudadas sejam taninos, confirma-se a referência de que as Myrtaceae são caracteristicamente taniníferas (Metcalfe & Chalk 1950). A presença de taninos protege contra possíveis ataques de microorganismos (Swain 1979), e sua distribuição por toda a camada epidérmica e subepidérmica, como ocorre nos ovários e frutos das três espécies, pode representar uma função protetora contra insetos e patógenos (Schmid 1972), os quais são freqüentes no cerrado, bioma ao qual as espécies estão adaptadas. Estes compostos fenólicos, durante a maturação, são convertidos em açúcares em *Myrciaria dubia* (Maria Olívia Gaspar Corrêa, com. pess.).

A presença de cavidades secretoras nos vários órgãos de Myrtaceae é amplamente referida na literatura e diferentes origens têm sido sugeridas, provavelmente devido às técnicas histológicas utilizadas (Carr & Carr 1970). Para Welch (1923), que estudou cavidades de órgãos vegetativos de espécies de Leptospermoideae, as cavidades apresentam desenvolvimento esquizolisígeno. Carr & Carr (1970) referiram-se a cavidades esquizógenas em embriões de *Eucalyptus*. Em folhas de *Myrtus communis*, Kalachanis & Psaras (2005) observaram cavidades esquizógenas, declarando que este tipo de desenvolvimento parece ser o mais comum para

espécies de Myrtaceae. As cavidades observadas nos ovários e frutos das três espécies estudadas reforçam o registrado por Carr & Carr (1970) e Kalachanis & Psaras (2005), contudo ressalva-se a necessidade de estudos envolvendo microscopia eletrônica para elucidação dos processos envolvidos na formação de tais estruturas.

Os frutos das três espécies são originados a partir de ovários ínferos, nos quais a delimitação do receptáculo e do ovário não é nítida. Mauseth (1988) declarou que frutos provenientes de ovários ínferos poderiam ser considerados "falsos-frutos", devido à presença de tecidos de origem receptacular e do perianto na constituição dos mesmos. O autor sugere, então, o uso do termo "parede-do-fruto", indicando a participação de tecidos acessórios na formação do fruto, como ocorre com as espécies estudadas; contudo, o uso amplamente difundido do termo pericarpo fez com que este termo fosse utilizado, com a ressalva de que há partes não carpelares na constituição dos pericarpos aqui estudados.

Campomanesia pubescens apresentou tricomas na epiderme externa, limitados às fases iniciais de desenvolvimento dos frutos (ovário do botão floral até fruto em desenvolvimento); em *E. punicifolia* e *M. bella*, estas estruturas encontraram-se restritas às extremidades das sépalas. A presença de tais estruturas é considerada usualmente, mais efetiva em frutos jovens, nos quais relacionam-se à redução da transpiração e proteção, principalmente quando estes ainda não são recobertos por cutícula ou ceras (Roth 1977).

O mesocarpo maduro das espécies estudadas é formado predominantemente por parênquima de células volumosas com paredes delgadas e vacúolos grandes, com conteúdos diferenciados, como compostos fenólicos, conforme o sugerido por Roth (1977) para o mesocarpo de bagas.

Barroso *et al.* (1999) inferiram uma origem placentar à polpa dos frutos de Myrtaceae, e cita como exemplo o fruto de "gabirobas", nome popularmente utilizado para *C. pubescens*. No presente trabalho, pôde-se observar que a origem da polpa do fruto de tal espécie não é placentar, mas sim mesocárpica, diferindo das observações dos referidos autores.

Somente o pericarpo de *C. pubescens* apresentou esclereídes, especificamente no mesocarpo. Roth (1977) reportou a ocorrência de células pétreas em muitas bagas, onde aparecem agrupadas em determinadas regiões ou dispersas por todo o pericarpo. A autora ainda declarou que o surgimento destas células pode se dar por esclerificação de células parenquimáticas comuns, como ocorre na referida espécie, ou a partir de células que são precocemente individualizadas como primórdios de esclereides.

Segundo as observações de Landrum (1986), em frutos de *Campomanesia* encontrados parcialmente comidos sob árvores, pôde-se observar que os lóculos são evitados, mantendo a integridade das sementes. Isto se deve, principalmente, à adesão das camadas mais internas do mesocarpo interno e do endocarpo à semente, como verificado aqui. Segundo Landrum (1986), os frutos consumidos por animais teriam seus lóculos evitados devido ao sabor produzido pelas cavidades secretoras presentes naquelas regiões.

Os frutos das espécies estudadas apresentaram algumas características comuns e outras particulares. Sugere-se, então, mais estudos relacionados à ontogênese de frutos de espécies de Myrtoideae, a fim de se verificar se tais características estão relacionadas às subtribos e/ou aos gêneros.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e ao CNPq, pelas bolsas de mestrado concedidas à primeira autora.

À Dra. Denise Maria Trombert de Oliveira, da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, e à Dra. Ana Paula Stechhahn Lacchia, por sugestões no manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROSO, G.M., PEIXOTO, A.L., ICHASO, C.L.F., COSTA, C.G. & GUIMARÃES, E.F. 1991. Sistemática de Angiospermas do Brasil. Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

BARROSO, G.M., MORIN, M.P., PEIXOTO, A.L. & ICHASO, C.L.F. 1999. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Editora UFV, Viçosa.

BASE DE DADOS TROPICAL. Disponível em http://www.bdt.com.br Acesso em 20 jan. 2007.

BERG, O. 1855-1856. Revisio Myrtacearum Americae huc usque cognitarum s. Klotzschii "Flora Americae aequinoctialis" exhibens Myrtaceas. Linnaea 27:1-472 *apud* LANDRUM, L.R. & KAWASAKI, M.L. 1997. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. Brittonia 49:508-536.

BERG, O. 1857-1859. Myrtaceae. *In* Flora Brasiliensis (C.F.P. von Martius, ed.). v.14., p.1-655 *apud* LANDRUM, L.R. & KAWASAKI, M.L. 1997. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. Brittonia 49:508-536.

BRIGGS, B.G. & JOHNSON, L.A.S. 1979. Evolution in the Myrtaceae – evidence from inflorescence structure. Proceedlings of the Linnean Society of New South Wales Ser. 2, 102:157-256.

CAIN, A.J. 1947. The use of Nile Blue in the examination of lipids. Quarterly Journal of Microscopical Science 88:383-392.

CARR, D.J. & CARR, S.M.G. 1970. Oil glands and ducts in Eucalyptus L'Hérit. II. Development and structure of oil glands in the embryo. Australian Journal of Botany 18:191-212. CRONQUIST, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.

DAHLGREN, R. & THORNE, R.F. 1984. The order Myrtales: circumscription, variation, and relationships. Annals of the Missouri Botanical Garden 71:633-699.

DURIGAN, G., BAITELLO, J.B., FRANCO, G.A.D.C. & SIQUEIRA, M.F.de. 2004. Plantas do Cerrado Paulista. Páginas e Letras Editora e Gráfica, São Paulo.

FISCHER, D.B. 1968. Protein staining of ribboned Epon sections for light microscopy. Histochemie 16: 92-96.

GANTER, P. & JOLLÉS, G. 1969, 1970. Histologie normale et pathologique. Vols. I e II. Gauthier – Villars. Paris.

GENTIL, D.F.O. & CLEMENT, C.R. 1997. The araza (*Eugenia stipitata*): results and research directions. Acta Horticulturae 452:9-17.

GERRITS, P.O. & SMID, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. Journal of Microscopy 132:81-85.

GREGORY, M. & BAAS, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. Israel Journal of Botany 38:125-174.

HERINGER, E.P., BARROSO, G.M., RIZZO, J.A. & RIZZINI, C.T. 1997. A flora do cerrado. In Anais do IV Simpósio sobre o cerrado (FERRI, M.G., ed.). Livraria Itatiaia Editora, Belo Horizonte e Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, p.211-232. IKEDA, M. 1979. Studies on fruit characteristics and seedless fruit formation of semarang rose apple, *Syzygium javanicum* Merr. & Perry, in south Vietnum. Memoirs of the Faculty of Agriculture (Kagoshima University) 15:55-62.

JENSEN, W.A. 1962. Botanical histochemistry WH Freeman and Co, San Francisco.

JOHANSEN, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.

JORGE, L.I.F., AGUIAR, J.P.L. & SILVA, M.L.P. 2000. Anatomia foliar de pedra-hume-caá (*Myrcia sphaerocarpa*, *Myrcia guianensis*, *Eugenia punicifolia* – Myrtaceae). Acta Amazonica 30:49-57.

JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.F. 1999. Plant Systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates Inc. Publishers, Massachusetts.

KALACHANIS, D. & PSARAS, G.K. 2005. Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communis* leaves. Biologia Plantarum 49:105-110.

LANDRUM, L.R. 1982. The development of the fruits and seeds of *Campomanesia* (Myrtaceae). Brittonia 34:220-224.

LANDRUM, L.R. 1986. *Campomanesia*, *Pimenta*, *Blepharocalyx*, *Legrandia*, *Acca*, *Myrrhinium*, and *Luma* (Myrtaceae). Flora Neotropica. Monogr. 45. New York Botanical Garden, New York.

LANDRUM, L.R. & KAWASAKI, M.L. 1997a. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. Brittonia 49:508-536.

LANDRUM, L.R. & KAWASAKI, M.L. 1997b. A rare and potentially economic fruit of Brazil: cambuci, *Campomanesia phaea* (Myrtaceae). Economic Botany 51:403-407.

LILLELAND, O. 1930. Growth study of the apricot fruit. Proceeding of the American Society for Horticultural Science 27:237-245.

LILLELAND, O. 1932. Growth study of the peach fruit. Proceeding of the American Society for Horticultural Science 29:8-12.

LILLELAND, O. 1933. Growth study of the plum fruit – I. The growth and changes in chemical composition of the climax plum. Proceeding of the American Society for Horticultural Science 30:203-208.

LILLIE, R.D. 1965. Histopathologic technic and practical histochemistry. 3.ed. McGraw Hill, New York.

MAUSETH, J.D. 1988. Plant anatomy. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., California.

MERRILL, E.D. & PERRY, L.M. 1939. The myrtaceous genus *Syzygium* Gaertner in Borneo. Memoirs of the American Academy of Arts and Science 18:135-202.

METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. Anatomy of the Dicotyledons. 2 Vols. Oxford University Press, London.

MORI, S.A., BOOM, B.M., CARVALINO, A.M.de & SANTOS, T.S.dos. 1983. Ecological importante of Myrtaceae in an eastern brazilian wet forest. Biotropica 15:68-70.

NIC LUGHADHA, E.N. & PROENÇA, C. 1996. A survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). Annals of the Missouri Botanical Garden 83:480-503.

NIC LUGHADHA, E.N. & SNOW, N. 2000. Biology and evolution of the Myrtaceae: a symposium. Kew Bulletin 55:591-592.

NIEDENZU, F. 1893. Myrtaceae. *In* Die Naturlichen Pflanzenfamilien III (7) (H.G.A. Engler & K.A.E. Prantl, eds.). Engelmann, Leipzig, p.57-105 *apud* SCHMID, R. 1980. Comparative

anatomy and morphology of *Psiloxylon* e *Heteropyxis*, and the subfamilial and tribal classification of Myrtaceae. Taxon 29:559-595.

NITSCH, J.P. 1953. The physiology of fruit growth. Annual Review of Plant Physiology 4:199-236.

O'BRIEN, T.P., FEDER, N. & MCCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59:368-373.

PEARSE, A.G.E. 1980. Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology. 4.ed. Churchill Livingston, Edinburg.

PIZO, M.A. 2002. The seed-dispersers and fruit syndromes of Myrtaceae in the brazilian Atlantic forest. *In* Seed dispersal and frugivory: ecology, evolution and conservation (D.J. Levey, W.R. Silva & M. Galetti, eds.). CABI Publishing, Wallingford, p.129-143.

PIZZOLATO, T.D. & LILLIE, R.D. 1973. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. Journal of Histochemistry and Cytochemistry 21:56-64.

PROENÇA, C.E.B. & GIBBS, P.E. 1994. Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. New Phytologist 126:343-354.

PIJL, L. van der. 1969. Principles of dispersal in higher plants. Heidelberg & New York, Belim.

ROTH, I. 1977. Fruits of Angiosperms. Gebruder Borntraeger, Berlim.

RYE, B.L. & JAMES, S.H. 1992. The relationship between dysploidy and reproductive capacity in Myrtaceae. Australian Journal of Botany 40:829-848.

SCHMID, R. 1972. A resolution of the *Eugenia*-Syzygium controversy (Myrtaceae). American Journal of Botany 59:423-436.

SCHMID, R. 1980. Comparative anatomy and morphology of Psiloxylon e Heteropyxis, and the subfamilial and tribal classification of Myrtaceae. Taxon 29:559-595.

SILVA, R.S.M., CHAVES, L.J. & NAVES, R.V. 2001. Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) no sudeste do estado de Goiás, Brasil. Revista Brasileira de Fruticultura 23:330-334.

SOUZA, V.S. & LORENZI, H. 2005. Botânica Sistemática. Instituto Plantarum, Nova Odessa.

SWAIN, T. 1979. Tanins and lignins. *In* Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites (G.A. Rosenthal & D.H. Janzen, eds.). Academic Press, New York, p.657-682.

TUKEY, H.B. & YOUNG, J.O. 1939. Histological study of the developing fruit of the sour cherry. Botanical Gazette 100:723-749.

WELCH, M.B. 1923. The occurrence of secretory canals in certain myrtaceous plants. Proceedlings of the Linnean Society of New South Wales 48:660-673.

WILSON, P.G., O'BRIEN, M.M., GADEK, P.A. & QUINN, C.J. 2001. Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. American Journal of Botany 88:2013-2025.

Tabela 1. Tabela comparativa de ovários e frutos em desenvolvimento e maduros de *Eugenia punicifolia*, *Myrcia bella* e *Campomanesia pubescens*.

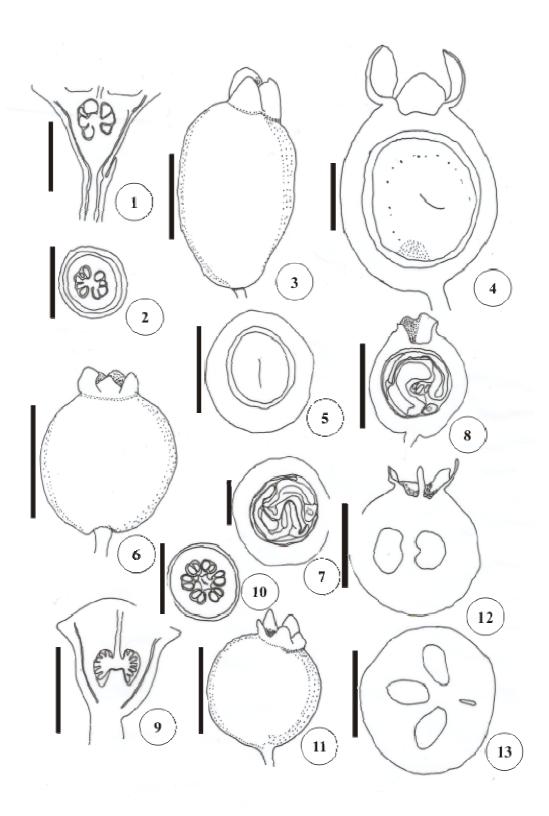
Região		Eugenia punicifolia			Myrcia bella			Campomanesia pubescens		
		Ovário	Frutos em desenvolvi- mento	Fruto maduro	Ovário	Frutos em desenvolvi- mento	Fruto maduro	Ovário	Frutos em desenvolvi- mento	Fruto maduro
Epiderme externa/exocarpo		paredes periclinais externas e internas espessadas	surgimento estômatos	sem modificações	paredes periclinais externas mais espessas que as demais	surgimento estômatos; perda conteúdo fenólico	sem modificações	estômatos e tricomas tectores	queda tricomas	células de aspecto papiloso
Região funda- mental/ meso- carpo	Externa	3-5 camadas; paredes celulares pouco espessadas; cavidades secretoras	divisões mitóticas	sem modificações	1-3 camadas; células de paredes pécticas pouco espessadas	divisões mitóticas; perda conteúdo fenólico	sem modificações	2-3 camadas; paredes celulares delgadas; cavidades secretoras	divisões mitóticas; perda conteúdo fenólico	sem modificações
	Média	3-6 camadas	divisões mitóticas; espessamen- to parietal péctico	células aumentam de volume, alongando-se radialmente	cerca de 10 camadas; no limite externo desta região, há cavidades secretoras	divisões mitóticas; espessamento parietal deixa de ser evidente	grande aumento de volume das células	várias camadas; idioblastos lipofenólicos e cristalíferos com drusas dispersos	divisões mitóticas; surgimento esclereídes; células internas alongam-se radialmente	células aumentam ainda mais de volume e suas paredes chegam a ser desintegradas
	Interna	paredes celulares pouco espessadas; camadas mais internas com células achatadas tangencial- mente	divisões mitóticas; surgimento espaços intercelulares	células aumentam de volume, alongando-se radialmente; as mais internas não têm seu tamanho alterado	células de paredes delgadas, achatadas tangencialmen te nas camadas mais internas	divisões mitóticas; surgimento espaços intercelulares	grande aumento de volume das células; idioblastos deixam de apresentar conteúdo fenólico	células de paredes delgadas e núcleos conspícuos; há cavidades secretoras	sem modificações	sem modificações
Epiderme interna/endocarpo		células cubóides e justapostas, de paredes periclinais levemente espessadas	afastamento células	afastamento das células	células alongadas radialmente, de paredes periclinais espessadas	espessamento das paredes periclinais internas e externas, deixa de ser evidente	formato achatado tangencial- mente	células alongadas radialmente, de paredes periclinais internas mais espessadas	espessamento parietal	fortemente aderido à semente

Tabela 2. Testes histoquímicos realizados em ovários e frutos em desenvolvimento e maduros de *Eugenia punicifolia*, *Myrcia bella* e *Campomanesia pubescens*. (+): positivo, (-): negativo, cut.: cutícula; e.c.s.: epiderme da cavidade secretora; e.e.: epiderme externa; idiob. floema: idioblastos do floema; i.m.: idoblastos do mesocarpo; idiob. r.f.: idioblastos da região fundamental do ovário; l.c.s.: lume da cavidade secretora; m.m.: mesocarpo mediano; r.f.m.: idioblastos da região fundamental mediana do ovário; r.m.m.: idioblastos do mesocarpo médio).

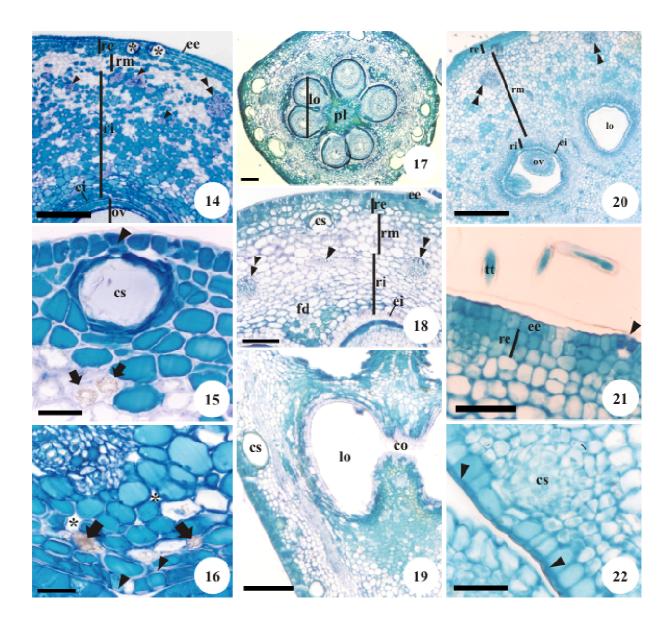
Testes		Eugenia punicifol	ia		Myrcia bella		Campomanesia pubescens		
Histoquímicos	Ovário	Frutos em desenvolvimento	Fruto maduro	Ovário	Frutos em desenvolvimento	Fruto maduro	Ovário	Frutos em desenvolvimento	Fruto maduro
vermelho de Sudão IV	(+) l.c.s., cut.	(+) l.c.s.	(+) cut.	(+) l.c.s., cut.	(+) l.c.s.	(+) cut.	(+) l.c.s., cut.	(+) l.c.s.	(+) cut.
preto de Sudão B	(+) l.c.s., e.c.s., r.f., cut.	(+) l.c.s., e.c.s., cut.	(+) cut.	(+) l.c.s.; cut.	(+) l.c.s., e.c.s., cut.	(+) cut.	(+) l.c.s., cut.	(+) l.c.s., e.c.s., cut.	(+) cut.
sulfato azul do Nilo	(+) l.c.s.	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
acetato de cobre / ácido rubiânico	(+) l.c.s., cut.	(+) l.c.s., e.c.s., i.m.	(-)	(+) r.f., e.c.s., idiob. floema	(+) i.m., e.c.s., idiob. floema	(+) e.c.s., idiob. floema	(+) r.f.	(+) r.f.	(-)
cloreto férrico	(+) r.f.	(+) i.m.	(-)	(+) e.e., e.c.s., r.f.	(+) i.m.	(+) i.m., idiob. floema	(+) e.e., e.c.s.	(-)	(+) e.c.s., exocarpo
dicromato de potássio	(+) r.f.	(+) e.c.s., i.m.	(+) i.m.	(+) r.f.	(+) e.c.s., i.m.	(+) e.c.s., i.m.	(+) r.f.	(+) e.c.s., i.m.	(+) e.c.s., i.m.
PAS	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
lugol	(-)	(+) mesoc. (grãos de amido)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
vermelho de rutênio	(-)	(-)	(-)	(+) comp., par. cel. e.i.	(+) par. cel.	(-)	(-)	(-)	(-)
azul de alcião ácido tânico/cloreto férrico	(-) (+) l.c.s., r.f.m.	(-) (+) l.c.s., par. cel. mesoc.	(-) (-)	(-) (-)	(-) (-)	(-) (-)	(-) (-)	(-) (-)	(-) (+) paredes das células do mesocarpo
azul brilhante de comassie	(+) l.c.s., r.f.m.	(+) l.c.s., i.m.	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

FIGURAS-CAPÍTULO 1

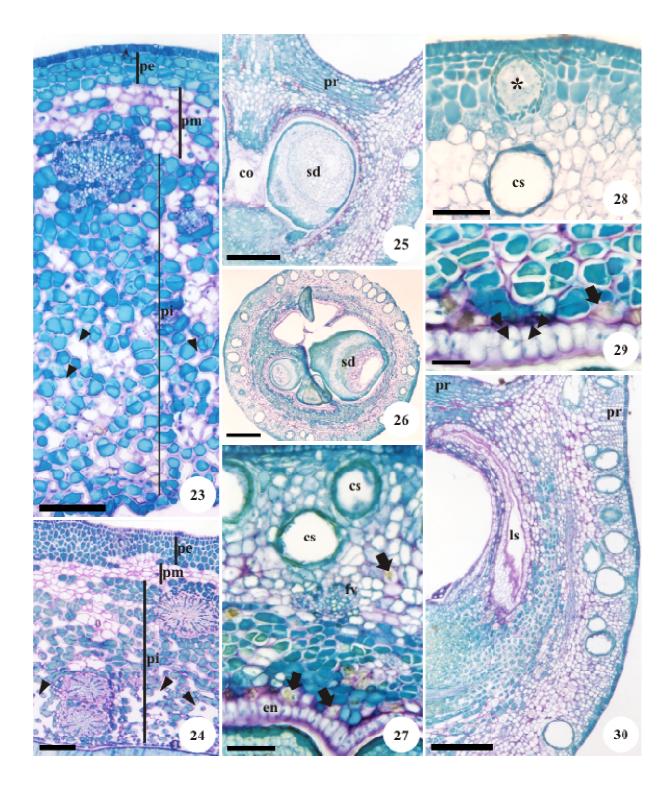
Figuras 1–13. Esquemas dos ovários de botões florais e frutos maduros. 1-5. *Eugenia punicifolia*. 1-2. Ovário. 1. Secção longitudinal. 2. Secção transversal. 3-5. Fruto maduro. 3. Aspecto geral. 4. Secção longitudinal mediana. 5. Secção transversal mediana. 6-8. Fruto maduro de *Myrcia bella*. 6. Aspecto geral. 7. Secção longitudinal mediana. 8. Secção transversal mediana. 9-13. *Campomanesia pubescens*. 9-10. Ovário. 9. Secção longitudinal. 10. Secção transversal. 11-13. Fruto maduro. 11. Aspecto geral. 12. Secção longitudinal mediana. 13. Secção transversal mediana. Barras = 0,5 cm (1-2, 7, 9-10), 1 cm (3-6, 8, 11-13).



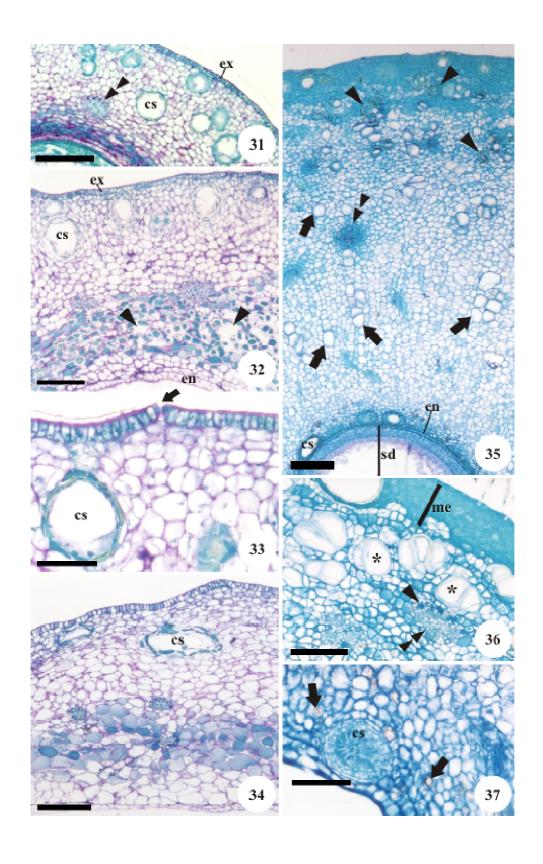
Figuras 14-22. Ovário do botão floral. Secções transversais (14-18, 20). Secções longitudinais (19, 21, 22). 14-16. Eugenia punicifolia. 14. Parede ovariana (ponta de seta = feixe vascular menos calibroso, asterisco = cavidade secretora). 15. Região externa, mostrando divisões celulares (ponta de seta) e destacando a presença de cavidade secretora. 16. Região interna (ponta de seta = parede periclinal da epiderme interna espessada, asterisco = espaço intercelular). 17-19. Myrcia bella. 17. Aspecto geral da parede ovariana, destacando a região de placentação. 18. Detalhe da figura anterior, mostrando feixes vasculares do mesofilo ovariano (ponta de seta = feixe vascular menos calibroso). 19. Aspecto geral da parede ovariana, destacando a região do compitum. 20-22. Campomanesia pubescens. 20. Parede ovariana. 21. Epiderme externa, destacando tricomas tectores e estômato (ponta de seta). 22. Região interna, mostrando cavidade secretora em início de desenvolvimento (ponta de seta = parede periclinal da epiderme interna espessada). (co = compitum; cs = cavidade secretora; dupla ponta de seta = feixe vascular mais calibroso; ee = epiderme externa do ovário; ei = epiderme interna do ovário; fd = feixe dorsal do carpelo; lo = lóculo; ov = óvulo; pl = placenta; re = região parenquimática externa; ri = região parenquimática interna; rm = região parenquimática mediana; seta = drusa; tt = tricoma tector). Barras = $30 \mu m$ (22), $35 \mu m$ (15, 16), $55 \mu m$ (21), $80 \mu m$ (18), $170 \mu m$ (19), $210 \mu m$ (17), $270 \mu m$ (14, 20).



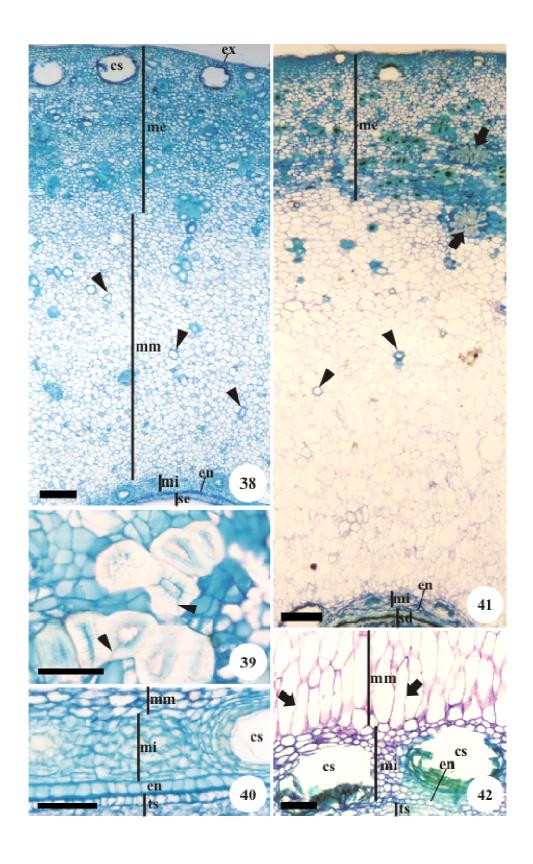
Figuras 23-30. Pericarpo de *Eugenia punicifolia* e *Myrcia bella* em desenvolvimento. Secções transversais (23-24, 26-29). Secções longitudinais (25, 30). 23-24. *Eugenia punicifolia*. 23. Pericarpo em início de desenvolvimento. 24. Pericarpo em desenvolvimento. 25-30. *Mycia bella*. 25. Aspecto geral, mostrando região do compitum. 26. Aspecto geral. 27. Parede ovariana em desenvolvimento. 28. Região externa, mostrando cavidade secretora em formação (asterisco) e cavidade secretora em atividade de secreção. 29. Epiderme interna, mostrando células em divisão periclinal (dupla ponta de seta). 30. Aspecto geral, mostrando lóculo sem semente sendo comprimido pelo desenvolvimento da semente do outro lóculo. (cs = cavidade secretora; co = compitum; en: endocarpo; fv = feixe vascular; ls = lóculo sem semente; me = mesocarpo externo; mi = mesocarpo interno; mm = mesocarpo médio; ponta de seta = espaço intercelular mesocárpico; pr = periderme; sd = semente em desenvolvimento; seta = drusa). Barras = 35 μm (29), 70 μm (27, 28), 140 μm (23), 200 μm (24), 210 μm (25), 270 μm (30), 330 μm (26).



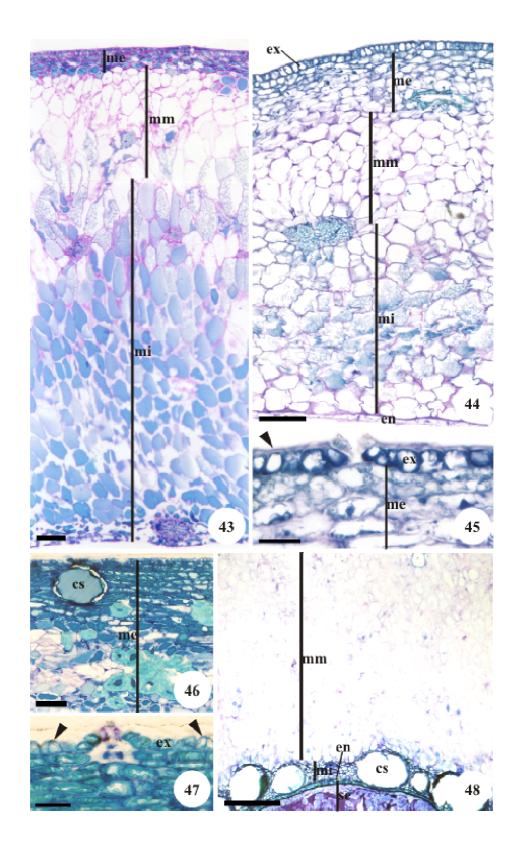
Figuras 31-37. Pericarpo de *Myrcia bella* e *Campomanesia pubescens* em desenvolvimento. Secções transversais, exceto 37 que é longitudinal. 31-34. *Myrcia bella*. 31. Parede do pericarpo. 32. Aspecto geral, mostrando espaços intercelulares (ponta de seta) no mesocarpo médio e interno. 33. Região externa, evidenciando estômato (seta). 34. Aspecto geral. 35-37. *Campomanesia pubescens*. 35. Aspecto geral, mostrando esclereídes lignificadas (ponta de seta) no mesocarpo externo e esclereídes em início de formação (seta). 36. Região externa, evidenciando o início do desenvolvimento das esclereídes (*) (ponta de seta = idioblasto de natureza mista no parênquima vascular). 37. Região interna, mostrando cavidade em início de desenvolvimento (seta = drusa). (cs = cavidade secretora; en = endocarpo; ex = exocarpo; me = mesocarpo externo; sd = semente em desenvolvimento; dupla ponta de seta = feixe vascular calibroso). Barras = 70 μm (33, 37), 140 μm (36), 170 μm (32), 200 μm (35), 210 μm (31, 34).



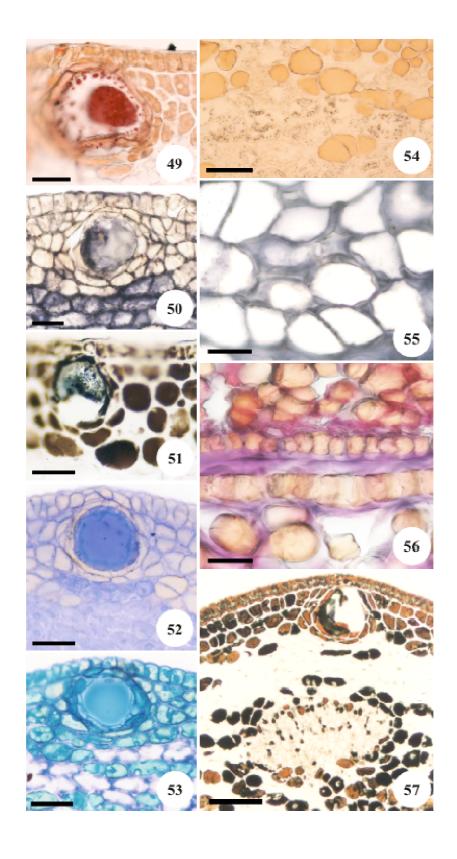
Figuras 38-42. Pericarpo de *Campomanesia pubescens* em desenvolvimento. Secções transversais. 38. Aspecto geral (ponta de seta = esclereídes). 39. Esclereídes do mesocarpo (ponta de seta = pontoações). 40. Região de concrescimento entre o pericarpo (endocarpo) e o tegumento seminal. 41. Aspecto geral do pericarpo quase maduro. 42. Região interna (mesocarpo interno e endocarpo) (seta = parede celular delgada). (cs = cavidade secretora; en = endocarpo; ex = exocarpo; me = mesocarpo externo; mi = mesocarpo interno; mm = mesocarpo médio; se = semente; ts = tegumento seminal). Barras = 70 μm (39, 40), 100 μm (42), 200 μm (38, 41).



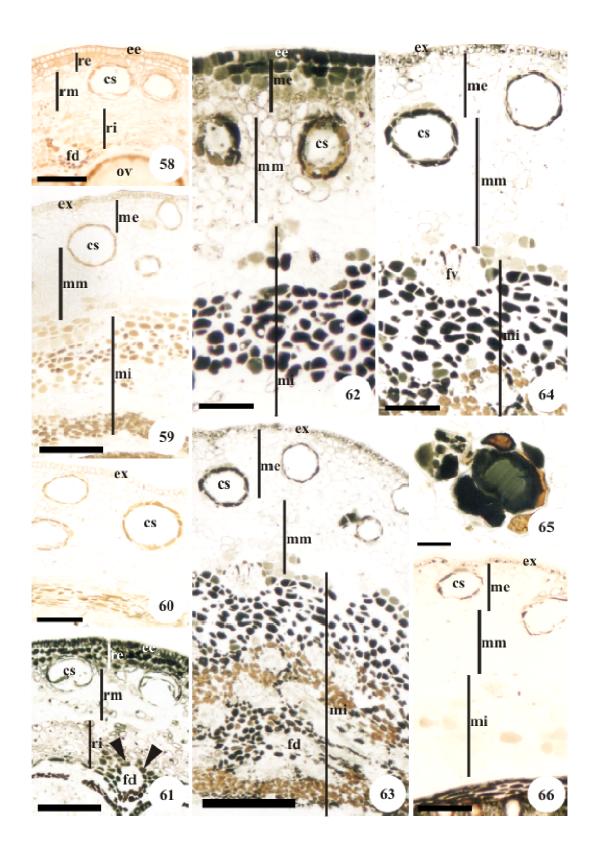
Figuras 43-48. Pericarpo maduro de *Eugenia punicifolia*, *Myrcia bella* e *Campomanesia pubescens*. Secções transversais. 43. Aspecto geral do pericarpo de *Eugenia punicifolia*. 44-45. *Myrcia bella*. 44. Aspecto geral. 45. Região externa, mostrando estômato e cutícula espessa (ponta de seta). 46-48. *Campomanesia pubescens*. 46. Região externa (exocarpo e mesocarpo externo), com cavidade secretora em atividade de secreção. 47. Região externa, mostrando estômato e células exocárpicas papilosas (ponta de seta). 48. Região interna (mesocarpo médio, mesocarpo interno e endocarpo), destacando as células do mesocarpo médio com paredes desintegradas. (cs = cavidade secretora; en = endocarpo; ex = exocarpo; me = mesocarpo externo; mi = mesocarpo interno; mm = mesocarpo médio; se = semente). Barras = 35 μm (45, 47), 100 μm (46), 140 μm (44), 200 μm (43), 330 μm (48).



Figuras 49-57. Testes microquímicos em Eugenia punicifolia. 49-50. Ovário de flor em antese. 49. Vermelho de Sudão IV, evidenciando reação positiva no lume da cavidade secretora e na cutícula (ponta de seta). 50. Ácido tânico e cloreto férrico, mostrando reação positiva com a secreção do lume da cavidade secretora e com os idioblastos lipofílicos da região fundamental mediana. 51. Preto de Sudão B, em fruto em desenvolvimento, reagindo positivamente com a cutícula, secreção do lume da cavidade secretora e idioblastos lipofílicos da região fundamental externa. 52. Azul brilhante de comassie, em flor em antese, reagindo positivamente com a secreção da cavidade secretora. 53. Sulfato azul do Nilo, em ovário de botão floral, apresentando reação positiva com o conteúdo das células da epiderme externa e das células secretoras da cavidade secretora e com a secreção do lume, e idioblastos da região fundamental externa. 54. Fruto em desenvolvimento com teste de lugol, evidenciando grãos de amido no mesocarpo. 55. Ácido tânico associado a cloreto férrico, em fruto em desenvolvimento, evidenciando paredes espessadas de natureza péctica do mesocarpo médio. 56. Vermelho de rutênio, em fruto em desenvolvimento, mostrando secreção do interior do lóculo sem semente e paredes espessadas do mesocarpo interno. 57. Acetato de cobre e ácido rubeânico, em flor em antese, com reação positiva na secreção da cavidade secretora e em alguns idioblastos da região fundamental externa, mediana e interna. Barras = $20 \mu m (55, 56)$, $35 \mu m (49,50)$, $40 \mu m (52)$, $55 \mu m (51, 53)$, $70 \mu m$ (54), $80 \mu m (57)$.



Figuras 58-66. Testes microquímicos em *Myrcia bella*. 58-60. Cloreto férrico. 58. Flor em antese. 59. Fruto em desenvolvimento. 60. Fruto quase maduro. 61-66. Acetato de cobre e ácido rubeânico. 61. Ovário do botão floral. 62. Fruto em início de desenvolvimento. 63-65. Fruto em desenvolvimento. 63. Aspecto geral. 64. Região do feixe dorsal do carpelo. 65. Reação positiva no conteúdo da cavidade secretora. 66. Fruto maduro. (cs = cavidade secretora, ex = exocarpo, fd = feixe dorsal do carpelo, fv = feixe vascular, me = mesocarpo externo, mi = mesocarpo interno, mm = mesocarpo médio, re = região parenquimática externa, ri = região parenquimática interna, rm = região parenquimática mediana, ov = óvulo). Barras = 30 μm (65), 70 μm (62, 64), 110 μm (64), 140 μm (58, 60, 61), 210 μm (59), 70 μm (54), 80 μm (57).



CAPÍTULO 2

MORFOLOGIA E ONTOGÊNESE DA SEMENTE DE *Eugenia punicifolia* (H. B. & K.) DC., *Myrcia bella* CAMB. E *Campomanesia pubescens* (DC.)

BERG (MYRTACEAE)

Morfologia e ontogênese de sementes de *Eugenia punicifolia* (H. B. & K.) DC., *Myrcia bella* Camb. E *Campomanesia pubescens* (DC.) Berg (Myrtaceae)¹³

Inara Regiane Moreira-Coneglian², Sandra Maria Carmello-Guerreiro^{2,4}, Denise Maria Trombert Oliveira³

¹ Parte da dissertação de Mestrado desenvolvida junto ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

² Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, CP6109, Universidade Estadual de Campinas, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

³ Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Caixa Postal 486, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil.

⁴ Autor para correspondência: smcg@unicamp.br

RESUMO

(Morfologia e ontogênese de sementes de Eugenia punicifolia (H. B. & K.) DC., Myrcia bella Camb. E Campomanesia pubescens (DC.) Berg (Myrtaceae)). O cerrado vem sendo destruído e os aspectos estruturais das plantas deste bioma são pouco conhecidos perante sua diversidade. Muitas espécies nativas da família Myrtaceae não possuem estudos de suas estruturas reprodutivas. Este trabalho descreve e compara anatomicamente o desenvolvimento seminal de Eugenia punicifolia, Myrcia bella e Campomanesia pubescens. O material vegetal foi processado seguindo técnicas anatômicas usuais. Os óvulos são campilótropos, com tegumento externo de três a quatro camadas celulares; o tegumento interno é formado por duas a três camadas de células em E. punicifolia, e duas em M. bella e C. pubescens. Em E. punicifolia, a calaza é extensa e amplamente vascularizada; observa-se a hipóstase. Nas outras espécies, a calaza é menos extensa, e não foi observada hipóstase. Durante o desenvolvimento, ocorre, em todas as espécies, maior crescimento na região anti-rafeal, originando uma semente reniforme. Em Eugenia punicifolia, a calaza se expande grandemente, evidenciando o desenvolvimento paquicalazal da semente. Em M. bella, forma-se uma pericalaza. Em C. pubescens, a expansão da calaza é restrita ao hilo. Em M. bella e C. pubescens, desenvolve-se a hipóstase. As células da exotesta alongam-se radialmente. Divisões celulares aumentam o número de camadas da mesotesta, e em Eugenia punicifolia e Myrcia bella, esta torna-se fenólica em todo o envoltório seminal. A epiderme interna da testa e o tegumento interno não apresentam modificações. Em C. pubescens, as camadas mais internas do mesocarpo e do endocarpo concrescem com o tegumento seminal. O eixo embrionário de E. punicifolia é curto e contínuo com os cotilédones espessos e parcialmente concrescidos; os de M. bella e C. pubescens são bastante alongados. Em M. bella, identifica-se dois cotilédones foliáceos plicados. Em C. pubescens, os cotilédones não foram encontrados anatomicamente. As sementes maduras são campilótropas. Na exotesta, há espessamentos secundários lignificados; Eugenia punicifolia possui uma camada paliçádica lignificada revestindo a semente. Em M. bella, depositam-se espessamentos em forma de "U", e em C. pubescens, origina-se uma camada de esclereídes. As células mesotestais de E. punicifolia apresentam espessamentos secundários; em M. bella e C. pubescens, elas permanecem sem lignificação e são comprimidas tangencialmente. No embrião da semente madura, diferenciam-se

idioblastos fenólicos e depositam-se grãos de amido no meristema fundamental nas três espécies e cavidades secretoras subepidérmicas em *E. punicifolia* e *M. bella*.

Palavras-chave: Myrtaceae, semente, Eugenia, Myrcia, Campomanesia

Introdução

O cerrado, vegetação que ocorre principalmente na região centro-norte do Brasil (Toledo-Filho *et al.* 1984), é considerado uma das mais ricas savanas do mundo (Klink 1996), representando um terço da biota brasileira (Alho & Martins 1995). Apesar disso, apenas 1% da vegetação existente há um século ainda resta (Zorzetto *et al.* 2003) e os aspectos estruturais das plantas deste bioma são, ainda, pouco conhecidos perante sua diversidade.

A família Myrtaceae é uma das mais representativas do cerrado (Mendonça *et al.* 1998; Heringer *et al.* 1997) e muitas espécies desta família ainda não possuem estudos referentes às suas estruturas reprodutivas (Schmid 1972); especialmente para espécies nativas das Américas, os registros são escassos e, quando existente, específicos.

As espécies sul-americanas de Myrtaceae pertencem à subfamília Myrtoideae, que é representada por 70 gêneros (Briggs & Johnson 1979) e 2.400 espécies (Nic Lughadha & Proença 1996). Myrteae, a única tribo desta subfamília, é dividida em três subtribos – Eugeniinae, Myrciinae e Myrtinae – baseando-se, principalmente, em características do embrião (Berg 1855-56, 1857-59).

As sementes das Myrtoideae variam em tamanho, estrutura do tegumento, morfologia do embrião (Nic Lughadha & Proença 1996) e também na espessura da testa (McVaugh 1968). Dados sobre a espessura dos tegumentos maduros e sua estrutura durante o desenvolvimento da semente, previamente ao seu espessamento, podem ter significado para comparações entre grupos (Tobe & Raven 1983) e, em muitas espécies e gêneros mal compreendidos, o conhecimento da estrutura da semente madura pode ser essencial para a disposição apropriada do táxon (McVaugh 1968).

Estudos comparativos com espécies das três subtribos encontradas em um mesmo bioma são inexistentes e poderiam fornecer informações importantes, principalmente sobre aspectos taxonômicos, ecológicos e evolutivos. São raras na literatura análises do desenvolvimento seminal de espécies nativas da subtribo Eugeniinae e Myrciinae; para a subtribo Myrtinae,

Landrum (1982), amostrou o desenvolvimento seminal de algumas espécies de *Campomanesia*, gênero com características bastante particulares. Dentre as espécies de Myrtaceae ocorrentes nos cerrados, encontram-se representantes das três subtribos (Durigan *et al.* 2004).

Eugenia L. é o segundo maior gênero de Myrtaceae, e, no Brasil, possui cerca de 350 espécies (Landrum & Kawasaki 1997a). Eugenia punicifolia (H. B. & K.) DC., conhecida popularmente como cereja-do-cerrado (Durigan et al. 2004), é um arbusto ocorrente nos cerrados da região sudeste do Brasil (Durigan et al. 2004), que floresce de maio a julho, e frutifica entre julho e setembro (BDT 2007), e que não apresenta estudos detalhados referentes à sua estrutura seminal.

O gênero *Myrcia*, membro da subtribo Myrciinae, é constituído por cerca de 400 espécies (Landrum & Kawasaki 1997a) distribuídas em todo o território brasileiro. *Myrcia bella* Camb. é um arbusto encontrado em cerrados típicos e cerradão (Durigan *et al.* 2004), cujos órgãos reprodutivos ainda não foram estudados morfoanatomicamente, embora seja uma espécie de grande representação em áreas de cerrado.

Campomanesia é um gênero representado por 24 espécies no Brasil (Landrum & Kawasaki 1997a). Segundo Landrum (1982), o desenvolvimento de frutos e sementes de espécies deste gênero da subtribo Myrtinae, não tem sido compreendido desde a descrição original do gênero por Ruiz e Pavón, em 1794, necessitando de estudos detalhados para a elucidação das etapas envolvidas em tal processo. Amplamente distribuída em regiões de cerrado (Landrum & Kawasaki 1997b), a espécie escolhida para este trabalho foi Campomanesia pubescens (DC.) Berg, um arbusto de campo sujo (Proença & Gibbs 1994) encontrado em Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná e Paraguai (Landrum 1986).

Frente ao exposto, este trabalho tem como objetivo descrever e comparar anatomicamente as etapas do desenvolvimento de sementes de *Eugenia punicifolia*, *Myrcia bella* e *Campomanesia pubescens*. Pretende-se, também, verificar os principais tipos de compostos presentes nas sementes, por meio de testes microquímicos.

Material e métodos

O material vegetal foi coletado em área de cerrado da Fazenda Palmeira da Serra, município de Pratânia, estado de São Paulo, Brasil (S22°48' W48°44') e consistiu de óvulos de

botões florais, flores em antese e pós-antese, e sementes em diferentes fases de desenvolvimento e maduras de vários indivíduos de *Eugenia punicifolia* (H. B. & K.) DC., *Myrcia bella* Camb. e *Campomanesia pubescens* (DC.) Berg. Exsicatas do material foram preparadas, identificadas por Ms. Itayguara Ribeiro da Costa e serão depositadas no herbário do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, UNICAMP (UEC): *E. punicifolia* (H., B. & K.) DC.: BRASIL, SÃO PAULO, Pratânia, 12-IX-2003, *I.R. Moreira-Coneglian 20*; *M. bella* Camb.: BRASIL, SÃO PAULO, Pratânia, 13-I-2004, *I.R.Moreira-Coneglian 28*; *Campomanesia pubescens* (Dc.) Berg: BRASIL, SÃO PAULO, Pratânia, 25-II-2004, *I.R.Moreira-Coneglian 35*.

O material coletado foi separado em classes: óvulos de botão floral, óvulos de flores em antese e pós-antese, sementes em desenvolvimento, agrupadas em classes baseando-se no tamanho e coloração do fruto em cada espécie, e sementes maduras.

A fixação do material foi feita em FAA (Johansen, 1940) por 24 horas, e a conservação, em etanol 70%. Algumas amostras de cada fase do material coletado foram fixadas em formalina neutra tamponada (FNT) (Lillie 1965), por 48 horas, lavadas em água destilada, e desidratadas até etanol 70%, solução utilizada para armazenamento, sendo estas reservadas para aplicação de testes microquímicos que detectam substâncias lipídicas.

Para os estudos anatômicos das sementes, as amostras fixadas em FAA foram desidratadas em série etílica, infiltradas e incluídas em resina plástica (Historesin Leica), segundo Gerrits & Smid (1983) e as recomendações do fabricante, sendo seccionadas em micrótomo rotatório Leica RM 2145, com espessura de 8μm. As lâminas foram coradas com Azul de Toluidina 0,05% em tampão acetato pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1964). As descrições seguiram a terminologia de Corner (1976) e Werker (1997).

Para os testes microquímicos, as amostras passaram pelos mesmos procedimentos descritos anteriormente, apenas não sendo coradas. O material fixado em FNT foi submetido às soluções de vermelho de Sudão IV e preto de Sudão B (Pearse 1980), para localização de lipídios totais, sulfato azul do Nilo (Cain 1947), para detecção de lipídios ácidos e neutros, e acetato de cobre associado a ácido rubeânico (Ganter & Jollés 1969, 1970), para verificação de ácidos graxos. No material fixado em FAA, foram feitos testes com cloreto férrico (Johansen 1940), buscando-se compostos fenólicos, PAS (Periodic-acid-Shiff's reagent, pararosanilina, Cl 42510) (Jensen 1962), para verificação de polissacarídeos totais, lugol (Jensen 1962), para detecção de

amido, vermelho de rutênio (Gregory & Bass 1989), para detecção de mucilagens ácidas, azul de alcião (Pearse 1980), para verificação de mucopolissacarídeos ácidos, ácido tânico associado a cloreto férrico (Pizzolato & Lillie 1973), para localização de mucilagens e azul brilhante de comassie (Fischer 1968), para detecção de proteínas.

O laminário foi analisado em microscópio óptico e os resultados foram registrados em fotomicroscópio Zeiss; as escalas foram fotografadas nas mesmas condições ópticas.

Resultados

Os óvulos das três espécies são campilótropos (Fig. 1, 5, 7) e bitegumentados (Fig. 1-9). Em *C. pubescens*, os óvulos são aderidos à placenta por funículo longo (Fig. 7), no qual observam-se tricomas tectores; as outras duas espécies apresentam funículo curto (Fig. 1, 5).

O tegumento externo das três espécies é constituído por três a quatro camadas de células justapostas, de paredes delgadas, citoplasma pouco denso e núcleos evidentes (Fig. 1-9). Em *E. punicifolia*, as células são bastante semelhantes entre si; em *M. bella*, o formato e o maior tamanho das células da epiderme externa a diferencia das demais camadas do tegumento externo (Fig. 6), e em *C. pubescens*, as células da epiderme externa são as mais volumosas do tegumento (Fig. 9).

A epiderme externa é unisseriada e fenólica (Fig. 1-9), exceto na região rafeal (Fig. 3, 6, 9). Em *E. punicifolia* e *C. pubescens*, as células são achatadas tangencialmente (Fig. 4, 9). Já em *M. bella*, as células são levemente achatadas no sentido tangencial, sendo alongadas radialmente nas proximidades do feixe rafeal (Fig. 6).

O mesofilo do tegumento externo é formado por uma a duas camadas de células (Fig. 1-9). Em *E. punicifolia* e *C. pubescens*, há idioblastos fenólicos dispersos (Fig. 1-4, 7, 9), na última, principalmente na região anti-rafeal (Fig. 9), mas em *M. bella*, tais células não são encontradas (Fig. 6, 58). Em *E. punicifolia*, o feixe rafeal (Fig. 3) é anficrival; em *M. bella* e *C. pubescens*, colateral.

Nas três espécies, a epiderme interna do tegumento externo é unisseriada, com células bastante similares às do mesofilo (Fig. 4, 6, 9). Não foram encontrados idioblastos fenólicos nesta região, exceção da região micropilar de *E. punicifolia*, onde, estes são numerosos tanto no mesofilo do tegumento externo quanto na epiderme interna do tegumento externo.

O tegumento interno dos óvulos das espécies estudadas é constituído por células achatadas tangencialmente, menores do que as do tegumento externo, de paredes delgadas, citoplasma denso e núcleos evidentes, sem idioblastos fenólicos (Fig. 1-9, 58). Em *E. punicifolia*, possui duas a três camadas de células (Fig. 4), e em *M. bella* e *C. pubescens*, duas (Fig. 5-9).

Em *E. punicifolia*, a calaza é extensa e apresenta ampla vascularização (Fig. 1); observase a hipóstase, formada por algumas camadas de células de paredes delgadas e conteúdo fenólico (Fig. 1-2) lipossolúvel. Nas outras duas espécies, a calaza é menos extensa (Fig. 5, 7), e a hipóstase não é evidente (Fig. 5-7, 9).

O nucelo é amplo e constituído por células justapostas, com paredes delgadas, citoplasma denso e núcleos conspícuos (Fig. 1-2, 4-9).

Nas três espécies, o gametofito feminino é curvo (Fig. 1, 5, 7), apresentando, em *M. bella*, maior grau de curvatura que os demais.

A micrópila dos óvulos das três espécies é formada pelos dois tegumentos. Em *E. punicifolia*, há grande quantidade de idioblastos fenólicos nas células dos tegumentos que delimitam a micrópila. Em *C. pubescens*, ela apresenta-se em ziguezague, e as células dos tegumentos dos óvulos apresentam tamanhos maiores (Fig. 8) que as demais células constituintes dos tegumentos.

Em *E. punicifolia*, foi observado que em alguns óvulos de flores em antese, há início da expansão radial das células e da proliferação de camadas no tegumento externo (comparar Fig. 4 e 10), presença de endosperma nuclear em desenvolvimento (Fig. 2, 10) e embrião globular.

Durante o desenvolvimento das sementes de todas as espécies, ocorre maior crescimento na região anti-rafeal, originando uma semente que, com o decorrer do desenvolvimento, mostrase reniforme (Fig. 12, 26, 32).

Em *Eugenia punicifolia*, a calaza se expande grandemente, juntamente com a hipóstase (Fig. 12), evidenciando o desenvolvimento paquicalazal da semente, que se mantém bitegumentada inicialmente (Fig. 13-15). Em *M. bella*, observa-se uma grande expansão da calaza no sentido transversal, formando uma pericalaza (Fig. 26, 28). Já em *C. pubescens*, a expansão da calaza é pequena, ficando esta restrita à região do hilo, onde ela se aprofunda (Fig. 29, 32-33). Em *M. bella* e *C. pubescens*, desenvolve-se a hipóstase (Fig. 23-24, 26, 29, 32-33, 57).

Nas três espécies, nas fases iniciais do desenvolvimento, as células da exotesta alongamse levemente no sentido radial (Fig. 10, 13, 25, 27, 31). Em *Eugenia punicifolia*, tais células adquirem, posteriormente, aspecto paliçádico (Fig. 14-15).

Em *C. pubescens*, deixa de se detectar conteúdo fenólico no citoplasma (Fig. 31) e iniciase o concrescimento das camadas mais internas do mesocarpo e do endocarpo com o tegumento seminal (Fig. 35-38).

Divisões celulares em vários planos são observadas, ocorrendo periclinais que aumentam o número de camadas da mesotesta (Fig. 11, 13, 25, 27, 31); na região calazal, a ampliação do número de camadas é maior que no restante do tegumento, como pode ser verificado nas Fig. 12-13, 24, 26, 32-34; em *E. punicifolia*, na mesotesta, formam-se espaços intercelulares (Fig. 14-15). Em *Eugenia punicifolia* e *Myrcia bella*, o número de células com conteúdo fenólico também aumenta, até que a mesotesta torne-se fenólica em todo o envoltório seminal (Fig. 14-15, 37, 47-48, 56). Em *C. pubescens*, as células da mesotesta apresentam citoplasma denso, porém poucas mantêm o conteúdo fenólico (Fig. 30-31, 35, 51, 52).

Nas regiões de calaza ampliada (paquicalaza de *E. punicifolia*, pericalaza de *M. bella* e em *C. pubescens*), o número de camadas mesotestais é maior (comparar Fig. 14 e 15, 27 e 28, 33 e 34) e distinguem-se hipóstase e nucelo, que se mantêm concrescidos nesta região (Fig. 14, 28, 34). A paquicalaza de *E. punicifolia* é cerca de três vezes mais espessa que o conjunto dos tegumentos (Fig. 41), e há cordões procambiais dispersos na mesotesta (Fig. 14), que aumentam a vascularização, e a pericalaza de *M. bella*, cerca de quatro vezes (Fig. 26-28, 37). Em *C. pubescens*, a região calazal é ampla (Fig. 32, 35), embora restrita à região hilar.

A epiderme interna da testa e o tegumento interno não apresentam modificações (Fig. 13-15, 25, 27-28, 31, 34).

Logo após a antese, observa-se o início do consumo do nucelo (Fig. 2, 10, 21-24, 29-31). Na região calazal, as células nucelares apresentam maior tamanho, conteúdo menos denso e paredes mais delgadas do que as demais (Fig. 12-13, 25-26, 28, 33-34). Durante o desenvolvimento seminal, o nucelo é consumido paralelamente ao desenvolvimento do embrião.

Em *M. bella* e *C. pubescens*, o endosperma começa a ser observado logo após a antese e também é formado de modo nuclear (Fig. 21, 29-31). Nas três espécies, durante o

desenvolvimento, celulariza-se (Fig. 33-35, 37-38) e é consumido na medida em que é produzido, sendo mais abundante em *C. pubescens* (Fig. 32-35).

No início do desenvolvimento da semente, o embrião é globular (Fig. 11-13, 22, 29-30). Ao final deste período, encontram-se formados eixo embrionário (Fig. 16, 24, 32-33, 36-38) e cotilédones (Fig. 16, 18, 37-38).

O eixo embrionário do embrião de *E. punicifolia* é curto e contínuo com os cotilédones (Fig. 16), os quais são bastante espessos e parcialmente concrescidos (Fig. 17). Em *M. bella*, identifica-se dois cotilédones foliáceos plicados (Fig. 29). Em *C. pubescens*, o eixo embrionário exibe extremidade radicular diferenciada, na qual observa-se o primórdio da coifa, com células menores que as demais e de citoplasma denso (Fig. 39), mas os cotilédones não foram encontrados anatomicamente.

Nas três espécies, o eixo embrionário possui organização típica. Na protoderme, ocorrem células menores, mais densas e justapostas que as do meristema fundamental (Fig. 16-18, 24, 33, 36). As células do meristema fundamental têm paredes delgadas, vacuoma bem desenvolvido e núcleos evidentes (Fig. 16-17, 36-37) e são maiores dos que as da protoderme; em *E. punicifolia*, elas exibem tamanhos extremamente variados (Fig. 16-19). O procâmbio ocupa a porção central do eixo embrionário e é constituído por células alongadas longitudinalmente, de citoplasma denso e núcleos evidentes (Fig. 16, 36, 39), sem diferenciação de elementos condutores.

Os cotilédones de *E. punicifolia* e de *M. bella* são delimitados por protoderme e meristema fundamental idênticos aos do eixo embrionário (Fig. 16-18, 37). Em *E. punicifolia*, os cordões procambiais encontram-se no quarto externo (Fig. 17), e em *M. bella*, os cotilédones apresentam um cordão procambial principal e vários secundários (Fig. 29).

No final do desenvolvimento, o eixo embrionário de *E. punicifolia* continua curto e os de *M. bella* e *C. pubescens* mostram-se bastante alongados, chegando a ocupar quase a totalidade do interior da semente nesta última (Fig. 50). Em *E. punicifolia*, surgem alguns idioblastos fenólicos com ácidos graxos na protoderme e no meristema fundamental (Fig. 19), e inicia-se a diferenciação de cavidades secretoras subepidérmicas (Fig. 19). Em estádios mais avançados do desenvolvimento, o embrião de *M. bella* também apresenta idioblastos fenólicos no eixo embrionário e cotilédones, destacando nestes a protoderme (Fig. 39), e cavidades secretoras

subepidérmicas (Fig. 39-40). Em *C. pubescens*, foram notados poucos idioblastos fenólicos no eixo embrionário.

Nas três espécies, usualmente, apenas um óvulo se desenvolve em semente, raramente dois ou três. Em *E. punicifolia*, os óvulos que não se desenvolvem em sementes permanecem aderidos à região hilar da semente em desenvolvimento (Fig. 12, 20, 53); em *M. bella*, óvulos dos três lóculos começam a se desenvolver, mas apenas um ou dois atingem o estádio de semente madura (Fig. 24), e o óvulo ou semente abortado do mesmo lóculo, permanece próximo(a) à região hilar, mas não aderido(a) a ela. Em *C. pubescens*, vários óvulos de cada lóculo também começam a se desenvolver em semente, mas nenhum ou apenas um por lóculo atinge o estádio de semente madura, sendo que os demais permanecem como óvulos abortados (Fig. 35), e são encontrados nos lóculos sem semente em desenvolvimento e nas proximidades da semente em desenvolvimento. Em alguns destes, observa-se proliferação do tegumento externo, inclusive da hipóstase; em outros, não há desenvolvimento dos tegumentos e gametofito feminino (Fig. 20). As camadas mais internas acumulam substâncias pécticas (Fig. 20, 53).

As sementes maduras das três espécies são campilótropas, reniformes e achatadas dorsiventralmente, polidas e sem ornamentações superficiais, e exalbuminosas.

A semente de *E. punicifolia* é grande, paquicalazal; o embrião é bastante volumoso, com eixo hipocótilo-radícula curto e indistinto dos cotilédones parcialmente concrescidos.

A semente madura de *M. bella* possui hilo evidente e envoltório seminal marrom escuro, provavelmente devido à grande quantidade de idioblastos fenólicos presentes na mesotesta.

Em *C. pubescens*, há regiões pericárpicas concrescidas ao tegumento seminal, que é delgado (Fig. 52) e de coloração marrom escura.

Na exotesta das três espécies há espessamentos secundários lignificados. Em *E. punicifolia*, a camada paliçádica de células lignificadas reveste toda a semente (Fig. 41-42) e na região funicular da semente madura, elas diminuem gradualmente de altura em direção ao hilo, onde inexistem (Fig. 44); as paredes destas células são fortemente espessadas e lignificadas (Fig. 42-43), exibindo muitas pontoações simples.

Em *M. bella*, depositam-se espessamentos em forma de "U" nas células da exotesta (Fig. 49), e em *C. pubescens*, tal região origina uma camada de esclereídes (Fig. 51-52).

Próximo ao final do desenvolvimento, a exotesta é recoberta por cutícula espessa em *E. punicifolia* (Fig. 41-42) e *M. bella*.

Durante a maturação, a grande maioria das células da mesotesta de *E. punicifolia* começa a apresentar espessamento secundário (Fig. 26-27), inicialmente na paquicalaza e, depois, no tegumento seminal, com pontoações simples evidentes (Fig. 42-44). Em *M. bella* e *C. pubescens*, as células da mesotesta permanecem sem lignificação e são comprimidas tangencialmente pelo desenvolvimento do embrião (Fig. 48, 52). Na primeira, notam-se espessamentos pécticos na mesotesta (Fig. 49).

Na região paquicalazal da semente madura de *E. punicifolia* e na pericalaza de *M. bella*, observa-se grande vascularização, com feixes vasculares colaterais bem desenvolvidos (Fig. 42, 48); no hilo da semente destas espécies, a mesotesta apresenta arranjo frouxo (Fig. 44, 48).

A hipóstase é persistente nas três espécies; em *E. punicifolia* e *M. bella*, embora esteja presente, não cresce (Fig. 28-29) e confunde-se com outras camadas na região de calaza expandida (Fig. 42-43, 48); em *C. pubescens*, ela expande-se grandemente e é evidente (Fig. 51).

A alteração mais evidente que ocorre na endotesta e no tegumento interno das três espécies é a compressão (comparar Fig. 15 com 42, 27 com 49, 34 com 52).

Na semente madura, há resquícios de nucelo e endosperma, mais facilmente detectados na região da calaza (Fig. 42, 48, 52).

Algumas características dos envoltórios seminais das três espécies são comparadas na tabela 1.

Os cotilédones de *M. bella* têm seus limites muito ampliados, tornando-se plicados e ocupando todo o interior da semente (Fig. 46); já os cotilédones de *C. pubescens* não se expandem e não foram localizados anatomicamente.

No embrião da semente madura das três espécies, diferenciam-se numerosos idioblastos fenólicos; em *E. punicifolia* e *M. bella*, eles localizam-se principalmente na protoderme do eixo embrionário e dos cotilédones, no meristema fundamental do eixo embrionário (Fig. 46) e no parênquima vascular; em *C. pubescens*, no meristema fundamental do eixo embrionário (Fig. 51-52).

As cavidades secretoras subepidérmicas do embrião de *E. punicifolia* e *M. bella* exibem células epiteliais com conteúdo fenólico e lume retendo secreção, evidenciando a existência de atividade secretora na maturidade seminal.

Observa-se também, durante a maturação, deposição de grãos de amido no meristema fundamental do embrião das três espécies (Fig. 45, 47, 52, 61), que representam a principal reserva do embrião. Nota-se, também, material acumulado entre o envoltório seminal e o embrião, que corresponde a resquícios de endosperma e paredes celulares, e que reagem positivamente aos testes com vermelho de rutênio em *E. punicifolia* (Fig. 54) e *M. bella* (Fig. 60), e também a azul de alcião (Fig. 59).

Discussão

Os óvulos de espécies de Myrtaceae têm sido geralmente descritos como anátropos a campilótropos (Corner 1976; Nic Lughadha & Proença 1996; Judd *et al.* 1999), e algumas variações deste tipo (Van Wyk & Botha 1984). O tipo mais comumente reportado para *Eugenia* é o anátropo (Corner 1976), contudo Van Wyk & Botha (1984) identificaram outros tipos de óvulos e declararam que alguns deles têm sido erroneamente referidos como anátropos, destacando a necessidade de estudos mais criteriosos destas estruturas. Em *E. punicifolia*, observou-se que o óvulo é campilótropo, tipo incluído entre os citados por Van Wyk & Botha (1984) para o gênero. Segundo estes autores, esses óvulos deveriam ser mais precisamente denominados hemicampilótropos, ocasionalmente tendendo a anacampilótropos. Apesar de haver estudos com sementes de *Campomanesia* (Landrum 1982), não há dados referentes ao tipo de óvulo encontrado neste gênero, assim como ocorre com *Myrcia*; com isso, os dados obtidos neste trabalho com espécies destes gêneros enquadram-se nos citados até o momento para os membros da família Myrtaceae.

De acordo com Tobe & Raven (1983) e Van Wyk & Botha (1984), a micrópila dos óvulos bitegumentados de Myrtaceae é formada por ambos os tegumentos, como ocorre nas três espécies analisadas. A concentração de compostos fenólicos nas células do tegumento externo adjacentes à micrópila em *Eugenia punicifolia* observada neste trabalho foi referida como caráter comum no gênero (Van Wyk & Botha 1984).

Seguindo as informações referidas na literatura para espécies de Myrtoideae (Nic Lughadha & Proença 1996), verificou-se que o número de sementes maduras é muito menor do que o número de óvulos no ovário. Os óvulos que não se desenvolvem em sementes seguem aderidos à semente em desenvolvimento ou próximos a ela, como óvulos abortados; a presença de tais estruturas já foi citada para outras espécies de Myrtaceae que apresentam numerosos óvulos no ovário (Landrum 1982), como observado nas espécies aqui estudadas. Segundo Landrum (1982), este aborto é iniciado pela planta-mãe no intuito de concentrar recursos para o desenvolvimento de um óvulo em semente. Estes óvulos inicialmente apresentam as mesmas características do óvulo que se desenvolverá em semente, mas pode ocorrer, apenas, aumento variável no número de células do tegumento externo e do nucelo e deposição de compostos fenólicos nos tegumentos (Van Wyk & Botha 1984), como aqui verificado.

McVaugh (1968) considerou o tegumento seminal das Myrtoideae muito variável. Em espécies de Eugeniinae, a testa é delgada, membranosa ou coriácea (McVaugh 1968). A testa é mais uniforme entre as espécies de Myrciinae, sendo delgada, cartilaginosa e frágil (McVaugh 1968). Nas Myrtinae, ela pode ser delgada e freqüentemente glandular, ou muito espessada e córnea (McVaugh 1968). A falta de um parâmetro para identificar a testa como delgada ou espessa impede tal classificação, contudo nota-se que a diferença no número de camadas do tegumento seminal maduro, especificamente da mesotesta, existente entre as três espécies, não permite que elas sejam agrupadas com relação à espessura do tegumento. *Eugenia punicifolia* apresentou número de camadas mesotestais maior do que as outras duas espécies, além de tais células possuírem paredes espessadas lignificadas, o que não ocorre com as outras duas espécies.

Campomanesia pubescens possui parte do pericarpo aderida à semente (Moreira-Coneglian & Carmello-Guerreiro 2007 – Capítulo 1) como um falso tegumento seminal, característica aparentemente restrita ao gênero *Campomanesia* dentro das Myrtaceae (Landrum 1982). Landrum & Kawasaki (1997a) consideraram que o tegumento seminal de espécies do gênero *Campomanesia* não é distinguível na semente madura, devido à sua pequena espessura; em *C. pubescens*, observou-se que não é possível distinguir o tegumento seminal do pericarpo sem auxílio de equipamentos ópticos. Contudo, os estudos anatômicos realizados revelaram que, apesar de constituído por poucas camadas celulares, a testa apresenta uma camada externa (exotesta) de células esclerificadas, além de outras camadas não lignificadas, não sendo

glandulosa, como anteriormente declarado por Berg (1855-1856; 1857-1859) para espécies de *Campomanesia*.

Outro aspecto importante é a existência de regiões mais espessas em *E. punicifolia* e *M. bella* – paquicalaza e pericalaza, respectivamente. A referência de que o envoltório seminal de espécies de *Eugenia* possui partes de origem a partir do tegumento externo e da paquicalaza foi feita por Van Wyk & Botha (1984) e confirma-se em *Eugenia punicifolia*. O presente trabalho acrescenta a possibilidade do envoltório seminal em espécies de Myrtaceae englobar a pericalaza, como registrado para *M. bella*. A presença de paquicalaza está relacionada à ampliação do suprimento vascular de sementes contendo grandes embriões e à ausência de endosperma (Von Teichman & Van Wyk 1991), ambos aspectos aqui registrados para a semente de *E. punicifolia*. A pericalaza provavelmente relaciona-se às mesmas características.

Também merece destaque a presença de hipóstase nas sementes maduras das espécies estudadas, composta por células com depósitos fenólicos e participando da expansão da calaza durante a ontogênese seminal, a qual pode ser considerada hipóstase *lato sensu* (Werker 1997). A manutenção desta estrutura na semente madura de *E. punicifolia*, ou seja, hipóstase persistente, foi referida por Von Teichman & Van Wyk (1991) como comum em Myrtaceae e em outras 80 famílias de Dicotiledôneas. Em *Myrcia bella* e *Campomanesia pubescens*, embora não detectada no óvulo, a hipóstase mostrou-se bastante evidente na semente madura.

A presença de compostos fenólicos em tegumentos seminais é uma característica amplamente difundida (Werker 1997). Tais substâncias, além de conferirem a coloração escura a diversos tegumentos, como nas três espécies amostradas, atuam na proteção contra herbívoros e patógenos (Swain 1979; Werker 1997). Os compostos fenólicos podem, ainda, conferir impermeabilidade e dureza à semente, eventualmente funcionando como inibidores da germinação (Werker 1997).

A ausência de endosperma em sementes maduras é característica da ordem Myrtales (Tobe & Raven 1983), embora Van Wyk & Botha (1984) tenham observado a presença de pequena quantidade de endosperma em sementes maduras de espécies de *Eugenia*, não observada em *E. punicifolia*. Segundo Landrum & Stevenson (1986), a ausência de endosperma em sementes maduras é conseqüência da transferência da função de armazenamento de energia do endosperma para diferentes partes do embrião, tais como cotilédones (em representantes de

Eugeniinae), embrião como um todo (nos membros de Myrciinae), ou hipocótilo (nas espécies de Myrtinae). Os dados obtidos neste trabalho corroboraram tais observações, visto que grãos de amido, principal reserva das três espécies, foram observados nos cotilédones de *E. punicifolia*, em todo o embrião em *M. bella*, e no eixo embrionário de *C. pubescens*.

A morfologia dos embriões de Myrtoideae é de grande importância taxonômica (Landrum & Kawasaki 1997a), sendo o principal caráter para definição das subtribos (Berg 1855-56, 1857-59). O embrião de *Eugenia punicifolia* é do tipo eugenióide, com cotilédones carnosos espessos e eixo embrionário restrito (Nic Lughadha & Proença 1996), com radícula inconspícua e sem distinção morfológica dos cotilédones e eixo (Silva *et al.* 2003). A referência a embrião pseudomonocotiledonar ou indiviso é comum para espécies de *Eugenia* (Silva *et al.* 2003, Landrum & Kawasaki 1997a), mas não se encontram descrições detalhadas da anatomia para apoiar tal declaração. Em *E. punicifolia*, os estudos anatômicos revelaram a presença da protoderme adaxial restrita à região mediana e distal dos cotilédones, indicando que a sincotiledonia é apenas parcial.

Para Legrand & Klein (1969), os embriões de *Myrcia* apresentam cotilédones pouco carnosos, de radícula comprida e curva; Landrum & Kawasaki (1997a) detalharam que os cotilédones são entrelaçados em um feixe que é envolto pelo hipocótilo longo. O embrião de *M. bella* se adequou a estas descrições. O embrião de *Campomanesia* é classificado por Rotman (1976) e Landrum & Kawasaki (1997a) como espiralado, com dois cotilédones foliáceos pequenos, hipocótilo alargado e radícula livre; em *C. pubescens*, tal padrão foi seguido, não sendo possível identificar os cotilédones anatomicamente, provavelmente devido ao tamanho reduzido de tais órgãos. Os dados obtidos estão de acordo com os já citados para os tipos de embriões de cada subtribo de Myrteae (Landrum & Kawasaki 1997a).

Dentre as Myrtaceae, a presença de glândulas de óleo no embrião também é uma característica restrita a Myrtoideae (Nic Lughadha & Proença 1986). Em *E. punicifolia* e *M. bella*, foram encontradas cavidades secretoras dispersas pelo embrião, as quais não foram observadas em *C. pubescens*. De acordo com Werker (1997), como o embrião é o esporofito jovem, ele geralmente apresenta estruturas secretoras típicas do corpo da planta, como laticíferos, células mucilaginosas e cavidades secretoras. A presença de cavidades secretoras de óleo é freqüente entre as Myrtaceae, sendo relatada em diversos órgãos de espécies desta família

(Metcalfe & Chalk 1950; Judd *et al.* 1999). Sendo assim, *C. pubescens* foge à regra por não apresentar cavidades secretoras em seu eixo embrionário.

Muitas sementes de espécies de Myrtaceae são consideradas recalcitrantes. A literatura não registra referência específica a *E. punicifolia*, mas as características apresentadas pelas suas sementes, como o fato de serem supercrescidas (*overgrown seeds*), de testa pouco diferenciada e com embrião grande, permitem inferir a ocorrência de recalcitrância nesta espécie; as características seminais aqui indicadas são comuns a várias sementes recalcitrantes já estudadas de diversas famílias, podendo-se destacar outras espécies de *Eugenia*, como *E. brasiliensis* (Barbedo & Marcos-Filho 1998), *E. involucrata* (Barbedo *et al.* 1998) e *E. stipitata* (Gentil & Ferreira 1999). Para as outras duas espécies, a falta de estudos de armazenamento e germinação em espécies dos gêneros e a falta das características morfoanatômicas já citadas impedem qualquer especulação a este respeito.

Referências Bibliográficas

- Alho, C.J.R. & Martins, E.S. 1995. **De grão em grão, o cerrado perde espaço** (Cerrado Impactos do processo de ocupação). Brasília, WWF-Fundo Mundial para a Natureza. *apud* Andrade, L.A.Z.; Felfili, J.M. & Violatti, L. 2002. Fitossociologia de uma área de Cerrado denso na RECOR-IBGE, Brasília-DF. **Acta Botanica Brasilica 16**:225-240.
- Barbedo, C.J. & Marcos-Filho, J. 1998. Tolerância à dessecação em sementes. **Acta Botanica Brasílica 12**:145-164.
- Barbedo, C.J.; Kohama, S.; Bilia, D.A.C. & Maluf, A.M. 1998. Germinação e armazenamento de diásporos de cerejeira (*Eugenia involucrata* DC. Myrtaceae) em função do teor de água. **Revista Brasileira de Sementes 20**:184-188.
- Berg, O. 1855-1856. Revisio Myrtacearum Americae huc usque cognitarum s. Klotzschii "Flora Americae aequinoctialis" exhibens Myrtaceas. **Linnaea 27**:1-472 *apud* Landrum, L.R. & Kawasaki, M.L. 1997. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia 49**:508-536.
- Berg, O. 1857-1859. Myrtaceae. Pp.1-655. In: C.F.P. von Martius (ed.). **Flora Brasiliensis.** v.14. *apud* Landrum, L.R. & Kawasaki, M.L. 1997. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia 49**:508-536.

- Briggs, B.G. & Jonhson, L.A.S. 1979. Evolution in the Myrtaceae evidence from inflorescence structure. **Proceedlings of the Linnean Society of New South Wales Ser. 2, 102**(4):157-256.
- Base de dados tropical. Disponível em < http://www.bdt.com.br Acesso em 20 jan. 2007.
- Cain, A.J. 1947. The use of Nile Blue in the examination of lipids. **Quarterly Journal of Microscopical Science 88**:383-392.
- Clark, G. 1973. **Staining procedures.** Baltimore, The Williams & Wilkins Co..
- Corner, E.J.H. 1976. The seeds of Dicotyledons. Cambridge, Cambridge University Press.
- Durigan, G.; Baitello, J.B.; Franco, G.A.D.C. & Siqueira, M.F.de. 2004. **Plantas do Cerrado Paulista. Imagens de uma paisagem ameaçada.** São Paulo, Páginas e Letras Editora e Gráfica.
- Fischer, D.B. 1968. Protein staining of ribboned Epon sections for light microscopy. **Histochemie 16**: 92-96.
- Ganter, P. & Jollés, G. 1969, 1970. **Histologie normale et pathologique.** Vols. I e II. Paris, Gauthier Villars.
- Gerrits, P.O. & Smid, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy 132**:81-85.
- Gentil, D.F. de O. & Ferreira, S.A. do N. 1999. Viabilidade e superação da dormência em sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. s*ororia*). **Acta Amazonica 29**:21-31.
- Gregory, M. & Bass, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dycotiledons. **Israel Journal of Botany** 38:125-174.
- Heringer, E.P.; Barroso, G.M.; Rizzo, J.A. & Rizzini, C.T. 1997. A flora do cerrado. Pp.211-232. In: M.G. Ferri (ed.). **Anais do IV Simpósio sobre o cerrado.** Belo Horizonte, Livraria Itatiaia Editora e São Paulo, Editora da USP.
- Jensen, W.A. 1962. **Botanical histochemistry.** San Francisco, WH Freeman and Co.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique.** New York, McGraw-Hill.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A. & Stevens, P.F. 1999. **Plant Systematics**: a phylogenetic approach. Massachusetts, Sinauer Associates Inc. Publishers.

- Klink, C.A. 1996. Relação entre o desenvolvimento agrícola e a biodiversidade. Pp.25-27. In: R.C. Pereira & L.C.B. Nasser (eds.). Anais do VIII Simpósio sobre o Cerrado, 1st International Symposium on Tropical Savanas Biodiversidade e Produção Sustentável de Alimentos e fibras nos Cerrados. Brasília, Embrapa CPAC. *apud* Andrade, L.A.Z.; Felfili, J.M. & Violatti, L. 2002. Fitossociologia de uma área de Cerrado denso na RECOR-IBGE, Brasília-DF. Acta Botanica Brasilica 16:225-240.
- Landrum, L.R. 1982. The development of the fruits and seeds of *Campomanesia* (Myrtaceae). **Brittonia 34**(2):220-224.
- Landrum, L.R. 1986. *Campomanesia*, *Pimenta*, *Blepharocalyx*, *Legrandia*, *Acca*, *Myrrhinium*, and *Luma* (Myrtaceae). **Flora Neotropica 45**:1-178.
- Landrum, L. R. & Stevenson, D. 1986. Variability of embryos in subtribe Myrtinae (Myrtaceae). Systematic Botany 11:155-162.
- Landrum, L.R. & Kawasaki, M.L. 1997a. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia 49**(4):508-536.
- Landrum, L.R. & Kawasaki, M.L. 1997b. A rare and potentially economic fruit of Brazil: cambuci, *Campomanesia phaea* (Myrtaceae). **Economic Botany 51**:403-407.
- Legrand, C.D. & Klein, R.M. 1969. *Myrcia* DC. (Fasc. Mirt.). Pp.219-330. In: R. Reitz (ed.). **Flora Ilustrada Catarinense.** Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues.
- Lillie, R.D. 1965. **Histopathologic technic and practical histochemistry.** 3.ed. New York, McGraw Hill.
- Mendonça, R.C.; Felfili, J.M.; Silva Jr., M.C.; Rezende, A.V.; Nogueira, P.E.; Walter, B.M.T. & Filgueiras, T.S. 1998. Flora vascular do cerrado. Pp. 289-556. In: S.M. Sano & S.P. Almeida (eds.). **Cerrado: Ambiente e Flora.** Brasília, Embrapa CPAC.
- Metcalfe, C.R. & Chalk, L. 1950. **Anatomy of the Dicotyledons.** 2 Vols. London, Oxford University Press.
- McVaugh, R. 1968. The genera of american Myrtaceae an interim report. **Taxon 17**:354-418.
- Moreira-Coneglian, I.R. & Carmello-Guerreiro, S.M. 2007. Morfologia e ontogênese do pericarpo de *Eugenia punicifolia* (H. B. & K.) DC., *Myrcia bella* Camb. e *Campomanesia pubescens* (DC.) Berg (Myrtaceae), em preparação.

- Nic Lughadha, E. & Proença, C. 1996. A survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden 83**:480-503.
- O'Brien, T.P., Feder, N. & McCully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma 59**:368-373.
- Pearse, A.G.E. 1980. **Histochemistry theoretical and applied**: preparative and optical technology. 4.ed. Edinburg, Churchill Livingston.
- Pizzolato, T.D. & Lillie, R.D. 1973. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. **Journal** of Histochemistry and Cytochemistry 21:56-64.
 - Proença, C.E.B. & Gibbs, P.E. 1994. Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. **New Phytologist 126**:343-354.
- Rotman, A.D. 1976. Revisión del género *Campomanesia* en la Argentina (Myrtaceae). **Darwiniana 20**:327-340.
- Schmid, R. 1972. Floral anatomy of the Myrtaceae. I. *Syzygium*. **Botanische Jahrbücher für Systematik 92**:433-489.
- Silva, C.V., Bilia, D.A.C., Maluf, A.M. & Barbedo, C.J. 2003. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica 26**:213-221.
- Swain, T. 1979. Tanins and lignins. Pp.657-682. In: G.A. Rosenthal & D.H. Janzen (eds.). **Herbivores:** their interactions with secondary plant metabolites. New York, Academic Press.
- Tobe, H. & Raven, P.H. 1983. An embryological analysis of Myrtales: its definition and characteristics. **Annals of Missouri Botanical Garden 70**:71-94.
- Toledo-Filho, D.V.; Leitão Filho, H.F. & Rodrigues, T.S. 1984. Composição florística de área de cerrado em Mogi-Mirim (SP). **Boletim Técnico do Instituto Florestal 38**:165-175.
- Van Wyk, A.E. & Botha, R. 1984. The genus *Eugenia* (Myrtaceae) in southern Africa: ontogeny and taxonomic value of the seed. **South African Journal of Botany 3**:63-80.
- Von Teichman, I. & Van Wyk, A.E. 1991. Trends in the evolution of dicotydelonous seeds based on character associations, with special reference to pachychalazy and recalcitrance.Botanical Journal of the Linnean Society 105:211-237.
- Zorzetto, R.; Fioravante, C. & Ferroni, M. 2003. A floresta renasce. Pesquisa Fapesp 91:48-53.

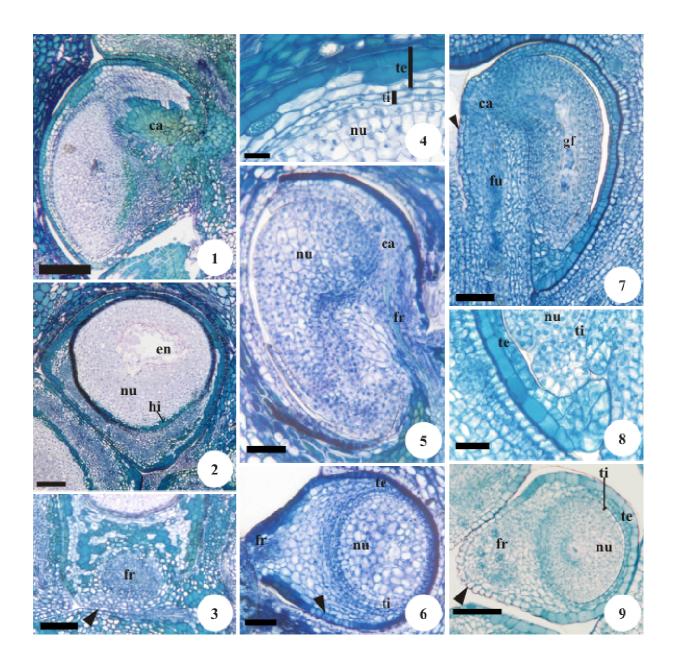
Werker, E. 1997. **Seed anatomy.** Berlim, Gerbrüder Borntraeger.

Tabela 1. Tabela comparativa de óvulos e sementes em desenvolvimento e maduras de *Eugenia punicifolia*, *Myrcia bella* e *Campomanesia pubescens*.

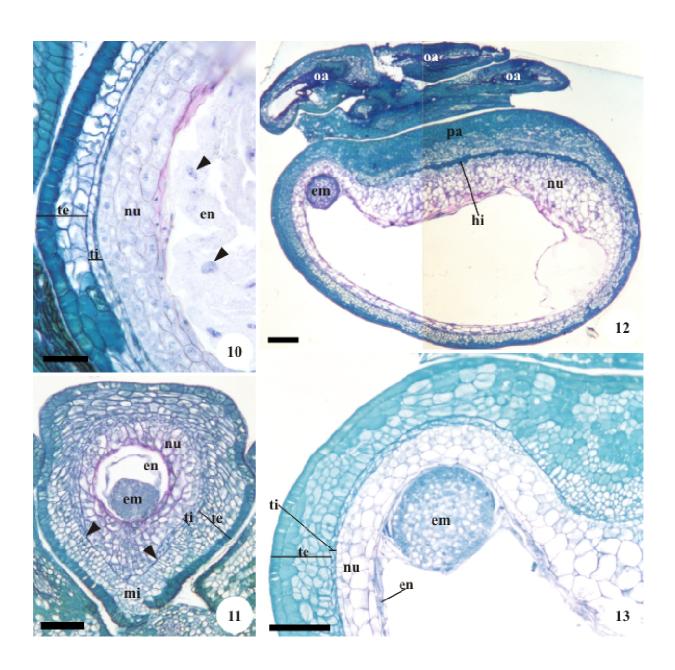
Região		Eugenia punicifolia			Myrcia bella			Campomanesia pubescens		
		Óvulo	Semente em	Semente	Óvulo	Semente em	Semente	Óvulo	Semente em	Semente
			desenvolvi-	madura		desenvolvi-	madura		desenvolvi-	madura
			mento			mento			mento	
	Epiderme	células	células	paliçada	células	células	espessamen	células	células	esclereídes
	externa /	achatadas	alongadas	fortemente	achatadas	alongadas	-to em "U"	achatadas	alongadas	
	exotesta	tangencial-	radialmente	lignificada	tangencial-	radialmente		tangencial-	radialmente	
		mente			mente			mente		
Tegumento	Mesofilo /	idioblastos	divisões	totalmente	sem	divisões	não	idioblastos	divisões	algumas
externo /	mesotesta	dispersos	mitóticas;	lignificada	idioblatos	mitóticas	lignificada	dispersos,	mitóticas	células
testa			espaços							lignificadas
			intercelula-							
			res							
	Epiderme	idioblastos	sem	colapsada	células	sem	colapsada	células	sem	colapsada
	interna /	lipofenóli-	modifica-		idênticas às	modifica-		idênticas às	modifica-	
	endotesta	cos na	ções		do mesofilo	ções		do mesofilo	ções	
		região			ovariano			ovariano		
		micropilar			_			_		
Tegumento interno /		duas a três	sem	colapsado	duas	sem	colapsado	duas	sem	colapsado
tégmen		camadas	modifica-		camadas	modifica-		camadas	modifica-	
~ .			ções			ções			ções	
Calaza		extensa	bastante	três vezes	relativa-	ampliação	pericalaza	relativa-	ampliação	não muito
			ampliada	mais	mente	limitada		mente	limitada	extensa
				espessa que	restrita			restrita		
				o tegumento						

FIGURAS-CAPÍTULO 2

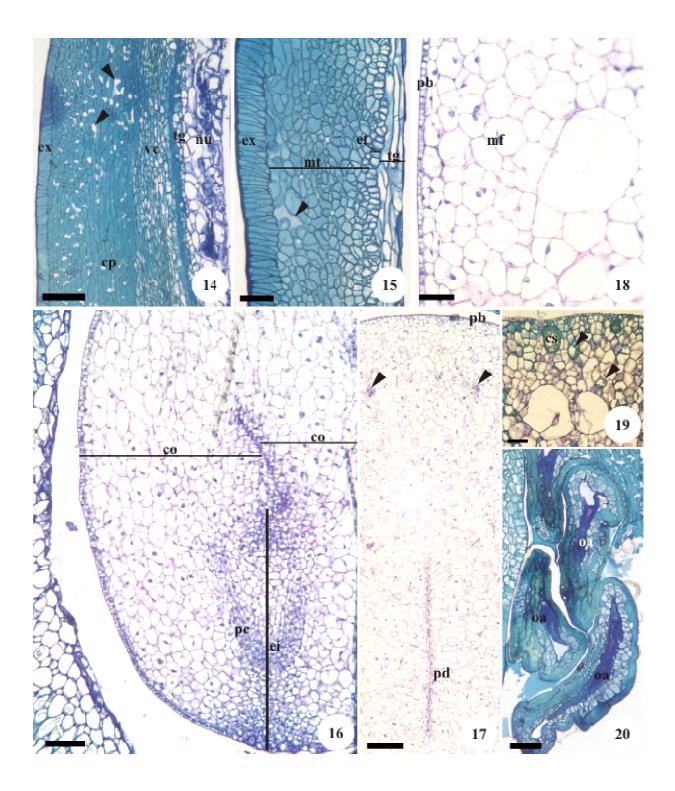
Figuras 1–9. Óvulos de botão floral. Secções transversais (2-4, 6, 9) e longitudinais (1, 5, 7-8). 1-4. *Eugenia punicifolia*. 1. Aspecto geral. 2. Aspecto geral. 3. Feixe rafeal. 4. Tegumentos. 5-6. *Myrcia bella*. 5. Aspecto geral. 6. Aspecto geral, mostrando feixe rafeal. 7-9. *Campomanesia pubescens*. 7. Aspecto geral, destacando o funículo. 8. Micrópila em ziguezague. 9. Aspecto geral, na região do feixe rafeal. (ca: calaza, en: endosperma, fr: feixe rafeal, fu: funículo, gf: gametofito feminino, hi: hipóstase, nu: nucelo, te: tegumento externo, ti: tegumento interno, ponta de seta: célula da epiderme externa do tegumento externo sem compostos fenólicos). Barras = 25 μm (4, 8), 50 μm (5-7), 70 μm (9), 100 μm (2, 3), 200 μm (1).



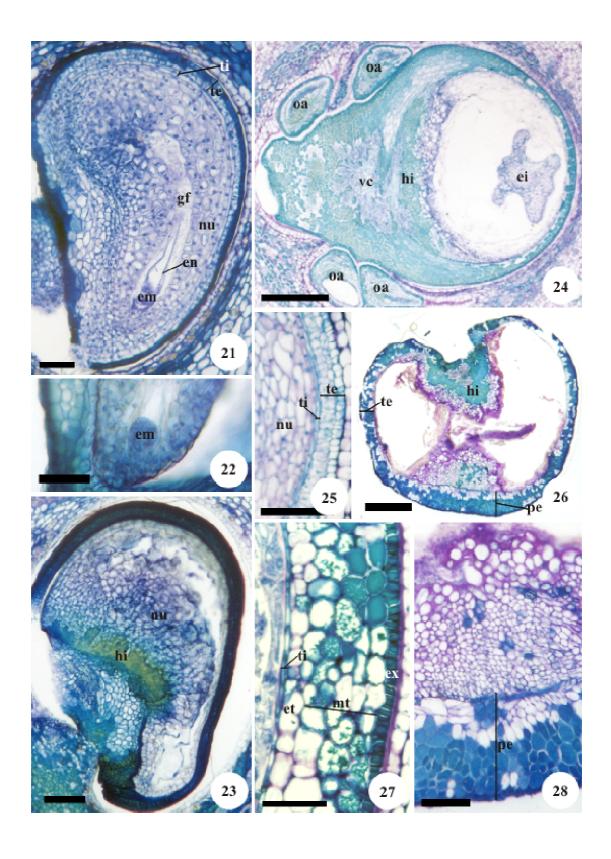
Figuras 10-13. Semente de *Eugenia punicifolia* em desenvolvimento. Secções longitudinais, exceto 11, que é transversal. 10. Óvulo com endosperma nuclear (ponta de seta: núcleos livres). 11-12. Aspecto geral (ponta de seta: extremidade do tegumento interno). 13. Detalhe da figura anterior, destacando o embrião globular. (em: embrião, en: endosperma, hi: hipóstase, mi: micrópila, nu: nucelo, oa: óvulo abortado, pa: paquicalaza, te: tegumento externo, ti: tegumento interno). Barras = 50 μm (10), 100 μm (11), 140 μm (13), 200 μm (12).



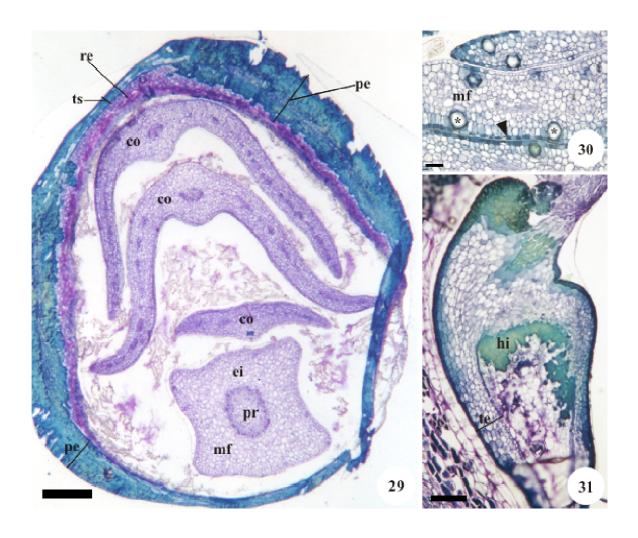
Figuras 14-20. Semente de *Eugenia punicifolia* em desenvolvimento. Secções transversais (14-15, 19-20). Secções longitudinais (16-18). 14-15. Envoltório seminal. 14. Região paquicalazal (ponta de seta: espaço intercelular). 15. Detalhe dos tegumentos (ponta de seta: espaço intercelular). 16-19. Embrião. 16. Aspecto geral do eixo embrionário. 17. Aspecto dos cotilédones, passando pela protoderme adaxial (ponta de seta: cordão procambial). 18. Detalhe do mesofilo cotiledonar. 19. Protoderme cotiledonar na face abaxial, mostrando cavidade secretora (ponta de seta: idioblastos fenólicos). 20. Óvulos abortados. (co: cotilédone; cp: cordões procambiais; cs: cavidade secretora; ei: eixo embrionário; et: endostesta; ex: exotesta; mf: meristema fundamental; mt: mesotesta; nu: nucelo; oa: óvulo abortado; pb: protoderme abaxial do cotilédone; pd: protoderme adaxial do cotilédone; pc: procâmbio; tg: tégmen; vc: vascularização da região paquicalazal). Barras = 50 μm (15, 18), 100 μm (14, 16, 19, 20), 200 μm (17).



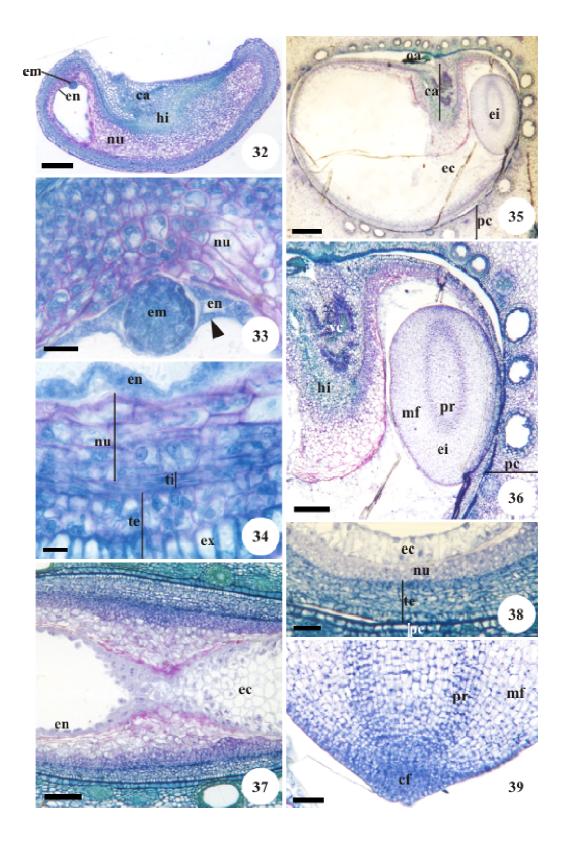
Figuras 21-28. Semente de *Myrcia bella* em desenvolvimento. Secções longitudinais, exceto 24, que é transversal. 21-23. Semente em início de desenvolvimento. 21. Aspecto geral da semente em início de desenvolvimento de flor em antese. 22. Detalhe do embrião globular. 23. Aspecto geral, evidenciando hipóstase em desenvolvimento. 24-28. Semente em desenvolvimento. 24. Aspecto geral. 25. Tegumento. 26. Aspecto geral. 27. Detalhe do tegumento. 28. Pericalaza. (ei: eixo embrionário, em: embrião, en: endosperma, et: endotesta, ex: exotesta, gf: gametofito feminino; hi: hipóstase, mt: mesotesta, nu: nucelo, oa: óvulo abortado, pe: pericalaza, te: tegumento externo, ti: tegumento interno, vc: vascularização da região pericalazal). Barras = 50 μm (21, 22), 80 μm (27), 100 μm (23, 28), 110 μm (25), 330 μm (24), 400 μm (26).



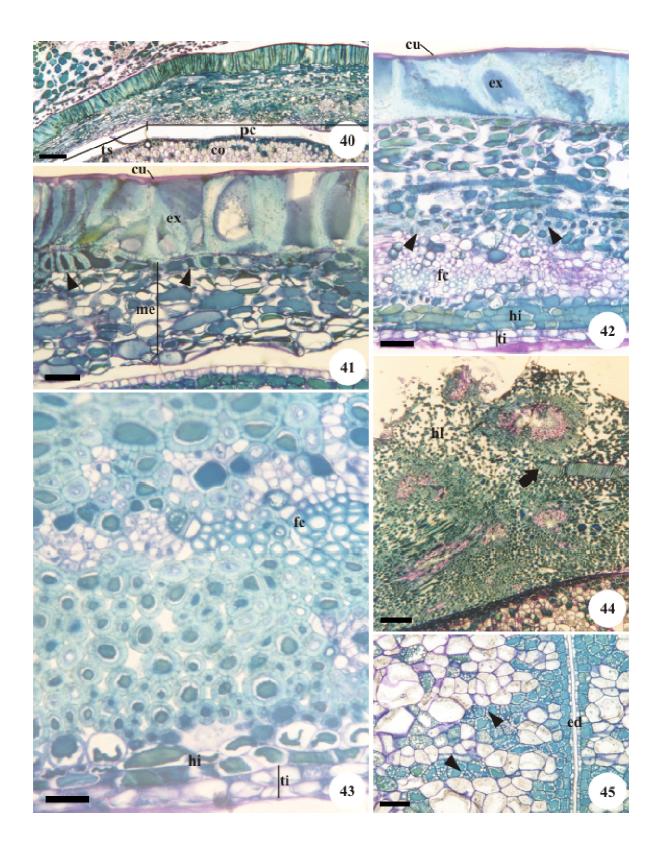
Figuras 29-31. Semente de *Myrcia bella* em desenvolvimento. Secções transversais, exceto 31, que é longitudinal. 29. Aspecto geral, mostrando eixo embrionário e cotilédones diferenciados em início de expansão. 30. Cotilédone um pouco mais diferenciado do que na figura anterior, já com cavidades secretoras (*) e idioblastos fenólicos na epiderme (ponta de seta). 31. Óvulo abortado. (co: cotilédone, ei: eixo embrionário, hi: hipóstase, mf: meristema fundamental, pe: pericalaza, pr: procâmbio, te: tegumento externo, ts: tegumento seminal). Barras = $50 \mu m (30)$, $100 \mu m (31)$, $200 \mu m (29)$.



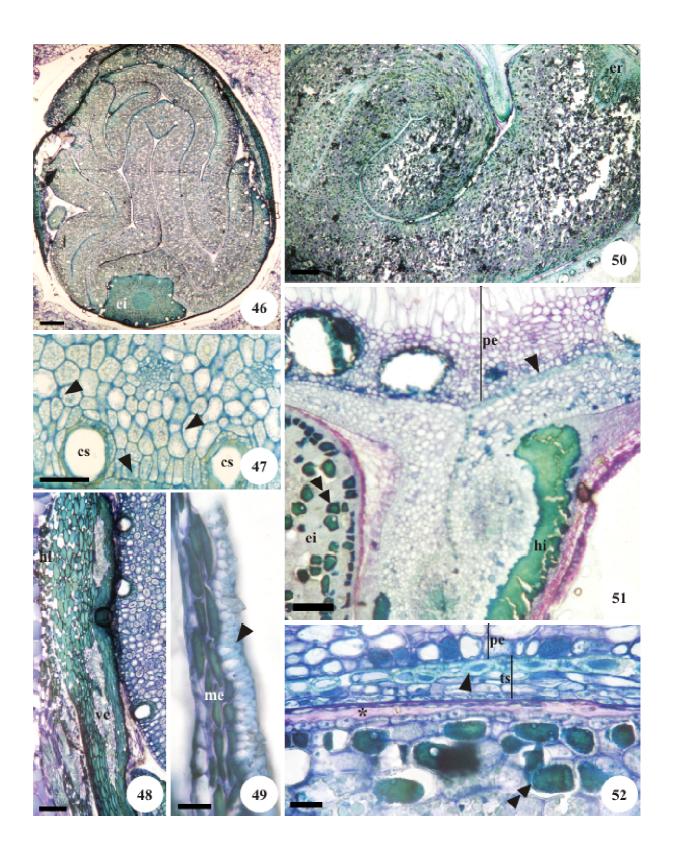
Figuras 32-39. Semente de *Campomanesia pubescens* em desenvolvimento. Secções longitudinais, exceto 38, que é transversal. 32-34. Semente em início de desenvolvimento. 32. Aspecto geral, com embrião globular. 33. Embrião globular e do endosperma nuclear (ponta de seta: núcleo livre do endosperma). 34. Tegumento. 35-39. Semente em desenvolvimento. 35. Aspecto geral. 36. Detalhe da figura anterior, mostrando eixo embrionário. 37. Endosperma celularizando. 38. Tegumento, destacando concrescimento com o pericarpo. 39. Extremidade distal da radícula do embrião. (ca: calaza, cf: coifa, ec: endosperma celularizado, ei: eixo embrionário, em: embrião, en: endosperma nuclear, ex: exotesta, hi: hipóstase, mf: meristema fundamental, nu: nucelo, oa: óvulo abortado, pc: pericarpo, pr: procâmbio, te: testa, tg: tégmen, vc: vascularização da região calazal). Barras = 10 μm (34), 25 μm (33), 50 μm (38, 39), 100 μm (37), 200 μm (32, 36), 400 μm (35).



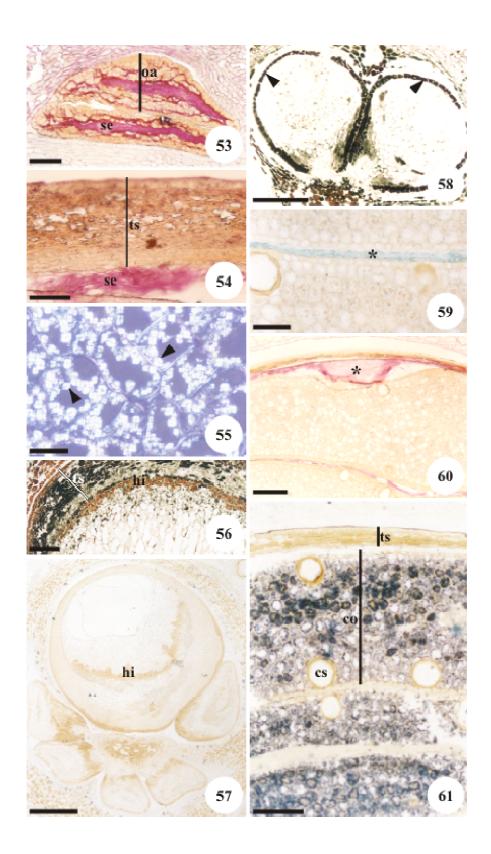
Figuras 40-45. Semente madura de *Eugenia punicifolia*. Secções transversais. 40-44. Envoltório seminal. 40. Região de transição entre a paquicalaza e o tegumento seminal. 41. Tegumento seminal (ponta de seta: células da mesotesta de paredes espessadas lignificadas). 42. Região paquicalazal do envoltório seminal (ponta de seta: células da mesotesta de paredes espessadas lignificadas). 43. Região paquicalazal com mesotesta totalmente lignificada. 44. Região do hilo (seta: redução de tamanho das células exotestais na região hilar). 45. Epiderme na face adaxial e das células do mesofilo cotiledonar, que acumulam grãos de amido (ponta de seta). (co: cotilédone, cu: cutícula, ed: epiderme adaxial do cotilédone, ex: exotesta, fc: feixe vascular da paquicalaza, hi: hipóstase, hl: hilo, me: mesotesta, pc: paquicalaza, tg: tégmen, ts: tegumento seminal, asterisco: resquício de nucelo e endosperma). Barras = 25 μm (43), 50 μm (41), 100 μm (42, 45), 200 μm (40, 44).



Figuras 46-52. Sementes maduras de *Myrcia bella* e *Campomanesia pubescens*. Secções transversais (46-48, 52). Secções longitudinais (49-51). 46-49. *Myrcia bella*. 46. Aspecto geral. 47. Cotilédone, evidenciando acúmulo de grãos de amido (pontas de seta). 48. Região do hilo (asterisco: resquícios de nucelo e endosperma). 49. Tegumento seminal (ponta de seta: espessamento em "U" da parede das células da exotesta). 50-52. *Campomanesia pubescens*. 50. Aspecto geral, focalizando embrião. 51. Aspecto da região calazal, mostrando hipóstase (ponta de seta: esclereídes da exotesta). 52. Tegumento (ponta de seta: esclereídes da exotesta, *: resquícios de nucelo e endosperma). (co: cotilédone, cs: cavidade secretora, ei: eixo embrionário, er: extremidade radicular, hi: hipóstase, me: mesotesta, pc: pericarpo, ts: testa, vc: vascularização da calaza, dupla ponta de seta: idioblastos fenólicos). Barras = 25 μm (49, 52), 70 μm (47), 100 μm (48, 51), 400 μm (46, 50).



Figuras 53-61. Testes microquímicos. 53-57. Eugenia punicifolia. 53-54. Vermelho de rutênio. 53. Óvulos abortados, com secreção que reagiu positivamente. 54. Semente em desenvolvimento, apresentando resquícios de endosperma que reagem positivamente. 55. Azul de comassiê em luz polarizada, evidenciando grãos de amido (ponta de seta) no embrião da semente em desenvolvimento. 56. Semente em desenvolvimento com teste para ácidos graxos (acetato de cobre associado a ácido rubeânico), evidenciando a presença de tais substâncias na mesotesta e sem reação nas células da hipóstase. 57-61. *Myrcia bella.* 57. Semente em início de desenvolvimento, sem reação ao teste com lugol, mostrando hipóstase. 58. Reação positiva da epiderme externa do tegumento externo (ponta de seta) dos óvulos do botão floral ao teste com acetato de cobre associado a ácido rubeânico. 59. Reação positiva da secreção presente entre os cotilédones (*) ao teste com azul de alcião. 60. Reação positiva da secreção presente entre os cotilédones (*) ao teste com vermelho de rutênio. 61. Cotilédones reagindo positivamente ao teste com lugol. (co: cotilédone, cs: cavidade secretora, hi: hipóstase, oa: óvulo abortado, se: secreção, ts: tegumento seminal). Barras = 40 μm (55), 70 μm (59), 80 μm (54), 110 μm (53), 140 μm (56, 58, 61), 170 μm (60), 270 μm (57).



CONCLUSÕES GERAIS

Analisando-se todos os resultados obtidos, pode-se concluir que as espécies de Myrtoideae estudadas assemelham-se em vários aspectos nos caracteres de fruto, mas apresentam diferenças marcantes no que diz respeito aos caracteres seminais.

Os frutos são carnosos e com textura pericárpica semelhantes; não apresentam regiões esclerificadas e a região que confere suculência ao pericarpo é o mesocarpo.

Já as sementes apresentam tegumento e embrião bastante variáveis, evidenciando a ampla diversidade morfológica presente nos caracteres seminais de espécies de Myrtaceae.

Embora todas as espécies estejam presentes no mesmo bioma e, portanto, submetidas às mesmas pressões ambientais, não foram encontradas características que pudessem se relacionar com adaptações ao cerrado. O padrão encontrado nos frutos e sementes das espécies estudadas reflete uma característica da família, e não uma resposta à pressão ambiental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ALHO, C.J.R.; MARTINS, E.S.. De grão em grão, o cerrado perde espaço (Cerrado – Impactos do processo de ocupação). WWF-Fundo Mundial para a Natureza. Brasília, 1995 *apud* ANDRADE, L.A.Z.; FELFILI, J.M.; VIOLATTI, L.. Fitossociologia de uma área de Cerrado denso na RECOR-IBGE, Brasília-DF. **Acta Botanica Brasilica**, v.16, p.225-240, 2002

BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F.; COSTA, C.G.; GUIMARÃES, E.F. Sistemática de angiospermas do Brasil. Viçosa: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 1991. v.2.

BEARDSELL, D.V.; O'BRIEN, S.P.; WILLIAMS, E.G.; KNOX, R.B.; CALDER, D.M. Reproductive biology of australian Myrtaceae. **Australian Journal of Botany**, v.41, p.511-526,1993.

BERG, O. Revisio Myrtacearum Americae huc usque cognitarum s. Klotzschii "Flora Americae aequinoctialis" exhibens Myrtaceas. **Linnaea**, v.27, p.1-472,1855-1856 *apud* LANDRUM, L.R.; KAWASAKI, M.L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v.49, p.508-536, 1997.

BERG, O. Myrtaceae. In: VON MARTIUS, C.F.P. (Ed). **Flora Brasiliensis.** Part 1. Lipsiae: Frid. Fleischer in Commv, 1857-1859. v.14, p.1-655 *apud* LANDRUM, L.R.; KAWASAKI, M.L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v.49, p.508-536, 1997.

BHATNAGAR, N. *et al.* Epicarpic studies in the development fruit of *Eugenia jambos* L. (Myrtaceae). **Journal of the Phytological Research,** v.10, p.9-14, 1997.

^{*} ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação - Referências - Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p. BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

BRIGGS, B.G.; JONHSON, L.A.S. Evolution in the Myrtaceae – evidence from inflorescence structure. **Proceedlings of the Linnean Society of New South Wales**, v.102, p.157-256, 1979.

BASE DE DADOS TROPICAL. Disponível em http://www.bdt.com.br. Acesso em: 20 jan. 2007.

CONTI, E.; LITT, A.; WILSON, P.G.; GRAHAM, S.A.; BRIGGS, B.G.; JOHNSON, L.A.S.; STYSMA, K.J. Interfamilial relationships in Myrtales: molecular phylogeny and patterns of morphological evolution. **Systematic Botany**, v.22, n.4, p.629-647, 1997.

CORNER, E.J.H. The seeds of Dicotyledons. Cambridge: University Press, 1976. 2v.

COSTA, I.R. Estudos cromossômicos em espécies de Myrtaceae Juss. no sudeste do Brasil. 2004. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

COUTINHO, L.M. O conceito de bioma. **Acta Botanica Brasilica**, v.20, p.13-23, 2006.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981.

DEMATTÊ, M.E.R.P. Ornamental use of brazilian Myrtaceae. **Acta Horticulturae**, v. 452, p.143-179, 1997.

EITEN, G. Delimitation of the cerrado concept. **Vegetatio**, v.36, p.201-341, 1978.

FELFILI, J.M.; SILVA-JÚNIOR, M.C.da. A comparative study of cerrado (*sensu strictu*) vegetation in Central Brazil. **Journal of the Tropical Ecology,** v.9, p.277-289, 1993.

FORNI-MARTINS, E.R.; PINTO-MAGLIO, C.A.F.; CRUZ, N.D. Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. **Revista Brasileira de Genética**, v.18, p.281-288, 1995.

FORNI-MARTINS, E.R.; MARTINS, F.R. Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. **Genetics and Molecular Biology,** v.23, p.947-955, 2000.

GADEK, P.A.; WILSON, P.G.; QUINN, C.J. Phylogenetic reconstruction in Myrtaceae using *matK*, with particular reference to the position of *Psiloxylon* and *Heteropyxis*. **Australian Journal of Botany,** v.9, p.283-290, 1996.

GENTIL, D.F.O.; CLEMENT, C.R. The araza (*Eugenia stipitata*): results and research directions. **Acta Horticulturae**, v.452, p.9-17, 1997.

HARON, N.W.; MOORE, D.M. The taxonomic significance of leaf micromorphology in the genus *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Botanical Journal of Linnean Society,** v.120, p.265-277, 1996.

HERINGER, E.P.; BARROSO, G.M.; RIZZO, J.A.; RIZZINI, C.T. A flora do cerrado. In: FERRI, M.G.(Ed.). SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 4., 1997, São Paulo. **Anais** ... Belo Horizonte: Livraria Itatiaia Editora; São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1997. p.211-232.

HERNÁNDEZ, M.; ARJONA, H.; COBA, B.; FISCHER, G.; MARTÍNEZ, O. Crescimiento físico y anatómico del fruto de arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh). **Agronomía Colombiana**, v.19, n.1-2, p.13-21, 2002.

HEYWOOD, V.H. Flowering plants of the world. London: B.T. Barsford Ltda, 1993.

IKEDA, M. Studies on fruit characteristics and seedless fruit formation of semarang rose apple, *Syzygium javanicum* Merr. & Perry, in south Vietnum. **Memoirs of the Faculty of Agriculture (Kagoshima University)**, v.15, p.55-62, 1979.

JOHNSON, L.A.S.; BRIGGS, B.G. Myrtales and Myrtaceae – a phylogenetic analysis. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.71, p.700-756, 1984.

JORGE, L.I.F.; AGUIAR, J.P.L.; SILVA, M.L.P. Anatomia foliar de pedra-hume-caá (*Myrcia sphaerocarpa*, *Myrcia guianensis*, *Eugenia punicifolia* – Myrtaceae). **Acta Amazonica**, v.30, p.49-57, 2000.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. **Plant systematics**: a phylogenetic approach. Massachusetts: Sinauer Associates Inc. Publishers, 1999.

KLINK, C.A. Relação entre o desenvolvimento agrícola e a biodiversidade. In: PEREIRA R.C.; NASSER, L.C.B. (Eds.). SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 8., INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL SAVANAS — BIODIVERSIDADE E PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ALIMENTOS E FIBRAS NOS CERRADOS, 1., 1996, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa-CPAC, 1996. p.25-27. *apud* ANDRADE, L.A.Z.; FELFILI, J.M.; VIOLATTI, L. Fitossociologia de uma área de Cerrado denso na RECOR-IBGE, Brasília-DF. **Acta Botanica Brasílica**, v.16, p.225-240, 2002.

LANDRUM, L.R. The development of the fruits and seeds of *Campomanesia* (Myrtaceae). **Brittonia**, v.34, p.220-224, 1982.

LANDRUM, L.R. *Campomanesia*, *Pimenta*, *Blepharocalyx*, *Legrandia*, *Acca*, *Myrrhinium*, and *Luma* (Myrtaceae). New York: Botanical Garden, 1986. (Flora Neotropica Monograph, 45).

LANDRUM, L.R.; SHARP, W.P. Seed coat characters of some americam Myrtinae (Myrtaceae): *Psidium* and related genera. **Systematic Botany**, v.14, p.370-376, 1989.

LANDRUM, L.R.; KAWASAKI, M.L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v.49, p.508-536, 1997a.

LANDRUM, L.R.; KAWASAKI, M.L. A rare and potentially economic fruit of Brazil: cambuci, *Campomanesia phaea* (Myrtaceae). **Economic Botany**, v.51, p.403-407, 1997b.

LEGRAND, C.D.; KLEIN, R.M. *Myrcia* DC. (Fasc. Mirt.). In: REITZ, R.(Ed.). Flora **Ilustrada Catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1969. p.219-330.

MARZINEK, J.; MOURÃO, K.S.M. Morphology and anatomy of the fruit and seed in development of *Chorisia speciosa* A. St.-Hil. – Bombacaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, p.23-34, 2003.

MAURITZON, J. Contributions to the Orders Rosales and Myrtales. **Acta University Lund,** v.35, p.1-121, 1939 *apud* BEARDSELL, D.V.; O'BRIEN, S.P.; WILLIAMS, E.G.; KNOX, R.B.; CALDER, D.M. Reproductive biology of australian Myrtaceae. **Australian Journal of Botany,** v.41, p.511-526, 1993.

MCVAUGH, R. The genera of american Myrtaceae – an interim report. **Taxon,** v.17, p.354-418, 1968.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR., M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E. Flora vascular do cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. (Eds.). **Cerrado:** ambiente e flora. Brasília: Embrapa-CPAC, 1998. p.288-556.

MERRILL, E.D.; PERRY, L.M. The myrtaceous genus *Syzygium* Gaertner in Borneo. **Memoirs of the American Academy of Arts and Science,** v.18, p.135-202, 1939.

MORI, S.A.; BOOM, B.M.; CARVALINO, A.M.de; SANTOS, T.S.dos. Ecological importante of Myrtaceae in an eastern brazilian wet forest. **Biotropica**, v.15, p.68-70, 1983.

NADAL, N.G.M. Nonterpenic fraction of Puerto Rican bay oil, *Myrcia acris*. **American Perfumer Aromatic**, v.73, p.22-24, 1959 *apud* JORGE, L.I.F.; AGUIAR, J.P.L.; SILVA, M.L.P. Anatomia foliar de pedra-hume-caá (*Myrcia sphaerocarpa*, *Myrcia guianensis*, *Eugenia punicifolia* – Myrtaceae). **Acta Amazonica**, v.30, p.49-57, 2000.

NIC LUGHADHA, E.; PROENÇA, C. A survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden,** v.83, p.480-503, 1996.

NIC LUGHADHA, E.; SNOW, N. Biology and evolution of the Myrtaceae: a symposium. **Kew Bulletin,** v.55, p.591-592, 2000.

NIEDENZU, F. Myrtaceae. In: ENGLER, H.G.A.; PRANTL, K.A.E. (Eds). **Die Naturlichen Pflanzenfamilien III** (7). Leipzig: Englemann, 1893. p.57-105 *apud* SCHMID, R. Comparative anatomy and morphology of *Psiloxylon* e *Heteropyxis*, and the subfamilial and tribal classification of Myrtaceae. **Taxon**, v.29, p.559-595, 1980.

PIZO, M.A. The seed-dispersers and fruit syndromes of Myrtaceae in the brazilian Atlantic forest. In: LEVEY, D.J.; SILVA W.R.; GALETTI, M. (Eds.). **Seed dispersal and frugivory:** ecology, evolution and conservation. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p.129-143.

PROENÇA, C.E.B.; GIBBS, P.E. Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. **New Phytologist**, v.126, p.343-354, 1994.

RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P.(Eds.). **Cerrado**: ambiente e flora. Brasília:Embrapa-CPAC, 1998. p.89-166.

RYE, B.L.; JAMES, S.H. The relationship between dysploidy and reproductive capacity in Myrtaceae. **Australian Journal of Botany,** v.40, p.829-848, 1992.

SCHMID, R. A resolution of the *Eugenia-Syzygium* controversy (Myrtaceae). **American Journal of Botany,** v.59, p.423-436, 1972a.

SCHMID, R. Floral anatomy of Myrtaceae. I. *Syzygium.* **Botanische Jahrbücher für Systematik,** v.92, p.433-489, 1972b.

SCHMID, R. Comparative anatomy and morphology of *Psiloxylon* e *Heteropyxis*, and the subfamilial and tribal classification of Myrtaceae. **Taxon**, v.29, p.559-595, 1980.

SILVA, R.S.M.; CHAVES, L.J.; NAVES, R.V. Caracterização de frutos e árvores de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) no sudeste do estado de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura,** v.23, p.330-334, 2001.

SILVA, C.V.; BILIA, D.A.C.; MALUF, A.M.; BARBEDO, C.J. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. – Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica,** v.26, p.213-221, 2003.

SYTSMA, M.; NEPOKROEFF, M.; PIRES, J.C. The utility of *ndhF* sequence analysis in Myrtales, with emphasis on the relationships within the Myrtaceae and Melastomataceae clade. **American Journal of Botany**, v.83, p.197, 1996 (abstract).

TOBE, H.; RAVEN, P.H. An embryological analysis of Myrtales: its definition and characteristics. **Annals of Missouri Botanical Garden,** v.70, p.71-94, 1983.

TOLEDO-FILHO, D.V.; LEITÃO FILHO, H.F.; RODRIGUES, T.S. Composição florística de área de cerrado em Mogi-Mirim (SP). **Boletim Técnico do Instituto Florestal**, v.38, p.165-175, 1984.

VAN WYK, A.E. A note on the seed morphology of the genus *Eugenia* L. (Myrtaceae) in southern Africa. **Journal of South African Botany**, v.46, p.115-119, 1980 *apud* VAN WYK, A.E.; BOTHA, R. The genus *Eugenia* (Myrtaceae) in southern Africa: ontogeny and taxonomic value of the seed. **South African Journal of Botany**, v.3, p.63-80, 1984.

VAN WYK, A.E.; BOTHA, R. The genus *Eugenia* (Myrtaceae) in southern Africa: ontogeny and taxonomic value of the seed. **South African Journal of Botany,** v.3, p.63-80, 1984.

WILSON, P.G.; O'BRIEN, M.M.; GADEK, P.A.; QUINN, C.J. Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. **American Journal of Botany**, v.88, p.2013-2025, 2001.

ZORZETTO, R.; FIORAVANTE, C.; FERRONI, M. A floresta renasce. **Pesquisa Fapesp**, v.91, p.48-53, 2003.nnx