

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**ESTUDOS ONTOGENÉTICOS E HISTOQUÍMICOS DE FRUTOS EM ESPÉCIES
DE BROMELIACEAE JUSS.**

Dissertação de Mestrado

Fernanda dos Santos Silva

Porto Alegre

2011

Fernanda dos Santos Silva

**ESTUDOS ONTOGENÉTICOS E HISTOQUÍMICOS DE FRUTOS EM ESPÉCIES
DE BROMELIACEAE JUSS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Botânica.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Alexandra Antunes Mastroberti

Porto Alegre

2011

*“Toda trilha é andada com a fé de quem crê no ditado
de que o dia insiste em nascer...”*

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (PPGBot-UFRGS), pelas experiências profissionais adquiridas durante os dois anos do curso de Mestrado. Em especial às Coordenadoras: Prof^ª. Dr^ª. Rosa Mara Borges da Silveira e Prof^ª. Dr^ª. Janette Palma Fett. Agradeço pelo respeito e pela acolhida durante minha permanência no Programa.

À Prof^ª. Dr^ª. Alexandra Antunes Mastroberti, pela orientação na execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araujo Mariath, por disponibilizar a estrutura do Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVeg), sem a qual a realização deste trabalho não seria possível.

Aos membros da banca examinadora, Prof^ª. Dr^ª. Denise Maria Trombert de Oliveira, Prof. Dr. João Marcelo dos Santos Oliveira e Prof. Dr. Rinaldo Pires dos Santos, escolhidos pelo respeito que tenho pelas suas trajetórias profissionais, agradeço pela disponibilidade em avaliar este trabalho.

À Juliana Troleis, técnica do LAVeg, pelo atendimento exemplar.

À Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, pela autorização de coleta na Coleção de Bromeliaceae do Jardim Botânico de Porto Alegre; e, mais especificamente, à curadora Dr^ª. Andréia Carneiro, e aos funcionários da Coleção, pela atenção durante as coletas.

Ao Prof. Dr. Nelson Ivo Matzenbacher, por permitir as coletas na maravilhosa Fazenda São Maximiano e por, muitas vezes, me dar o privilégio de sua valiosa companhia durante o trabalho de campo.

À Greta Aline Dettke, Jaqueline Durigon, Luis Fernando Paiva Lima e Raquel Inocente Magalhães, pela companhia e pela grande ajuda nas coletas do material botânico.

Aos professores com quem tive a chance de conviver e aprender muito durante os dois anos do Mestrado. Agradeço aos docentes: Maria Luisa Lorscheitter, Hilda Maria Longhi-Wagner, Tatiana Teixeira Souza Chies, Gilson Volpato, Gabriel Hugo Rua, Arthur Germano Fett Neto e Rodrigo Bustos Singer, pelos ensinamentos que foram de extrema significância para minha carreira. Ao Prof. Rodrigo, especialmente, agradeço também pelo respeito e pela convivência durante o segundo ano de Mestrado.

Aos colegas de LAVeg pela boa convivência durante esses dois anos, especialmente às

queridas Claudete Pacheco, Roberta dos Anjos e Sofia Aumond Kuhn.

Aos meus amigos e colegas de PPGBot, a “turminha do outro lado”: Bianca Batista Spalding, Cassiano Aimberê Dorneles Welker, Jaqueline Durigon, Luis Fernando Paiva Lima, Marc Emerim, Maria Angélica Kieling-Rubio, Priscila Ceribola Crespan, Priscila Porto Alegre Ferreira, Talita Camargo, pela amizade, pelo “asilo científico”, pela companhia, pelo respeito, pelo carinho, pelas risadas... E, tudo mais de bom que vocês me proporcionaram!

Aos demais colegas de PPGBot pela boa convivência nas disciplinas, seminários, reuniões, mesas do R.U... Pelo chimarrão e pelas idéias compartilhadas. Às vezes uma simples conversa fez toda a diferença!

Às minhas amigas (parceiras, cúmplices, companheiras, comparsas, escudeiras, guerreiras) agradeço pelo apoio incondicional! Às minhas sete irmãs nessa caminhada, sou grata por termos chorado juntas nos momentos difíceis e por termos chorado de tanto rir nos muitos, muitos, muitos momentos de alegrias que passamos juntas! Eu sou sortuda por tê-las conhecido. Escrevo agora um pouco (com certeza, muito pouco) para cada uma dessas “gurias” incríveis:

À Aline Tonin Carvalho, pela companhia, pela amizade, por ter permitido que eu partilhasse de suas alegrias, por ser corajosa ao ter aceitado a dupla jornada, lecionar e fazer pós-graduação, pelas risadas e pelo jeitinho provocador.

À Anelise Hertzog, “minha simbiote”, pelos muitos anos de amizade, de carinho, de cumplicidade e de confidências! Por permitir vê-la amadurecer pessoal e profissionalmente (sem perder a meiguice e a leveza que são tão características dela) e por contrapartida fazer parte do meu crescimento (e adicionar um pouco de sua meiguice e leveza). Sou grata pelos altos e baixos da nossa amizade, que acabaram por consolidá-la. Enfim, por ser tão diferente de mim e, ainda sim, nossa amizade dar certo.

À Carla Maria Garlet de Pelegrin, por ser muitas vezes parecida comigo, pelo seu “mimimi” que lhe é peculiar e que deixará saudade! Pelas grandes discussões sobre temas anatômicos, por ser uma professora incrível, por compartilhar angústias e esperanças, pelas viagens, pelas acolhidas na casa dela, pelas saídas às compras, pelas fugas ao “Cavanhas” e muito mais!

À Daniele Munareto Rodrigues, minha pequena grande guerreira, pelas conversas sobre o futuro, pela confiança, por aprender um pouco comigo a fazer planos, fazê-los e depois mudá-los, pois a vida tem dessas coisas. Por me ensinar que “nada nessa vida acontece por acaso”. Pela sensibilidade, pela sua capacidade observadora, por nunca desistir, pelos surtos de risadas que tínhamos quando estávamos juntas. Isso era simplesmente inevitável!

À Greta Aline Dettke, agradeço pela amizade, pelo carinho, pelo respeito, pela sensibilidade e pela confiança. Por ser uma grande ouvinte, por ter uma paciência ímpar mesmo tarde da noite. Sou grata por partilhar pontos de vista, experiências, coletas... Agradeço pelas sugestões acerca das espécies do meu trabalho, por ter me indicado locais de coleta e por tantas outras contribuições durante esse caminho. Por ser uma profissional consolidada ainda tão jovem, sempre digo que “quando eu crescer, eu quero ser como tu és!”.

À Natividade Ferreira Fagundes, minha querida parceira de Projeto agradeço por ter trazido para a minha vida as lindas bromeliáceas (de maneira irreversível), por ter ajudado na delimitação do meu projeto, pelas discussões e leituras críticas. Por ser uma pessoa muito generosa, extremamente pacífica e boa em sua essência. Aprendi muito ao conviver contigo!

À Raquel Inocente Magalhães, minha parceira de Mestrado e Projeto. Agradeço por partilhar comigo as suas descobertas (que não foram poucas) sobre a família Bromeliaceae e sobre a vida acadêmica. Por dividir comigo as alegrias, as angústias, os artigos, as discussões anatômicas e filosóficas, os gostos, os planos e as “negas-malucas” no Bar do Ildo durante esses dois anos. Pelo seu senso de justiça e de crítica. Pelo jeitinho organizado e metódico de ser. Por também ser uma planejadora nata. Ainda lembro o dia em que, de repente, passamos a caminhar lado a lado!

E, por último, agradeço aos meus pais, Rejane e Alberi. Embora esse agradecimento esteja no final, ele representa o começo. De fato, sem eles, nada existiria. Sou grata por ter uma família com valores consolidados. Meus pais me ensinaram a ser responsável, a ser independente, a ser comprometida, a ter respeito pelas pessoas a despeito das titulações ou das contas bancárias. Agradeço pela paciência durante a realização do Mestrado, por suportar as oscilações de humor, por entender a minha ausência durante essa jornada (mesmo quando estava em casa, mas era apenas um par de olhos voltados para a tela do computador). Sou grata pelo amor incondicional, pelo sacrifício pessoal, por permitirem e incentivarem que eu siga o meu caminho.

APOIO:



SUMÁRIO

Capítulo I

Fundamentação Teórica	13
1.1 Bromeliaceae: caracterização e relações filogenéticas	14
1.2 Fruto: estudos ontogenéticos e taxonômicos	17
1.3 Apresentação dos gêneros e das espécies	20
1.3.1 O gênero <i>Dyckia</i> Schult. f. – Pitcairnioideae	20
1.3.2 O gênero <i>Tillandsia</i> L. - Tillandsioideae	22
1.3.2 O gênero <i>Bromelia</i> L. – Bromelioideae	23
1.4 Objetivos	25
1.4.1 Objetivo geral	25
1.4.2 Objetivos específicos	25
Referências.....	26

Capítulo II

Artigo I. Ontogenia de cápsulas de <i>Dyckia</i> Schult. f. (Pitcairnioideae - Bromeliaceae): deiscência e possibilidades taxonômicas	34
Resumo	35
Introdução	36
Material e Métodos	37
Resultados	38
Discussão	39
Referências	43
Referências	50

Capítulo III

Artigo II. Ontogenia e histoquímica do pericarpo de <i>Tillandsia geminiflora</i> Brong. (Tillandsioideae - Bromeliaceae)	63
Resumo	64
Introdução	65
Material e Métodos	66
Resultados	68
Resultados	69

Discussão	72
Referências	76
Capítulo IV	89
Artigo III. Vascularização floral e ontogenia do fruto proveniente de ovário ínfero de <i>Bromelia antiacantha</i> Bert. (Bromelioideae - Bromeliaceae)	90
Resumo	91
Introdução	92
Material e Métodos	93
Resultados	94
Discussão	97
Referências	101
Capítulo V	114
Considerações Finais	115

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo I – Fundamentação Teórica

Prancha 1. As espécies de <i>Dyckia</i> Schult.	31
Prancha 2. A espécie <i>Tillandsia geminiflora</i> Brong.	32
Prancha 3. A espécie <i>Bromelia antiacantha</i> Bert.	33

Capítulo II

Artigo I. Ontogenia de cápsulas de *Dyckia* Schult. f. (Pitcairnioideae - Bromeliaceae): deiscência e possibilidades taxonômicas

Figuras 1-5. Características do ovário em pré-antese	55
Figuras 6-13. Características do ovário em antese e da cápsula imatura	57
Figuras 14-21. Características da cápsula imatura e da madura	59
Tabela 1. Resultados da caracterização histoquímica de exocarpo	60
Figuras 22-31. Testes histoquímicos realizados no exocarpo	62

Capítulo III

Artigo II. Ontogenia e histoquímica do pericarpo de *Tillandsia geminiflora* Brong. (Tillandsioideae – Bromeliaceae)

Figura 1-6. Características do ovário em pré-antese e em antese	81
Figura 7-13. Características da cápsula imatura e da madura	83
Figura 14-20. Características da cápsula madura e da deiscente	85
Tabela 1. Resultados da caracterização histoquímica de pericarpo	86
Figura 21-34. Testes histoquímicos realizados no pericarpo	88

Capítulo IV

Artigo III. Vascularização floral e ontogenia do fruto proveniente de ovário ínfero de *Bromelia antiacantha* Bert. (Bromelioideae - Bromeliaceae)

Figura 1. Esquema do botão floral em seção longitudinal	105
---	-----

Figuras 2-7. Esquemas da vascularização a partir de seções transversais	107
Figura 8-11. Características do ovário	109
Tabela 1. Características do ovário e fruto imaturo	111
Figura 21-34. Características do fruto maduro	113

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação encontra-se dividida em cinco capítulos: o primeiro capítulo fornece a fundamentação teórica acerca das diferentes abordagens e conceitos que compõem a discussão dos resultados; o segundo aborda a ontogênese dos frutos de três espécies de *Dyckia* Schult. f., o terceiro trata da ontogenia e a histoquímica da cápsula de *Tillandsia geminiflora* Brong., o quarto envolve o estudo de vascularização floral e ontogenia do fruto de *Bromelia antiacantha* Bert. e o quinto, e último, capítulo apresenta as considerações finais.

O manuscrito referente ao segundo capítulo será submetido ao periódico *Botanical Journal of Linnean Society*. O manuscrito referente ao terceiro capítulo será submetido ao periódico *Acta Botanica Brasilica*, e o quarto capítulo será submetido ao periódico *Flora*. A escolha dos periódicos para submissão está conforme a pertinência do tema do manuscrito ao escopo do periódico.

RESUMO

Bromeliaceae atualmente conta com 58 gêneros e cerca de 3100 espécies de distribuição essencialmente neotropical, sendo um dos elementos mais marcantes nas florestas tropicais americanas. Recentemente a sistemática da família reconheceu oito subfamílias. Entretanto, persistem os problemas de circunscrição em nível genérico. Assim, é evidente a necessidade de continuar os trabalhos filogenéticos e investir na busca por novas abordagens, como trabalhos em anatomia comparada, para estabelecer gêneros monofiléticos e para melhorar a distinção entre as espécies. Nesse sentido, estudos estruturais de fruto contribuem com dados relevantes para a sistemática das angiospermas, além de possibilitar a compreensão da ontogênese desse órgão. Para a família Bromeliaceae, até o momento foram registrados apenas três trabalhos com frutos e somente um deles realizou inferências taxonômicas. O presente estudo tem por objetivos descrever a anatomia e a ontogenia de frutos representantes das três subfamílias de Bromeliaceae ocorrentes no Brasil, analisar através da histoquímica a estrutura das cápsulas de espécies das Pitcairnioideae (*Dyckia remotiflora* Otto & Diet., *D. reitzii* L.B.Sm., *D. distachya* Hass) e Tillandsioideae (*Tillandsia geminiflora* Brong.) além de estudar a vascularização floral em *Bromelia antiacantha* Bert. (Bromelioideae) para a delimitação ontogenética da participação carpelar e do hipanto na formação da parede do fruto bacáceo. Para o estudo anatômico procederam-se as rotinas de processamento de material para a confecção de lâminas histológicas e para a histoquímica. O material resultante foi submetido à análise sob microscopia óptica. As cápsulas biscidas das de *Dyckia* Schult. f. apresentam uma estrutura anatômica geral do pericarpo homogênea em relação à presença de tecidos mecânicos. Apresentam exocarpo composto por macroesclereídes, hipoderme esclerenquimática, calota de esclereídes sobre a nervura dorsal, fibras adjacentes às suturas ventrais e endocarpo esclerenquimático. Essa composição histológica está intimamente relacionada ao processo de deiscência. Entre as espécies existem diferenças em relação ao número de camadas componentes do mesocarpo, a presença de pluriestratificações na hipoderme e a presença de estruturas secretoras. A cápsula septicida de *T. geminiflora* também apresenta uma estruturação dos tecidos mecânicos marcante e aparentemente homogênea para a subfamília Tillandsioideae (conforme avaliada em trabalhos anteriores), com a presença de esclereídes no exo e endocarpo, que apresentam o espessamento secundário de parede em formato de “U” em seção transversal, bainha esclerenquimática em torno da nervura dorsal, presença de camadas comprimidas na porção mediana do mesocarpo e presença de fibras na região ventral. Além disso, células secretoras de mucilagem foram observadas no mesocarpo dessa espécie. A composição química das paredes secundárias das cápsulas das espécies de Pitcairnioideae e Tillandsioideae foi de difícil caracterização através dos testes histoquímicos empregados. Embora a natureza fenólica dessas paredes tenha sido claramente demonstrada, não foi possível delimitar especificamente a classe dos compostos que impregnam as paredes dessas células esclerenquimáticas. Demonstrando a necessidade de outras técnicas que permitam o isolamento e a caracterização desses compostos suas implicações nas propriedades fisiológicas das cápsulas. Com relação ao estudo de vascularização floral e de ontogênese do pericarpo carnoso de *B. antiacantha* fica evidente que a porção extra-carpelar (hipanto) componente do ovário e do fruto é de origem apendicular, condição mais comum encontrada entre as angiospermas. No contexto de Bromeliaceae, os hipantos de origem apendicular e de origem receptacular já foram descritos na literatura. Dessa forma, existindo variação em relação à origem dos tecidos extra-carpelares na subfamília Bromelioideae, seria prematura a designação de um termo que caracterize esse fruto carnoso, sendo sugerido a manutenção do termo *baga* para tal, visto que é um termo que em sua gênese não distingue entre frutos provenientes de ovário súpero e ínfero.

Palavras-chave: anatomia, Bromeliaceae, fruto, histoquímica, ontogenia.

CAPÍTULO I

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 Bromeliaceae: caracterização e relações filogenéticas

Bromeliaceae conta com 58 gêneros e cerca de 3.100 espécies (Luther 2008) de distribuição essencialmente neotropical, constituindo-se como um dos elementos mais marcantes nas florestas tropicais americanas (Benzing 2000). Três centros de diversidade podem ser reconhecidos para o grupo: o leste do Brasil, nos domínios da Floresta Atlântica, o Escudo das Guianas e os Andes (Smith & Downs 1974, Siqueira Filho & Leme 2006, Martinelli *et al.* 2008). A família se destaca como uma das mais diversificadas e com maiores taxas de endemismo no Brasil, com registro de 42 gêneros e 1.207 espécies, das quais 1.030 são endêmicas do território brasileiro (Forzza *et al.* 2010).

Trabalhos sobre a biogeografia histórica da família demonstraram que as linhagens modernas das bromeliáceas começaram a divergir uma das outras há cerca de 19 milhões. Além disso, o grupo teria surgido no Escudo das Guianas ao Norte da América do Sul e, posteriormente se espalhado centripetamente pelo Novo Mundo. A família só alcançou o Oeste africano tropical através de dispersão à longa distância em um período relativamente recente em escala geológica, cerca de 10 milhões de anos atrás (Givnish *et al.* 2007).

As bromeliáceas são ervas terrícolas, saxícolas, rupícolas ou epífitas. As folhas dessas plantas geralmente dispõem-se helicoidalmente, em forma rosetada. A presença de bainhas nas bases foliares, muitas vezes, permite a formação de um recipiente que armazena água (Reitz 1983).

As inflorescências são simples ou compostas, com presença de brácteas coloridas. As flores são perfeitas ou raramente imperfeitas, o perianto é heteroclamídeo, trímero, sendo as peças florais livres entre si, ou fusionadas de diferentes formas. Os estames são em número de seis, com os filetes livres ou fusionados entre si ou às pétalas. As flores apresentam ovário súpero (todas as subfamílias exceto Bromelioideae) ou ínfero, tricarpelar e trilocular. Os

frutos são do tipo cápsula ou baga (exclusivo de Bromelioideae). As sementes podem ser nuas, aladas ou plumosas (Reitz 1983).

As bromeliáceas são encontradas em uma grande variedade de habitats. As mesófitas prevalecem em ambientes com alta umidade como em florestas tropicais de terras baixas, enquanto as xerófitas com metabolismo do tipo CAM (metabolismo ácido das crassuláceas) são capazes de habitar ambientes secos como em savanas, campos rupestres, ambientes desérticos e mesmo sobre rochas nuas (Smith & Till 1998).

A família Bromeliaceae sempre foi reconhecida como um grupo natural, mas seu posicionamento nas monocotiledôneas já foi motivo de discordâncias nos diferentes sistemas de classificação (e.g. Dahlgren *et al.* 1985, Cronquist 1988). Atualmente, a família é sustentada como monofilética por análises filogenéticas a partir de dados morfológicos e moleculares (Stevenson & Loconte 1995, Chase *et al.* 2000), e representa uma linhagem de divergência precoce em dentro de Poales, juntamente com Rapateaceae e Typhaceae (APG 2009, Judd *et al.* 2009). Algumas características morfológicas que sustentam a monofilia de Poales são os corpos silicosos presentes na epiderme, endosperma nuclear e perda das ráfides pela maior parte das famílias (Judd *et al.* 2009).

Os estudos filogenéticos sustentam a monofilia da família Bromeliaceae (Barfuss *et al.* 2005), as sinapomorfias dessa família incluem: presença de escamas peltadas, corpos silicosos solitários, perianto diferenciado em cálice e corola, estigmas retorcidos e espiralados e número cromossômico básico $x=25$ (Smith & Till 1998).

Tradicionalmente eram reconhecidas três subfamílias em Bromeliaceae: Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Bromelioideae (Smith & Downs 1974). Esses agrupamentos se distinguem pela morfologia das flores, frutos e sementes. Pitcairnioideae com ovário súpero, fruto capsular deiscente e sementes aladas (ou raramente nuas); Tillandsioideae com ovário súpero, fruto capsular deiscente e sementes possuidoras de apêndices plumosos e

Bromelioideae com ovário ínfero, frutos bacáceos e sementes ditas nuas (Smith & Downs 1974, 1977, 1979; Smith & Till 1998).

Se por um lado a delimitação de Bromeliaceae parece não levantar dúvidas, por outro, as circunscrições das categorias infrafamiliares, especialmente das subfamílias e dos gêneros, têm sido amplamente questionadas e modificadas ao longo das últimas décadas (por exemplo, Gouda 1994, Grant 1996, Leme 1997, Givnish *et al.* 2004, 2007). Com relação às três subfamílias, a publicação dos primeiros trabalhos baseados nos princípios da escola filogenética (Gilmartin & Brown 1987, Terry *et al.* 1997, Horres *et al.* 2000), deixou evidente a artificialidade das divisões propostas por Smith & Downs (1974).

Dando continuidade aos trabalhos filogenéticos para melhor elucidar as relações de parentesco entre as espécies e gêneros dentro da família, Givnish *et al.* (2004, 2007) ampliaram consideravelmente o número de terminais incluídos nas análises e corroboraram a monofilia de Bromelioideae e Tillandsioideae e a não-monofilia de Pitcairnioideae. Assim, baseando-se nestes resultados, Givnish *et al.* (2007) propuseram uma nova divisão para a família, onde os diferentes clados de Pitcairnioideae são tratados separadamente, elevando para oito o número de subfamílias, sendo elas: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae. Além disso, o trabalho de Givnish *et al.* (2007) também confirmou a visão tradicional de que Bromelioideae e Tillandsioideae evoluíram de um ancestral “pitcairnioideo”.

As novas cinco subfamílias propostas apresentam distribuições geográficas restritas, sendo encontradas na América Central (Hechtioideae e Puyoideae), nos Andes (Puyoideae) e nas Guianas (Brocchinioideae, Lindmanioideae e Navioideae) (Givnish *et al.* 2007). As subfamílias que ocorrem naturalmente são, Tillandsioideae, Pitcairnioideae e Bromelioideae (Smith & Downs 1974, 1977, 1979)

Entretanto, mesmo após alguns avanços na classificação das subfamílias de

Bromeliaceae resultando na formação de agrupamentos naturais, a delimitação de alguns gêneros ainda é muito tênue e discutível. Os gêneros *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia* L., por exemplo, são distintos apenas pela presença ou ausência de apêndices petalíneos (Smith & Downs 1977). Brown & Terry (1992) consideraram esta característica instável, sendo um caráter mais apropriadamente usado quando em nível de espécie e não para grandes grupos. As análises cladísticas de um grande conjunto de dados morfológicos para *Aechmea* Ruiz & Pav. e gêneros relacionados, também indicaram altos níveis de homoplasia para os caracteres previamente usados na taxonomia dessas bromeliáceas (Schulte & Zizka 2008). Assim, a persistência desses problemas taxonômicos e sistemáticos demonstra a necessidade de continuar os trabalhos filogenéticos e investir na busca por novas abordagens, como trabalhos em anatomia comparada, para o estabelecimento de gêneros monofiléticos, além de uma melhor distinção entre as espécies.

1.2 Fruto: estudos ontogenéticos e taxonômicos

Na literatura botânica o fruto é definido classicamente como o ovário fecundado, desenvolvido e amadurecido. Eames & MacDaniels (1947) definem o fruto como sendo o ovário desenvolvido e maduro, ou o desenvolvimento do ovário associado às peças florais adjacentes ou com outras peças florais. Segundo Spjut (1994), o fruto pode ser definido como uma unidade de propagação que se desenvolve de um ou mais rudimentos seminiais fecundados (raramente por partenocarpia) ligados a megasporófilos, ou a um complexo escama-megasporófilo, num estróbilo, cone ou gineceu. Nessa unidade podem ocorrer, ainda, escamas, brácteas, perianto ou partes de inflorescências.

O pericarpo é a porção do fruto oriunda da parede do ovário e é constituído de exocarpo (camada mais externa), de mesocarpo (porção mediana) e de endocarpo (camada

mais interna) (Souza 2006). A definição das camadas do pericarpo, segundo Roth (1977), varia de acordo com o ponto de vista do autor. Para essa autora, a descrição da composição histológica das camadas pericárpicas pode ser *lato* ou *stricto sensu*. Em *lato sensu*, o exocarpo e o endocarpo poderiam ser constituídos no fruto por suas respectivas faces epidérmicas, externa e interna, e pelos tecidos subepidérmicos. No *stricto sensu* o exocarpo e o endocarpo compreenderiam apenas as faces epidérmicas, os demais tecidos da parede do fruto formariam o mesocarpo.

O pericarpo possui muitas funções, primariamente protege o embrião de danos provocados por fatores bióticos e abióticos. Desse modo, o pericarpo pode desenvolver estratos mecânicos como, por exemplo, um endocarpo esclerenquimático. Outra importante função do pericarpo é dispersão de sementes, que é especialmente bem desenvolvida nos frutos deiscentes. Além disso, o pericarpo também é importante no desenvolvimento da semente, pois além das funções protetoras mantém as sementes úmidas, prevenindo a desidratação (Roth 1977).

O processo de maturação dos frutos envolve, principalmente, mudanças químicas da parede celular e do conteúdo celular, modificações do teor de água e alterações anatômicas. A deiscência, as mudanças de textura e de coloração também fazem parte do amadurecimento dos frutos (Roth 1977). Muitos frutos, como legumes e cápsulas, amadurecem com a redução significativa do teor de água do pericarpo. Esses frutos são considerados secos e podem se abrir, liberando suas sementes. Por outro lado, outros frutos, como bagas e drupas mantêm uma maior quantidade de água na maturidade, sendo então denominados de carnosos (Souza 2006).

Além da estrutura pericárpica, outras peças florais ou estruturas a partir dela originadas podem compor o fruto como, por exemplo, o antocarpo, o cálice, a corola, o pedicelo, as placentas, os falsos septos e o hipanto (Roth 1977, Souza 2006).

Especificamente, o hipanto é uma estrutura em forma de taça que pode ou não se fundir à parede do ovário. Se essa fusão é inexistente, o ovário é considerado súpero. As flores com essa condição podem ser definidas como hipóginas ou períginas. Se a fusão existe, o ovário passa a ser considerado ínfero e a flor é considerada epígina (Souza 2006). Nesse sentido, o desenvolvimento filogenético do ovário ínfero ainda é um desafio dentro da morfologia floral. A questão persistente é se o gineceu foi circundado por um receptáculo côncavo, que então cercou os carpelos e se fusionou a eles (teoria axial ou receptacular) ou se o ovário ínfero é resultado da conação e adnação das porções basais de todas as peças florais ao gineceu (teoria apendicular) (Fahn 1990).

A delimitação das regiões componentes do pericarpo é complexa para os frutos oriundos de ovário ínfero, pois a parede desses frutos tem contribuição de tecidos do carpelo e do hipanto. Dessa maneira, as descrições sobre as camadas componentes desses frutos, geralmente, têm caráter topográfico e não ontogenético (Souza 2006).

Além da compreensão da ontogênese desse órgão, os estudos estruturais de fruto podem contribuir com dados relevantes para a sistemática das angiospermas. Embora existam muitos trabalhos sobre anatomia de frutos, poucos trabalhos utilizam características morfológicas e anatômicas como subsídios para a taxonomia, mesmo que esses caracteres sejam valiosos devido a pouca plasticidade fenotípica (Von Teichman & Wyk 1991, Aguiar *et al.* 2009). Esses poucos estudos demonstram a utilidade da morfologia e da anatomia dos frutos para a delimitação ou resolução de problemas taxonômicos entre espécies, gêneros, tribos e até famílias monotípicas, a exemplo dos estudos de Doweld (1998), Decraene *et al.* (2000), Doweld (2001), Pak *et al.* (2001), Moon & Hong (2006) e Ickert-Bond *et al.* (2007), Tomlik-Wyremblewska *et al.* (2010). As características anatômicas são utilizadas para, até mesmo, dar suporte ao restabelecimento de um gênero como no caso de *Helosciadium* W.D.J.Koch, pertencente à família Apiaceae (Ronse *et al.* 2010).

Atualmente, registra-se a existência de três trabalhos envolvendo a anatomia de frutos para a família Bromeliaceae. Okimoto (1948) em estudo sobre *Ananas comosus* (L.) Merr., no qual inclui o uso da vascularização para a interpretação da estrutura da infrutescência, mostrando uma constituição diferente dos demais frutos da subfamília. A ontogenia do fruto e da semente foi avaliada em *T. tricholepis* Baker (Tillandsioideae) por Morra *et al.* (2002). Finalmente, Fagundes & Mariath (2010) publicam um trabalho sobre a anatomia e a ontogenia de frutos de representantes das três subfamílias tradicionais (Tillandsioideae, Pitcairnioideae, Bromelioideae), sendo o primeiro estudo a fazer inferências taxonômicas para essa família.

1.3 Apresentação dos gêneros e das espécies

1.3.1 O gênero *Dyckia* Schult. f. - Pitcairnioideae

O gênero *Dyckia* Schult. f. possui, de acordo com Luther (2008), 130 espécies. No Rio Grande do Sul, ocorrem 17 espécies (Haussen 1992, Larocca & Sobral 2002). Diferentemente da maioria dos outros gêneros de Bromeliaceae, este apresenta roseta foliar aberta, de maneira que não há a formação de reservatório para a retenção de água; ainda, suas raízes são funcionais e as escamas foliares são pouco eficientes na absorção de água e de nutrientes (Paula & Silva 2004).

D. remotiflora Otto & Dietr. distribui-se desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul. No Rio Grande do Sul é comumente encontrado na Serra do Sudeste e na Campanha. É uma erva terrícola ou rupícola (Haussen 1992). Essa planta pode alcançar 100 cm de altura devido à inflorescência (Smith & Downs 1974). Caracteriza-se morfologicamente por possuir folhas com 10 a 25 cm de comprimento, quase triangulares, pungentes, uniformemente verde escuras

e por possuir espinhos finos e curvados, com comprimento variando entre 0,1 e 0,3 cm. A inflorescência é simples, pendente, com seu tamanho variando entre 12 e 20 cm. As brácteas florais ovais são mais curtas que as sépalas, estas sendo ovais e apiculadas. As pétalas possuem coloração laranja-escuro, com lâminas trapeziformes, obtusas e carinadas. Seus estames são inclusos, com as anteras triangulares e recurvadas. Os estiletos são, geralmente, mais longos do que o comprimento do ovário. Os rudimentos seminiais possuem asas assimétricas (Smith & Downs 1974) (Figura 1, A e B).

D. reitzii L.B. Sm. distribui-se desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, nesse estado é encontrada na zona de mata nebulosa da borda oriental do Planalto Meridional da Serra Geral (Haussen 1992, Reitz 1983). É uma erva rupícola que pode alcançar 50 cm de altura em período de floração. Essa espécie possui as seguintes características morfológicas: as folhas com 10-20 cm de comprimento, com lâminas rígidas, lineares, triangulares, que terminam com um espinho castanho. Em relação às inflorescências, são simples, densamente racemosas. As brácteas florais são subpatentes, maiores que as flores. As sépalas são ovadas, agudas e cuculadas com indumento ferrugíneo. As pétalas são amarelo-alaranjadas, patentes e rombóides. Os estames são inclusos com as anteras agudas no ápice, incisadas na base. O ovário é de formato piramidal e os rudimentos seminiais são obtusos. Os frutos são cápsulas globosas, de coloração amarronzada e lustrosas, com ápice rostrado (Reitz 1983) (Figura 1, C e D).

D. distachya Hassl. encontra-se distribuída nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com registros para a Argentina e Paraguai (Haussen 1992). É uma erva reófito, que pode alcançar a altura de 130 cm de altura devido à inflorescência. Caracteriza-se morfológicamente por apresentar folhas com 12-20 cm de comprimento, acanalado-côncavas especialmente no ápice, com numerosos espinhos recurvos. A inflorescência possui saída lateral e um pouco tortuosa. As sépalas são amareladas, submembranáceas, elípticas e com ápice arredondado. As pétalas são alaranjadas, suborbiculares, maiores dos que os estames,

sendo subpatentes na antese. Os estames são menores que as pétalas com anteras sagitadas de ápice recurvo. O ovário é escamado e os rudimentos seminiais são curtos, grossos e com pequeno apêndice no ápice. Os frutos são cápsulas globosas, lustrosas, de coloração castanha, com ápice rostrado (Reitz 1983, Smith & Downs 1974) (Figura 1, E e F).

1.3.2 O gênero *Tillandsia* L.- Tillandsioideae

Tillandsia L. abrange atualmente 596 espécies (Luther 2008), dispersas nas três Américas (Reitz 1983). São ervas epífitas ou rupícolas caulescentes ou com caules de entrenós muito curtos, com hábito variado. As folhas são rosuladas ou fasciculadas, inteiras. A inflorescência é variada, geralmente com espigas dístico-florais ou às vezes reduzida a uma espiga polístico-floral com apenas uma flor ou raramente reduzida a uma flor solitária. As flores são perfeitas, em geral, com pedicelos curtos. As sépalas são convolutas, geralmente simétricas, livres ou concrecidas. As pétalas são livres e nuas. Os estames são de vários comprimentos em relação às pétalas e ao pistilo. O ovário é súpero e glabro. Os rudimentos seminiais são muitos e caudados. O fruto é do tipo cápsula septicida. As sementes são eretas e estreitamente cilíndricas ou fusiformes com apêndice plumoso basal (Reitz 1983).

Tillandsia geminiflora Brong., conhecida como cravo-do-mato, encontra-se dispersa nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, também sendo encontrada no Paraguai, Argentina e Uruguai. É uma espécie epífita comum e freqüente em todas as formações florestais do Rio Grande do Sul (Haussen 1992). Essa planta pode alcançar 18 cm no período de florescimento. É uma planta com caule de entrenós muito curtos, com rizoma grosso e com folhas dispostas em densa roseta. As lâminas foliares são estreitamente triangulares, densamente cobertas por escamas, com coloração verde-clara, às vezes com manchas arroxeadas. A inflorescência é multifloral, paniculada, composta de muitas espigas não

compactas de 2-4 flores. O escapo é rubro-escamado com cerca de 10 cm de comprimento. As flores são, muitas vezes, em número de duas no ápice de cada ramo, suberetas, com até 1,8 cm de comprimento, sésseis. As sépalas são vermelhas, até 1,3 cm de comprimento, estreitamente eretas, lanceoladas. As pétalas com até 1,8 cm, róseas, arredondadas, sublineares, formando um tubo estreito até quase o ápice. Os estames são mais curtos que as pétalas e inclusos durante a antese. O ovário é ovóide com estilete grosseiro, os estigmas lineares e recurvos são bem desenvolvidos e um pouco maiores do que as anteras. As placentas afixas na base interna dos lóculos desde a base até pouco acima do meio. Rudimentos seminiais em grande número, tenuemente clavados, de ápice pouco caudado. A cápsula é cilíndrica, com 2,9 cm de comprimento, lisa, ápice obtuso, rostrado. As valvas são deiscentes até o meio, recurvas, não tortas. As sementes são fusiformes, castanhas, 0,3 cm de comprimento, com caudas tênues, curtas, brancas no ápice e na base que se alongam em cabeleira lanugenta de 2 cm de comprimento, formada de pelos amarelados (Reitz 1983) (Figura 2, A-E).

1.3.3 O gênero *Bromelia* L. – Bromelioideae

Bromelia L. abrange atualmente 56 espécies (Luther 2008). No estado do Rio Grande do Sul registra-se a ocorrência de duas espécies (Haussen 1992). As plantas desse gênero caracterizam-se por serem ervas geralmente terrícolas que se propagam por rizomas e brotações. As folhas são rosuladas, com espinhos grandes e curvos ao longo das margens. Os frutos são carnosos, relativamente grandes com número variável de sementes (Reitz 1983).

Bromelia antiacantha Bert. distribui-se nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e nos estados da região Sul do Brasil. Essa espécie, denominada popularmente de banana-do-mato, desenvolve-se como planta terrícola, principalmente nos solos muito úmidos

de florestas, de restingas e de vegetação secundária, formando sempre densos agrupamentos de forma descontínua pelos diversos ambientes em que ocorre (Reitz 1983). Essa planta pode alcançar 200 cm de altura, com aproximadamente 100 folhas que, geralmente, medem 200 cm de comprimento. Essas folhas dispõem-se em roseta, mas não formam uma cisterna. No período de florescimento, as folhas do centro da roseta adquirem coloração vermelha.

A inflorescência emerge do ápice do caule e do centro da roseta, densamente alvoolanuginosa, multifloral. As flores são bastante variadas com cerca 4 cm de comprimento e grande pedicelo cilíndrico. As sépalas são brancas, tomentosas, livres, 0,8-1,2 cm de comprimento. As pétalas são purpúrea-violáceas, abertas na antese, com cerca de 2,3 cm de comprimento, condescidas na base em um tubo trígono de até 3 mm de altura, com margens involutas, sem lígulas. Os estames são 1 cm menores que as pétalas, seus filetes encontram-se condescidos em tubo com a corola, as anteras são lineares, acuminadas, com bases sagitadas e dorsifixas. O ovário é densamente albo-tomentoso, estreitamente ovado-subcilíndrico. O estilete é grosso, branco, trígono, quase da mesma altura que as anteras. Os estigmas são oblongos, obtusos, com lóbulos de 0,4 cm, papilosos, brancos, coniventes. As placentas ocupam o ângulo interno dos lóculos desde $\frac{1}{4}$ de altura até o ápice. Os rudimentos seminiais são distanciados entre si, plano-comprimidos, afixos horizontalmente, suborbiculares, não caudados. O fruto é uma baga de até 5 cm ou mais de comprimento, cerca de 3 cm de largura, de coloração amarela e formato ovóide. As sementes são pequenas e obovadas (Reitz 1983) (Figura 3, A-C).

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo geral

Descrever a anatomia e a ontogenia de frutos representantes das três subfamílias de Bromeliaceae ocorrentes no Brasil.

1.4.2 Objetivos específicos

- Analisar através da histoquímica a estrutura anatômica das cápsulas das espécies de Tillandsioideae e Pitcairnioideae;

- Realizar estudo de vascularização floral em *Bromelia antiacantha*, espécie de ovário ínfero (Bromelioideae), para delimitação ontogenética da participação carpelar e do hipanto, para a formação da parede do fruto bacáceo.

Referências

- AGUIAR, S.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; KINOSHITA, L. S. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr. (Apocynaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 3, p. 729-737, 2009.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of Linnean Society**, v. 161, n. 2, p. 105-121, 2009.
- BARFUSS, M. H. J.; SAMUEL, R.; TILL, W.; STUESSY, T. F. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 2, p. 337-351, 2005.
- BENZING, D. H. **Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation**. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- BROWN, G. K.; TERRY, R. G. Petal Appendages in Bromeliaceae. **American Journal of Botany**, v.79, n. 9, p. 1051-1071, 1992.
- CHASE, M. W.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; RUDALL, P. J.; FAY, M. F.; HAHN, W. H.; SULLIVAN, S.; JOSEPH, J.; MOLVRAY, M.; KORES, P. J.; GIVNISH, T. J, SYSTMA, K. J.; PIRES, J. C. Higher-level Systematics of the Monocotyledons: an assessment of current knowledge and a new classification. *In*: WILSON, K.L.; MORRISON, D. A. (eds.) **Monocots Systematics and Evolution**. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, pp. 3-16, 2000.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University, 1998.
- DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The families of the monocotyledons. Structure, evolution, and taxonomy**. 1ª ed. Berlin: Springer-Verlag, 1985.
- DECRAENE, L.P.R.; HONG, S.; SMETS, E. Systematic significance of fruit morphology and anatomy in tribes Persicarieae and Polygoneae (Polygonaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 134, p. 301-337, 2000.
- DOWELD, A. B. Carpology, Seed Anatomy and Taxonomic Relationships of *Tetracentron* (Tetracentraceae) and *Trochodendron* (Trochodendraceae). **Annals of Botany**, v. 82, p. 413-

443, 1998.

DOWELD, A. B. The systematic relevance of fruit and seed structure in *Bersama* and *Melianthus* (Melianthaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 227, p. 75-103, 2001.

EAMES, A. J.; MCDANIELS, L. H. **An introduction to plant anatomy**. New York: McGraw- Hill Book Company, 1947.

FAGUNDES, N. F.; MARIATH, J. E. A. Morphoanatomy and ontogeny of fruit in Bromeliaceae species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n.3, p.765-779, 2010.

FAHN, A. **Plant Anatomy**. New York: Pergamon Press, 1990.

FORZZA, R. C. *et al.* **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil**, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v. 2, Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio, 2010.

GILMARTIN, A. J.; BROWN, G. K. Bromeliales, Related Monocots, and Resolution of Relationships among Bromeliaceae Subfamilies. **Systematic Botany**, v. 12, n.4, p. 493-500, 1987.

GIVNISH, T. J.; MILLAM, K. C.; EVANS, T. M.; HALL, J. C.; PIRES, J. C.; BERRY, P. E.; SYSTMA, K. J. Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and south-american disjunctions in Rapateaceae and Bromeliaceae based on *ndhF* sequence data. **International Journal of Plant Sciences**, v. 165, n. 4 suppl., p. S35- S54, 2004.

GIVNISH, T. J.; MILLAM, K. C.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Phylogeny, adaptive radiation and historical **biogeography** of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. **Aliso**, v. 23, p. 3-26, 2007.

GOUDA, E. J. *Distheganthus lateralis* (Bromeliaceae), a new combination for the flora of central French Guiana. **Brittonia** v. 46, n. 2, p. 134-136, 1994.

GRANT, J. R. New combinations and new taxa in the Bromeliaceae. **Phytologia**, v. 79, n. 3, p. 254-256, 1996.

HAUSSEN, M. A. A. B. **Biogeografia da família Bromeliaceae Juss. no Rio Grande do Sul**. Dissertação de mestrado, São Leopoldo: Universidade do Vale do Rio dos Sinos, 1992.

HORRES, R.; ZIZKA, G.; KAHL, G.; WEISING, K. Molecular Phylogenetics of Bromeliaceae: Evidence from trnL (UAA) Intron Sequences of the Chloroplast Genome. **Plant Biology**, v. 2, n. 3, p. 306-315, 2000.

ICKERT-BOND, S. M.; PIGG, K. B.; WEN, J. Comparative infructescence morphology in *Altingia* (Altingiaceae) and discordance between morphological and molecular phylogenies. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 7, p. 1094-1115, 2007.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E. A.; STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3 ed. Porto Alegre, Artmed editora, 2009.

LAROCCA, J.; SOBRAL, M. *Dyckia delicata* (Bromeliaceae), a new species from Rio Grande do Sul, Brazil. **Novon**, v.12, n. 2, p. 234-236, 2002.

LEME, E. M. C. **Bromélias da Mata Atlântica: Canistrum**. Rio de Janeiro: Salamandra, 1997.

LUTHER, H. E. **An alphabetical list of Bromeliad binomials**. Sarasota, Florida: The Bromeliad Society International, 2008.

MARTINELLI, G.; VIEIRA, C. M.; GONZALEZ, M.; LEITMAN, P.; PIRATININGA, A.; COSTA, A. F.; FORZZA, R. F. Bromeliaceae da Mata Atlântica brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. **Rodriguésia**, v. 59, n. 1, p. 209-258, 2008.

MOON, H.; HONG, S. Nutlet morphology and anatomy of the genus *Lycopus* (Lamiaceae: Mentheae). **Journal of Plant Research**, v. 119, n. 6, p. 633-644, 2006.

MORRA, L.; DOTTORI, N.; COSA, M.T. Ontogenia y anatomia de semilla y fruto en *Tillandsia tricholepis* (Bromeliaceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 37 n. 3-4, p. 193-201, 2002.

OKIMOTO, M. C. Anatomy and histology of the pineapple inflorescence and fruit. **Botanical Gazette**, v. 110, n. 2, p. 217-231, 1948.

PAK, J.; PARK, J.; WHANG, S. S. Systematic implications of fruit wall anatomy and surface sculpturing of *Microseris* (Asteraceae, Lactuceae) and relatives. **International Journal of Plant Sciences**, v. 162, n. 1, p. 209-220, 2001.

PAULA, C. C.; SILVA, H. M. P. **Cultivo Prático de Bromélias**. 3ª ed. Viçosa: Editora UFV,

2004.

REITZ, R. **Bromeliáceas e a Malária - Bromélia endêmica**. In: Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, pars. 1, fascículo BROM, p.1-559, 1983.

RONSE, A. C.; POPPER, Z.A.; PRESTON, J.C.; WATSON, M.F. Taxonomic revision of European *Apium* L. s.l.: *Helosciadium* W.D.J. Koch restored. **Plant Systematics and Evolution**, v. 287, p. 1-17, 2010.

ROTH, I. **Fruits of Angiosperms**. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1977.

SCHULTE, K.; ZIZKA, G. Multi locus phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) and the taxonomic utility of petal appendages and pollen characters. **Candollea**, v. 63, n. 2, p. 209-225, 2008.

SIQUEIRA-FILHO, J. A.; LEME, E. M. C. **Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste. Biodiversidade, Conservação e suas Bromélias**. Rio de Janeiro: Andréa Jakobson Estúdio, 2006.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. **Pitcairnioideae (Bromeliaceae)**. In Flora Neotropica Monograph. New York: Hafner Press, mon. 14, pars. 1, p. 1-662, 1974.

SMITH, L.B.; DOWNS, R. J. **Tillandsioideae (Bromeliaceae)**. In Flora Neotropica Monograph. New York: Hafner Press, mon. 14, pars. 2, p.663- 1492, 1977.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. **Bromelioideae (Bromeliaceae)**. In Flora Neotropica Monograph. New York: The New York Botanical Garden, mon. 14, pars. 3, p. 1493-2142, 1979.

SMITH, L. B.; TILL, W. Bromeliaceae. In: KUBITZKI, K. (ed.) **The families and genera of vascular plants**. Flowering Plants – Monocotyledons, Alismatanae e Commelinanae (except Graminae). Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag, 1998.

STEVENSON, D. W.; LOCONTE, H. Cladistic analysis of monocot families. In: RUDALL, P.J.; CRIBB, P. J.; CUTLER, D. F.; HUMPHRIES, C. J. (eds.) **Monocotyledons: Systematics and evolution**. Kew:Royal Botanical Gardens, p. 543-578, 1995.

SOUZA, L. A. **Anatomia do fruto e da semente**. Editora UEPG, Ponta Grossa, 2006.

SPJUT, R.W. **A Systematic Treatment of Fruit Types**. New York: Memoirs of the New York Botanical Garden, 1994.

TERRY, R. G.; BROWN, G. K.; OLMSTEAD, R.G. Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. **American Journal of Botany**, v. 84, n. 5, p. 664-670, 1997.

TOMLIK-WYREMBLEWSKA, A.; ZIELINSKI, J.; GUZICKA, M. Morphology and anatomy of blackberry pyrenes (*Rubus* L., Rosaceae). Elementary studies of the European representatives of the genus *Rubus* L. **Flora**, v. 205, p. 370- 375, 2010.

VON TEICHMAN, I.; VAN WYK, A. E. Trends in the evolution of dicotyledonous seeds based on character associations, with special reference to pachycalazy and recalcitrance. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 105, p. 211-237, 1991.



Figura 1. Espécies de *Dyckia* Schult. f. Figuras A e B. *D. remotiflora* Otto & Diet. Fig. A. Aspecto da planta no ambiente. Fig. B. Apresentação dos estádios de desenvolvimento floral e de fruto, botões florais, flores em antese, cápsulas maduras e deiscentes. Figuras C e D. *D. reitzii* L.B. Sm. Fig. C. Aspecto do eixo da inflorescência, com frutos em desenvolvimento. Fig. D. Apresentação do desenvolvimento floral, botões florais, flores em antese, cápsulas maduras. Figuras E e F. *Dyckia distachya* Hass. Fig. E. Apresentação da planta no ambiente. Fig. F. Representação do desenvolvimento floral, botões florais, flores em antese, cápsulas maduras.



Figura 2. A espécie *Tillandsia geminiflora* Brong. Fig. A. Aspecto da planta em período de florescimento. Fig. B. Aspecto da espécie no período de frutificação. Fig. C. Estádios de desenvolvimento floral e do fruto. Ovário e cápsulas imaturas, de coloração esverdeada. Fig. D. Estádios de desenvolvimento, cápsulas amarronzadas, antes da deiscência. Fig. E. Cápsulas deiscentes.



Figura 3. A espécie *Bromelia antiacantha* Bertol. Fig. A. Aspecto da planta em período de florescimento. Fig. B. Estádios de desenvolvimento floral e do fruto. Botão floral, flores em pré antese, antese e pós-antese, fruto imaturo de coloração verde. Fig. C. Fruto maduros de coloração amarela.

CAPÍTULO II

Artigo I. Ontogenia de cápsulas de *Dyckia* Schult. f. (Pitcairnioideae - Bromeliaceae):

deiscência e possibilidades taxonômicas

Ontogenia de cápsulas de *Dyckia* Schult. f. (Pitcairnioideae - Bromeliaceae): deiscência e aspectos taxonômicos

Ontogenia de cápsulas de *Dyckia* Schult. f.

Fernanda Santos-Silva, Alexandra Antunes Mastroberti e Jorge Ernesto de Araujo Mariath

Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Av. Bento Gonçalves, 9500 Prédio 43423 sala 201 CEP 91501-970 Porto Alegre, Rio Grande
do Sul, Brasil

Autor para correspondência: jorge.mariath@ufrgs.br

RESUMO

Muitos gêneros de Bromeliaceae apresentam problemas de circunscrição. *Dyckia* é um desses casos onde há carência de estudos filogenéticos e revisão taxonômica. O investimento em diferentes abordagens como a anatomia comparada pode contribuir com caracteres que auxiliem na delimitação de táxons. Esse trabalho tem como objetivos: caracterizar o desenvolvimento e histoquímica do pericarpo de *D. remotiflora*, *D. distachya* e *D. reitzii* reconhecer padrões comuns entre as espécies. O padrão anatômico geral do ovário e do pericarpo maduro das espécies de *Dyckia* parece ser homogêneo para o gênero e o diferencia dos outros gêneros de Pitcairnioideae e das outras subfamílias de Bromeliaceae. Diferenças foram observadas em relação ao número de camadas mesocárpicas, a presença de pluriestratificações na hipoderme, presença de estruturas secretoras e de extensões de bainha. Dessa forma, características anatômicas dos frutos podem ser utilizadas como um dos caracteres para distinção em nível infragenérico em Bromeliaceae. Mais estudos com outras espécies de *Dyckia*, com outros gêneros de Pitcairnioideae e com as outras sete subfamílias são necessários para um levantamento completo e acurado de caracteres anatômicos que possam contribuir em análises filogenéticas futuras na família.

PALAVRAS-CHAVE ADICIONAIS: anatomia - caracteres anatômicos - compostos fenólicos - estruturas secretoras – fruto - histoquímica – monocotiledôneas – lignina - pericarpo.

INTRODUÇÃO

Dyckia Schult. f. pertence à subfamília Pitcairnioideae e contempla cerca de 140 espécies (Luther 2008). Encontra-se distribuído em todas as regiões do Brasil, Argentina, Bolívia, Paraguai, Uruguai (Smith & Downs 1974). Sendo considerado o gênero mais diverso de Pitcairnioideae na flora brasileira (Forzza *et al.* 2010). As plantas desse gênero são ervas terrícolas, com roseta foliar sem capacidade de acumular água, flores com pétalas com coloração entre amarela e alaranjada, frutos capsulares e sementes aladas (Smith & Downs 1974). Entretanto, mesmo após alguns avanços na classificação das subfamílias de Bromeliaceae resultando na formação de agrupamentos naturais (Givnish *et al.* 2007), a delimitação de alguns gêneros ainda é muito tênue e discutível (Benzing 2000). *Dyckia* seria de um desses casos, pois existem problemas de circunscrição intra e interespecífica, de revisão taxonômica e de estudos filogenéticos. Assim, a persistência desses problemas taxonômicos e sistemáticos demonstra necessidade de continuar os trabalhos filogenéticos e investir na busca por novas abordagens, como trabalhos em anatomia comparada (Pereira *et al.* 2011), para estabelecimento de gêneros monofiléticos, além de uma melhor distinção entre as espécies.

Caracteres reprodutivos (dados embriológicos, carpológicos e de semente) são interessantes para serem explorados em abordagens taxonômicas devido a pequena plasticidade fenotípica que apresentam (Von Teichman & Wyk 1991). Embora existam trabalhos sobre aspectos morfológicos e anatômicos de órgão reprodutivos de *Dyckia* (Varadarajan & Gilmartin 1988, Conceição, De Toni & Costa 2007), o uso desses caracteres para fins sistemáticos ainda não foi explorado para esse gênero.

Especificamente, caracteres anatômicos de frutos têm sido negligenciados em estudos taxonômicos por serem tecnicamente difíceis de serem investigados (Bobrov *et al.* 2005). No entanto essas características têm se mostrado de grande importância em trabalhos taxonômicos. Exemplos da viabilidade e importância desse tipo de abordagem são os trabalhos de Clausen, Meyer & Renner (2000) e Romanov *et al.* (2007) os quais verificaram que os dados anatômicos de frutos suportavam os clados reconhecidos nos estudos filogenéticos anteriores, em Melastomataceae e Monimiaceae, respectivamente.

Ainda nesse sentido, abordagens histoquímicas associadas aos trabalhos anatômicos podem contribuir com mais caracteres para distinção entre táxons como, por exemplo, nos frutos e sementes da subfamília Salicornioideae (Chenopodiaceae) onde foram encontradas diferenças químicas (Shepperd, Macfarlane & Colmer 2005).

Assim, esse trabalho tem como objetivos caracterizar o desenvolvimento e histoquímica do pericarpo de *D. remotiflora* Otto & Diet., *D. distachya* Hassl. e *D. reitzii* L.B Sm., comparando os resultados obtidos na busca pelo reconhecimento de padrões comuns entre as espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

O material botânico de *D. remotiflora* foi coletado em populações ocorrentes na Fazenda São Maximiano, município de Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil (30°10'S, 51°23'W). O material testemunho foi depositado no herbário ICN da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob a seguinte numeração: ICN160909. O material botânico de *D. distachya* e de *D. reitzii* foi obtido na coleção viva de Bromeliaceae da Fundação Zoobotânica de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil (as numerações dos indivíduos de *D. reitzii* são: BROM 00104, BROM 00168, BROM 00204 e as numerações dos indivíduos de *D. distachya* são: BROM 00605, BROM 00606, BROM 00607). Foram coletados botões florais, flores em antese, cápsulas jovens e maduras de no mínimo três indivíduos de cada espécie.

Os estádios ontogenéticos foram delimitados a partir das mudanças morfológicas e anatômicas observadas. Assim, o primeiro estágio compreende o ovário de botões florais e flores em pré-antese. O segundo estágio é representado pelo ovário fecundado de flores com corola senescente. O terceiro estágio é representado por cápsulas imaturas de coloração verde. O quarto estágio está representado pelas cápsulas maduras e deiscentes, de coloração marrom.

Seções medianas foram fixadas em glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M- pH7.2 por um período de 48h (McDowell & Trump 1976), lavadas em tampão fosfato de sódio 0,1M- pH7,2 (Gabriel 1982) e desidratadas em série etílica com finalização em série de soluções de etanol-clorofórmio (Purvis, Collier & Walls 1964). O material foi incluído em resina a base de hidroxietilmetacrilato (Gerrits & Smid 1983). Seções transversais e longitudinais de 5 e 10 µm de espessura foram obtidas em micrótomo de guias Leitz 1400 com navalha de aço de perfil D. Algumas seções foram coradas com Azul de Toluidina O 0,05% pH 4.4 (Feder & O'Brien 1958), e outras com Azul de Astra 1% aquoso e Fucsina Básica 0,05% aquosa (Kraus *et al.* 1998). Todas as seções foram analisadas em campo claro utilizando microscópio Leica DM R equipado com sistema fotográfico digital.

Para análise da morfologia dos elementos esclerenquimáticos, porções do pericarpo foram dissociadas em solução maceradora de Jeffrey (Johansen 1940) por um período mínimo de uma semana. O material resultante após esse processo foi montado em glicerina e

analisado sob microscopia de luz em contraste interferencial diferencial. Para caracterização histoquímica do pericarpo foram realizados os seguintes testes em seções do material a mão-livre: Safranina O (Johansen 1940) e Cloreto Férrico (Johansen 1940) para compostos fenólicos; Floroglucinol-HCl (Sass 1951) para lignina rica em unidades guaiacil, teste de Maüle (Johansen 1940) para lignina rica em unidades siringil, Laranja de Acridina (Li & Reeve 2004) para ligninas; Reagente Natural (Wollenweber 1982) e Reagente de Wilson (Charrière-Ladreix 1976) para detecção de flavonóides. Em seções de material incluído em resina foram realizados os testes: Ácido Periódico/ Reagente de Schiff (PAS) (O'Brien & McCully 1981) para polissacarídeos totais, Azul de Alciano 8GX (Lillie 1965) para mucopolissacarídeos ácidos. As análises foram realizadas sob microscopia de luz em campo claro e em epifluorescência na faixa do UV no caso do testes de Laranja de Acridina, Reagente Natural e de Wilson (filtro de excitação 340 nm - 380 nm).

A terminologia adotada para a delimitação das camadas componentes do pericarpo e para o tipo de deiscência segue Roth (1977) e Spjut (1994), respectivamente.

RESULTADOS

ESTÁDIO I. O ovário das três espécies é súpero, tricarpelar e trilocular. Os carpelos possuem três nervuras, uma dorsal e duas nervuras ventrais. Os carpelos estão unidos apenas por uma pequena porção, próxima a margem carpelar. Essa fusão é incompleta uma vez que os limites entre carpelos são observados. Seis linhas de sutura são formadas pelo contato das margens de cada carpelo e pelo contato entre os diferentes carpelos (Fig. 1, setas).

A epiderme na face externa é uniestratificada composta por células de formato colunar, em seção transversal (Fig. 2, epi). As células apresentam núcleo e citoplasma visíveis. Há acúmulo de substâncias polissacarídicas e presença de estômatos nesse estrato celular (Fig. 2). A camada de células adjacente a epiderme também possui acúmulo de substâncias polissacarídicas. O mesofilo de *D. remotiflora* e de *D. distachya* é composto por 10 camadas celulares, enquanto em *D. reitzii* é formado por 12 camadas. Em *D. reitzii*, observam-se divisões periclinais e anticlinais no mesofilo. Em todas as espécies, há presença de idioblastos com ráfides nas regiões dorsal e lateral do carpelo. A epiderme na face interna também é uniestratificada, constituída por células mais alongadas tangencialmente e apresentando o mesmo conteúdo polissacarídico (Fig. 3).

O feixe vascular dorsal e os ventrais apresentam os elementos traqueais já diferenciados. Externamente ao floema do feixe vascular dorsal, duas fileiras de células se

diferenciam das demais parenquimáticas *D. reitzii* (Fig. 4, seta), enquanto que nas outras duas espécies essas fileiras ainda não estão visíveis. Os feixes vasculares ventrais nas três espécies também já apresentam elementos traqueais diferenciados. Nas seis linhas de sutura, as células componentes dessa região são menores e apresentam acúmulo de substâncias polissacarídicas (Fig. 5).

ESTÁDIO II. O exocarpo apresenta as células mais alongadas radialmente (Fig. 6). A camada subepidérmica em todas as espécies apresenta acúmulo de substâncias polissacarídicas. Entretanto, em *D. reitzii*, algumas regiões dessa camada apresentam divisões periclinais e oblíquas resultando em pluriestratificações (Fig. 6, seta). No interior dessas células ainda é visível o acúmulo de conteúdo polissacarídico. O mesocarpo é composto de 10-12 camadas de células de natureza parenquimática em *D. remotiflora* e *D. distachya*, já em *D. reitzii* esse estrato possui 16-18 camadas celulares (Fig. 7). Idioblastos com ráfides ainda são observados na porção dorsal e lateral do carpelo (Fig. 7, seta). Em torno do feixe vascular dorsal, existem células menores, vacuoladas, diferentemente das demais células mesocárpicas (Fig. 7). O endocarpo é constituído por células mais alongadas tangencialmente com conteúdo polissacarídico no interior celular.

ESTÁDIO III. As células do exocarpo ainda apresentam os núcleos visíveis e acúmulo de polissacarídeos, porém estão mais vacuoladas (Fig. 8). Em *D. reitzii* observa-se o espessamento e deposição inicial de compostos fenólicos nessas paredes (Fig. 9), enquanto que nas outras duas espécies essa deposição é imperceptível. As células exocárpicas na região próxima aos septos apresentam paredes com espessamento delgado (Fig. 10). O mesocarpo nas três espécies apresenta o mesmo número de camadas observado no estágio II. Espaços intercelulares amplos são observados nas três espécies (Fig. 11).

Exclusivamente em *D. remotiflora*, observa-se uma secreção mucilaginosa na porção mediana do mesocarpo, tanto na porção dorsal como nas regiões laterais carpelares. Esse acúmulo ocorre entre os espaços intercelulares (Fig. 12, setas).

ESTÁDIO IV. A cápsula deiscente possui seis valvas resultantes da associação da deiscência septicida com a loculicida (Fig. 13). As células do exocarpo possuem as paredes mais espessadas e impregnadas por compostos fenólicos na região dorsal e parte da lateral do carpelo (Fig. 14). Essas células podem ser caracterizadas como macroesclereídes devido ao seu formato colunar (Fig. 15). As células do exocarpo próximo ao septo permanecem com paredes primárias, não-impregnadas por compostos fenólicos e citoplasma visível. A hipoderme apresenta-se espessada, esse espessamento é anelar quando visto em seção transversal. A hipoderme junto ao septo, na lateral do fruto, possui espessamento de parede

primária. O mesocarpo apresenta o mesmo número de camadas dos estádios anteriores.

Em *D. remotiflora*, a secreção de mucilagem é continuamente acumulada entre os espaços intercelulares na porção interna da região dorsal do carpelo. Em algumas seções transversais observam-se células envoltas pela secreção (Fig. 16)

O feixe vascular dorsal apresenta externamente uma calota de esclereídes completamente diferenciada (Fig. 17 e 18). A linha de deiscência dorsal mostra-se comprimida. Adjacente aos feixes vasculares ventrais e às linhas de deiscência observa-se a presença de fibras (Fig. 19 e 20). O endocarpo é esclerenquimático nas três espécies (Fig. 21).

Devido à coloração amarelo-alaranjada do exocarpo quando secionado a mão livre (Fig. 22) e a cor azul-esverdeada quando corado com Azul de Toluidina O (Fig. 23), que caracteriza a presença de compostos fenólicos, foram realizados testes histoquímicos para uma melhor identificação dos compostos que constituem as paredes das macroesclereídes do exocarpo, sumariados na tabela 1. A presença de compostos fenólicos é confirmada pela coloração vermelha observada com Safranina O (Fig. 24) e pela coloração amarronzada com Cloreto Férrico (Fig. 25). Além da camada exocárpica, há reação positiva para compostos fenólicos também na calota esclerenquimática do feixe vascular dorsal (Fig. 26). A detecção de lignina rica em guaiacil não é claramente visível nas células do exocarpo com o teste de Floroglucinol-HCl (Fig. 27, seta) ou com o teste de Maüle para lignina rica em unidades siringil (dado não apresentado). As reações positivas só são confirmadas para a calota de fibras do feixe vascular dorsal (Fig. 27). As células componentes do exocarpo sob luz ultravioleta apresentam uma autofluorescência de coloração mais azul-esverdeada na porção interna da parede celular e uma coloração laranja-amarronzada na parede periclinal externa (Fig. 28). A realização do teste de Laranja de Acridina para a detecção de ligninas demonstra marcação na região mais interna da parede secundária (Fig. 29) Não há detecção inequívoca de flavonóides nas paredes exocárpicas com o uso do Reagente Natural (Fig. 30) e do Reagente de Wilson (Fig. 31).

DISCUSSÃO

Uma das importantes funções do pericarpo é a dispersão de sementes que parece ser especialmente bem desenvolvida na maturidade de frutos deiscentes. Observa-se certo grau de relacionamento entre o modo de dispersão do fruto ou da semente e a estrutura anatômica do pericarpo. A abertura dos frutos geralmente requer a formação de tecidos de separação, além de uma estruturação particular de todo o pericarpo para causar a separação do fruto (Roth

1977). Além disso, o modo de deiscência dos frutos é utilizado, associado a outras características morfológicas, para discriminar diferentes tipos de frutos (Spjut 1994, Barroso *et al.* 1999).

Desse modo, o fruto seco das espécies de *Dyckia* aqui estudadas pode ser enquadrado como sendo do tipo cápsula por ser um fruto simples, seco, proveniente de ovário súpero, com três carpelos, plurispérmico e deiscente mediante fendas longitudinais (Souza 2006). As cápsulas são classificadas em função do seu padrão de deiscência, o qual é definido como a exposição ou liberação das sementes por abertura naturalmente produzida no pericarpo (Spjut 1994).

O mecanismo de deiscência das cápsulas de *Dyckia* se caracteriza pela ocorrência de dois tipos de deiscência: a septicida que causa a separação dos três carpelos seguida pela deiscência loculicida que expõe por completo as sementes ao ambiente, permitindo sua dispersão. Essa associação de dois mecanismos para abertura caracteriza os frutos de *Dyckia* como cápsulas biscidas (Spjut 1994, Barroso *et al.* 1999).

Na análise da estrutura do pericarpo durante a ontogenia das cápsulas das três espécies de *Dyckia* observou-se a diferenciação de vários estratos mecânicos. O exocarpo é formado por macroesclereides de paredes espessadas. Em relação ao mesocarpo, há a formação de uma hipoderme esclerenquimática, de uma calota de esclerênquima acima do feixe vascular dorsal e de um conjunto de fibras margeando as linhas de deiscência ventrais. E no endocarpo observa-se a presença de células com paredes espessadas, mas com menor espessamento de parede e menos deposição de compostos fenólicos quando comparadas às células do exocarpo. Essa organização estrutural dos tecidos mecânicos também foi observada em *Dyckia maritima* Baker por Fagundes & Mariath (2010) e até o presente momento parece ser característica para o gênero. Já na cápsula septicida de *Pitcairnia flammea* Lindl. (Fagundes & Mariath, 2010), também pertencente à Pitcairnioideae, a estruturação dos tecidos mecânicos configura-se da seguinte forma: há presença de fibras junto ao feixe vascular dorsal com formação de extensão de bainha voltada apenas para o endocarpo e de fibras na região ventral. Entretanto, diferentemente de *Dyckia*, o exocarpo de *P. flammea* não se configura como um estrato mecânico.

Percebe-se uma diferença especificamente em relação ao tecido esclerenquimático que se diferencia junto a nervura dorsal. Em *D. maritima*, esse tecido se apresenta como uma bainha esclerenquimática perivascular com presença de extensões de bainha (Fagundes & Mariath, 2010) enquanto que, nas três espécies aqui analisadas o tecido esclerenquimático assume uma formação de calota externa ao feixe vascular dorsal.

Em relação às linhas de sutura e posteriormente de deiscência, as mesmas foram verificadas desde os estádios mais jovens de desenvolvimento das cápsulas de *Dyckia*. Segundo Roth (1977) as linhas de deiscência podem ser pré-formadas e a origem pode ser traçada no início da ontogênese de acordo com as características anatômicas do fruto. As linhas de deiscência geralmente representam linhas de fragilidade estrutural e se apresentam como uma ou mais camadas de tecido de separação, a semelhança do que ocorre na região de abscisão de frutos.

As diferentes linhas de deiscência, em frutos de abertura septicida e loculidamente simultânea, como no caso dos frutos de *Dyckia*, podem ser distinguidas pela sua estrutura anatômica. O tecido de separação que perpassa a porção central dos feixes vasculares corresponde a células que permaneceram parenquimáticas. A camada de separação fracamente desenvolvida pode ser acompanhada por um tecido de resistência na forma de esclerênquima com paredes espessadas e lignificadas ou colênquima que atua como tecido antagônico e facilitador da deiscência do fruto nessa forma (Roth 1977). No caso das cápsulas de *Dyckia*, as linhas de deiscência ventrais são formadas por duas camadas (margens carpelares) de células de paredes delgadas e com acúmulo de substâncias polissacarídicas e as linhas de deiscência dorsais se configuram como uma fileira de células parenquimáticas anticlinalmente orientadas e, há esclerênquima diferenciado em torno dessas linhas.

O mecanismo de deiscência do fruto se baseia principalmente nos movimentos ativos de tecidos vivos e mortos (Haberlandt 1924). Assim, distinguem-se dois tipos fundamentais de mecanismos: o higroscópico e o de turgescência. Os movimentos higroscópicos geralmente ocorrem através das mudanças na hidratação das paredes de células mortas enquanto o mecanismo de turgescência ocorre em células vivas que possuem paredes elásticas (Roth 1977).

No mecanismo higroscópico, a deiscência pode ocorrer através da xerocasia ou da higrocasia. A xerocasia é mais comum e ocorre pela perda de água nos tecidos enquanto a higrocasia é caracterizada pela hidratação das paredes (Roth 1977).

O mecanismo xerocástico é o tipo mais encontrado em frutos. Nos frutos com esse mecanismo, as tensões dentro do pericarpo se formam pela diferença de níveis de hidratação (devido à perda de água) nos tecidos antagônicos (Roth 1977). De acordo com Fahn & Zohary (1955) as fibras são células que apresentam grande capacidade de absorção e perda de água (inchaço e encolhimento), portanto se configuram como os tipos celulares importantes para a abertura dos frutos por mecanismos higroscópicos.

Nas três espécies de *Dyckia* estudadas e em *D. maritima* (Fagundes & Mariath, 2010)

pode-se afirmar que a deiscência observada nessas cápsulas enquadra-se no tipo higroscópico devido à caracterização anatômica do pericarpo, com a presença de tecidos esclerenquimáticos de orientação diversa, e pela perda de água que ocorre na maturidade desses frutos.

Mourão & Marzinek (2009) observaram ao estudarem o mecanismo de deiscência de *Clusia parviflora* Humb. & Bonpl. ex Willd. a possível combinação de movimentos xerocásticos e higrocásticos para abertura desse fruto. As autoras interpretaram dessa forma por considerarem que a perda de água só ocorreu nos tecidos esclerenquimáticos e não nos outros tecidos componentes do pericarpo dessa espécie.

Em relação a combinação de movimentos, especificamente em *D. remotiflora*, observou-se a presença de estrutura secretora de mucilagem. As mucilagens, polímeros complexos de alto peso molecular, podem servir para reserva de água devido à sua capacidade hidrofílica (Fahn 1979). A presença de um acúmulo de mucilagem poderia estar relacionada com o processo de deiscência, uma vez que seria uma região de possível retenção de água à semelhança do que ocorre nos mecanismos de deiscência higrocásticos ou mesmo de turgescência.

Essa contribuição das estruturas secretoras no processo de deiscência é diferente dos mecanismos descritos anteriormente (higroscópico e de turgescência) pelo sítio de ocorrência das modificações hídricas. Enquanto que nessas células a parede ou o interior celular está associado à deiscência, em de *D. remotiflora* o mecanismo teria sítio em uma matriz polissacarídica amorfa depositada nos espaços intercelulares resultante da atividade secretora das células mesocárpicas.

A análise histoquímica do exocarpo, motivada por sua coloração natural, levanta interessantes questões relacionadas a composição e função desse estrato celular no processo de deiscência. Conforme já comentado, os tecidos esclerenquimáticos, com sua forma e disposição variada, estão diretamente relacionados ao processo de deiscência de frutos como no caso das cápsulas de *Dyckia*. Geralmente, elementos esclerenquimáticos possuem paredes secundárias impregnadas por lignina, componente de natureza fenólica responsável pela rigidez das paredes. Entretanto, embora tenha ocorrido reação positiva para compostos fenólicos (com Safranina O e Cloreto Férrico), os testes comumente utilizados para detecção de lignina (Floroglucinol-HCl, Maüle) não mostraram resultados inequívocos de presença desse componente. Esses resultados aparentemente negativos se deram devido a coloração natural do exocarpo, que encobriu as reações. Ao realizar o teste de Laranja de Acridina, foi constatada a marcação para lignina, especificamente nas camadas mais internas das paredes

dessas células.

A composição química das células epicárpicas provavelmente é mais complexa. Além de lignina, outros componentes de natureza fenólica além de lignina podem ter impregnado essas paredes. Uma classe possível de componentes é a de hidroxinamatos, como o ácido ferúlico, o ácido sinápico e o *p*-cumárico (Bunzel *et al.* 2010). A presença desses compostos é uma das sinapomorfias entre as comelinídeas (Simpson 2006) e já foi detectada em Bromeliaceae (Smith & Harris 2001). Outra classe provável é a de compostos flavonoídicos, embora os resultados dos testes utilizados para sua detecção tenham sido negativos no presente trabalho. Flavonóides são pigmentos comumente encontrados em flores, frutos e sementes e há uma classe, a de flobafenos formados por polímeros de coloração laranja-avermelhada (como a coloração observada no exocarpo das espécies de *Dyckia*). Esses flobafenos são acumulados nas paredes celulares do pericarpo e de sementes de monocotiledôneas, especificamente em outras espécies de Poales (Koes, Verweij & Quatrocchio 2005, Lepiniec *et al.* 2006). Estudos detalhados de caracterização fenólica são necessários para desvendar a complexa composição das paredes desse estrato pericárpico e suas possíveis implicações fisiológicas na estrutura dessa cápsula e seu envolvimento no processo de deiscência.

Em relação à busca de caracteres taxonomicamente informativos, o trabalho de Fagundes & Mariath (2010), primeiro a comparar anatomicamente os frutos das três subfamílias tradicionais de Bromeliaceae, identificou caracteres importantes na distinção entre os diferentes níveis infrafamiliares. Os autores destacaram entre características úteis à taxonomia: o tipo de sincarpia; a posição do ovário; o formato das células e o número de estratos celulares do obturador; a presença de espessamento no exocarpo e no endocarpo, o número de camadas do mesocarpo, a presença de fibras adjacentes às linhas de deiscência, entre outros caracteres.

Na busca por diferenças infragenéricas, demonstrou-se as seguintes características: diferença no número de camadas do mesofilo/mesocarpo, hipoderme com pluriestratificações, presença de estruturas secretoras de mucilagem, presença de extensões de bainha perivascular. Essas características poderiam, em primeira análise, ser utilizadas como caracteres para distinção entre espécies. Desse modo, *D. reitzii* apresenta mesofilo/mesocarpo com 12/16 camadas de células e hipoderme com regiões pluriestratificadas e ausência de acúmulo de mucilagem, *D. distachya* apresenta 10/10 a 12 camadas celulares e ausência de estruturas secretoras na maturidade e *D. remotiflora* que também apresenta 10/10 a 12 camadas celulares, sendo a única espécie que apresenta acúmulo de mucilagem entre os espaços

intercelulares. Em *D. maritima*, o mesocarpo se compõe de 6-8/8-10 camadas celulares, células secretoras de mucilagem são observadas em grande quantidade na parede do ovário e é a única que apresenta extensões de bainha perivasculosa (Fagundes & Mariath, 2010).

Assim, como o observado por Fagundes & Mariath (2010), as características anatômicas dos frutos demonstram um potencial para serem utilizadas como um dos caracteres para distinção em nível infragenérico em Bromeliaceae. Mais estudos anatômicos dos frutos de outras espécies de *Dyckia*, com outros gêneros de Pitcairnioideae e com os representantes das outras sete subfamílias são necessários para um levantamento completo e acurado de caracteres anatômicos que possam contribuir em análises filogenéticas futuras na família.

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos ao Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pelo apoio e estrutura disponibilizada para a execução deste trabalho. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado da primeira autora. Esse trabalho teve suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

REFERÊNCIAS

- Barroso GM, Morim MP, Peixoto AL, Ichaso CLF. 1999.** *Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas*. Viçosa: Editora UFV.
- Benzing DH. 2000.** *Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Bobrov AVFCH, Endress PK, Melikian AP, Romanov MS, Sorokin AN, Bejerano AP. 2005.** Fruit structure of *Amborella trichopoda* (Amborellaceae). *Botanical Journal of Linnean Society* **148**: 265–274.
- Bunzel M. 2010.** Chemistry and occurrence of hydroxycinnamate oligomers. *Phytochemistry Review* **9**: 47-64.
- Charrière-Ladreix Y. 1976.** Répartition intracellulaire du secrétat flavonique de *Populus nigra* L. *Planta* **129**: 167-174.

- Clausing G, Meyer K, Renner SS. 2000.** Correlations among fruits traits and evolution of different fruits within Melastomataceae. *Botanical Journal of Linnean Society* **133**: 303-326.
- Conceição SP, De Toni KLG, Costa CG. 2007.** Particularidades do nucelo de *Dyckia pseudococcinea* L.B. Smith (Bromeliaceae). *Revista Brasileira de Biociências* **5 (supl. 1)**: 846-848.
- Fagundes NF, Mariath JEA. 2010.** Morphoanatomy and ontogeny of fruit in Bromeliaceae species. *Acta Botanica Brasilica* **24(3)**: 765-779.
- Fahn A. 1979.** *Secretory tissues in plants*. London: Academic Press.
- Fahn A, Zohary M. 1955.** On the pericarpial structure of the legumen, its evolution and relation to dehiscence. *Phytomorphology* **5**: 99-111.
- Feder N, O'Brien TP. 1958.** Plant microtechnique. Some principles and new methods. *American Journal of Botany* **55**: 123-142.
- Forzza RC, Costa, A, Siqueira Filho JA, Martinelli G. 2010.** *Bromeliaceae* In: **Forzza RC. et al.** (orgs.) *Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio, 778-816.
- Gabriel BL. 1982.** *Biological Electron Microscopy*. New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Gerrits PO, Smid L. 1983.** A new, less polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* **132**: 81-85.
- Givnish TJ, Millam KC, Berry PE, Sytsma KJ. 2007.** Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso* **23**: 3-26.
- Haberlandt GJF. 1924.** *Physiologische Pflanzenanatomie*. Leipzig: Engelmann, 6° ed.
- Johansen DA. 1940.** *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill.
- Koes R, Verweij W, Quattrocchio F. 2005.** Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends in Plant Science* **10 (5)**: 236-242.
- Kraus JE; Sousa HC, Rezende MH, Castro NM, Vecchi C, Luque R. 1998.** Astra blue and basic Fuchsin Double Staining of Plant Material. *Biotechnic & Histochemistry* **73(5)**: 235-243.
- Lepiniec L, Debeaujon I, Routaboul J, Baudry A, Pourcel L, Nesi N, Caboche M. 2006.** Genetics and Biochemistry of Seed Flavonoids. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 405-430.

- Li K, Reeve DW. 2004.** Fluorescent labeling of lignin in the wood pulp fiber wall. *Journal of Wood Chemistry and Technology* **24 (2)**: 169-181.
- Lillie RD. 1965.** *Histopathologic technic and practical histochemistry*. New York: McGraw-Hill Co., 3^oed.
- Luther HE. 2008.** *An alphabetical list of Bromeliad binomials*. . Sarasota, Florida: The Bromeliad Society International.
- McDowell EM, Trump BR. 1976.** Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* **1000**: 405-414.
- Mourão KS, Marzinek J. 2009.** Fruit ontogenesis in *Clusia parviflora* Humb. & Bonpl. ex Willd. (Clusiaceae). *Acta Botanica Brasilica* **23(3)**: 797-804.
- O'Brien TP, McCully ME. 1981.** The study of plant structure: principles and selected methods. Melbourne: Termacarphi Pty.
- Pereira TAR, Oliveira TS, Silva LC, Azevedo AA. 2011.** Comparative leaf anatomy of four species of Bromelioideae (Bromeliaceae) occurring in the Atlantic Forest, Brazil. *Botany* **89**: 243-253.
- Purvis MJ, Collier DC, Walls D. 1964.** *Laboratory techniques in botany*. London: Butterworths.
- Romanov MS, Endress PK, Bobrov AVFCH, Melikian AP, Bejerano AP. 2007.** Fruit structure and systematics of Monimiaceae s.s. (Laurales). *Botanical Journal of Linnean Society* **153**: 265–285.
- Roth I. 1977.** *Fruits of Angiosperms*. Berlin:Gebrüder Borntraeger.
- Sass JE. 1951.** *Botanical Microtechnique*. Iowa: State University Press.
- Shepperd KA, MacFarlane TD, Colmer TD. 2005.** Morphology, anatomy and histochemistry of Salicornioideae (Chenopodiaceae) fruits and seeds. *Annals of botany* **95**: 917-933.
- Simpson MG. 2006.** *Plant Systematics*. London: Elsevier Academic Press.
- Smith LB, Downs RJ. 1974.** Pitcairnioideae (Bromeliaceae). In *Flora Neotropica Monograph*. New York:Hafner Press, **mon. 14, pars. 1**: 1-662.
- Smith BG, Harris PJ. 2001.** Ferulic acid is esterified to glucoarabinoxylans in pineapple cells walls. *Phytochemistry* **56**: 513-519.
- Souza LA. 2006.** *Anatomia do fruto e da semente*. Ponta Grossa: Editora UEPG.

- Spjut RW. 1994.** *A Systematic Treatment of Fruit Types*. New York: Memoirs of the New York Botanical Garden.
- Varadarajan GS, Gilmartin AJ. 1988.** Seed morphology of the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae) and systematic implications. *American Journal of Botany* **75(6)**: 808-818.
- Von Teichman I, Van Wyk AE. 1991.** Trends in the evolution of dicotyledonous seeds based on character associations, with special reference to pachycalazy and recalcitrance. *Botanical Journal of the Linnean Society* **105**: 211-237.
- Wollenweber E. 1982.** Flavones and flavonols. *In*: Harborne JB & Mabry TJ (eds.). *The flavonoids: advances in research*. London, Chapman and Hall, p. 189-259.

Fig. 1-5. Seções transversais de ovários em pré-antese de *Dyckia*. Coloração com Azul de Toluidina. Fig. 1. Aspecto geral do ovário tricarpelar, trilocular e com três nervuras e seis linhas de sutura, setas. Fig. 2. Aspecto das células da face epidérmica externa (epi) com presença de substâncias polissacarídicas e estômatos visíveis. Fig. 3. Células da face epidérmica interna com substâncias polissacarídicas. Fig. 4. Feixe vascular dorsal com linha de deiscência visível, seta. Fig. 5. União das regiões ventrais dos carpelos com seis linhas de deiscência visíveis. Cada carpelo com dois feixes vasculares ventrais. Barras de escala: Fig. 1 = 400µm. Fig. 2-5= 50 µm.

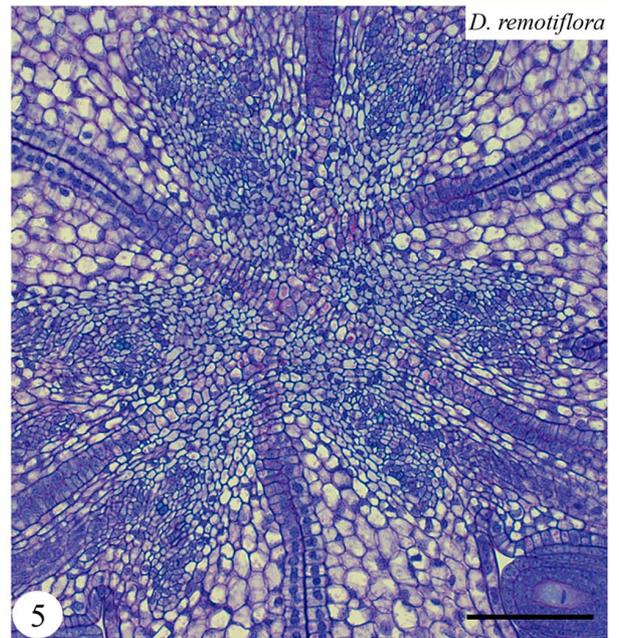
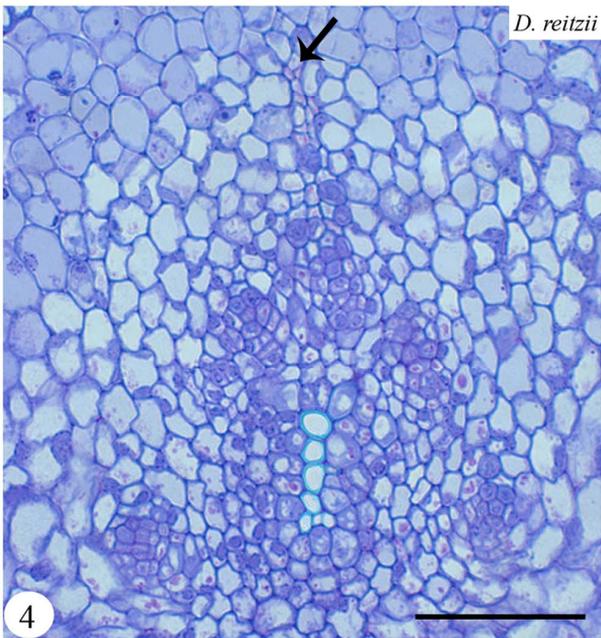
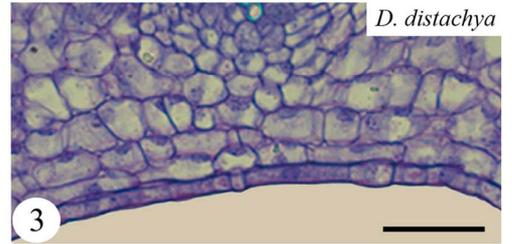
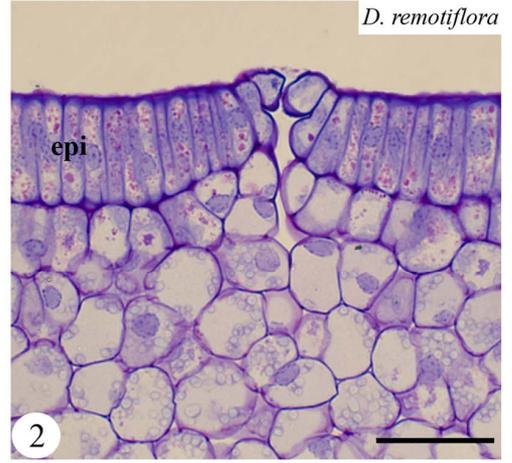
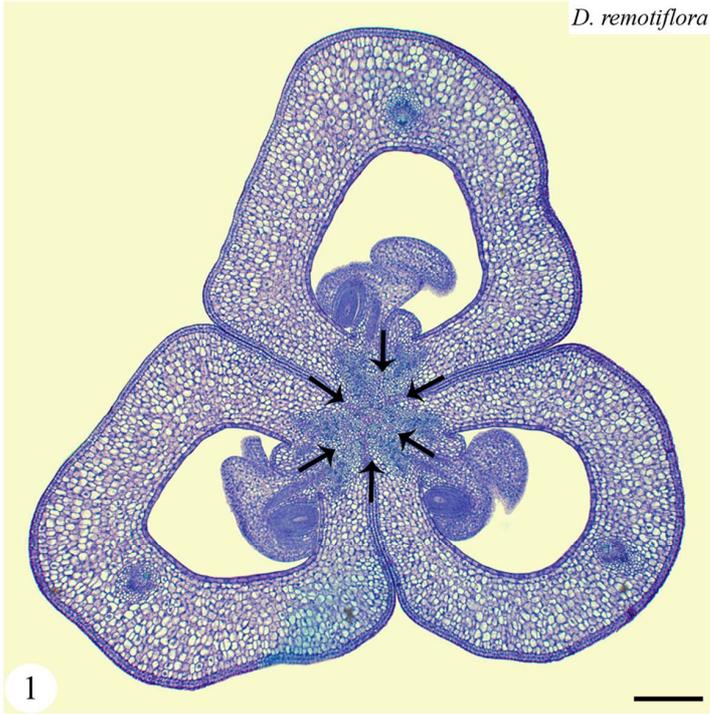


Fig. 6-12. Seções transversais de ovários em antese e cápsulas imaturas de *Dyckia*. Figs. 6, 7, 8, 10, 11, coloração com Azul de Toluidina. Fig. 9, coloração com Azul de Astra e Fucsina Básica. Fig. 12, coloração com PAS-Schiff. Fig. 6. Aspecto do ovário em antese, células epicárpicas alongadas e com acúmulo de substâncias polissacarídicas. Ráfides presentes no mesofilo (seta). Fig. 7. Células epicárpicas com núcleos conspícuos e substâncias polissacarídicas. Fig. 8. Células epicárpicas com espessamento de parede secundário inicial em *D. reitzii*. Fig. 9. Células epicárpicas junto ao septo com espessamento primário de parede. Fig. 10. Pluriestratificações na hipoderme de *D. reitzii*, seta. Fig. 11. Espaços intercelulares nas regiões laterais carpelares. Fig. 11. Secreção polissacarídica nos espaços intercelulares do mesocarpo de *D. remotiflora*, setas. Barras de escala Fig. 6-12 = 50 μm

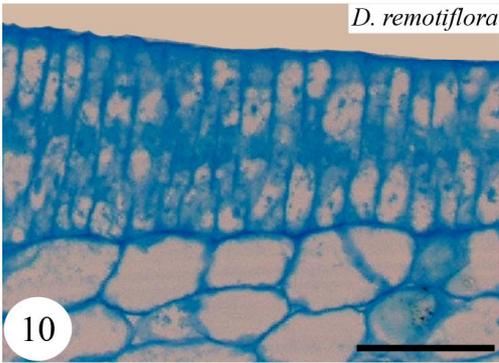
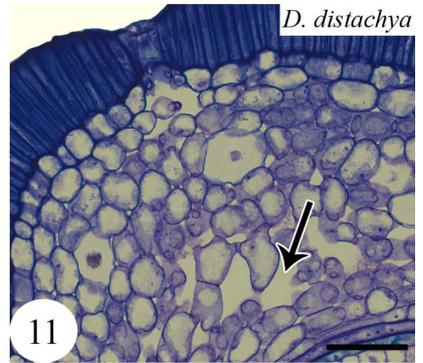
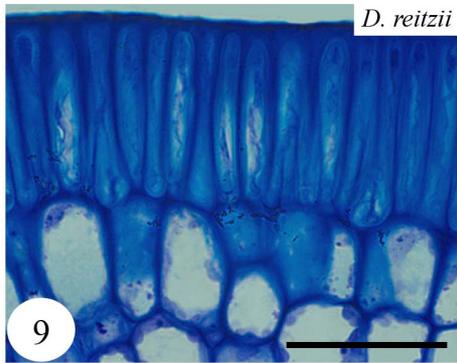
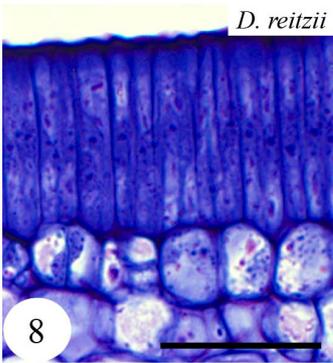
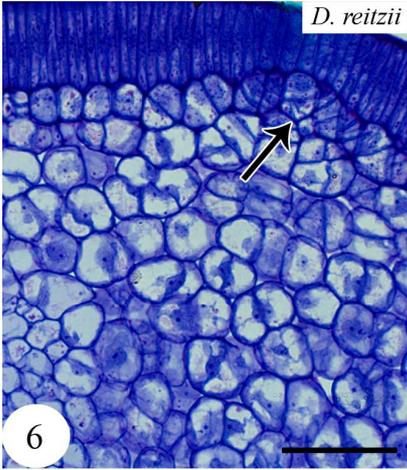


Fig. 13-21. Morfologia, seções transversais e dissociações de cápsulas maduras de *Dyckia*. Fig 16. Coloração com Azul de Alciano. Figs. 17 e 21, coloração com Azul de Toluidina; Figs. 14 e 19, coloração com Azul de Astra e Fucsina Básica. Fig. 13. Cápsulas deiscentes, com a combinação de abertura septicida (setas maiores) e loculicida (setas menores). Fig. 14. Maior espessamento das células epicárpicas e hipodérmicas. Fig. 15. Macro esclereíde epicárpica isolada Fig. 16. Aumento de acúmulo de secreção de mucilagem. Fig. 17. Calota esclerenquimática externa ao feixe vascular dorsal. Fig. 18. Esclereídes da calota dissociadas. Fig. 19. Fibras adjacentes às linhas de deiscência ventrais. Fig. 20. Fibras dissociadas. Fig. 21. Endocarpo esclerenquimático. Barras de escala: Fig 13= 1 cm, Figs. 14-21= 50 µm

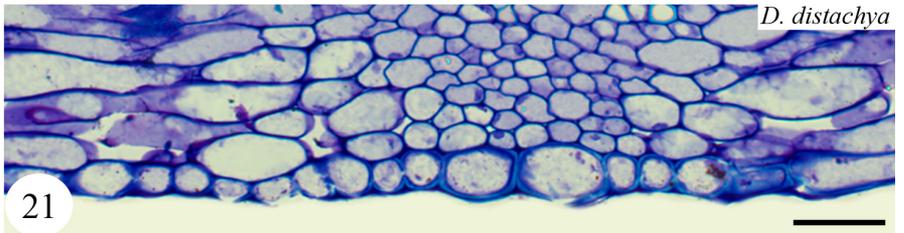
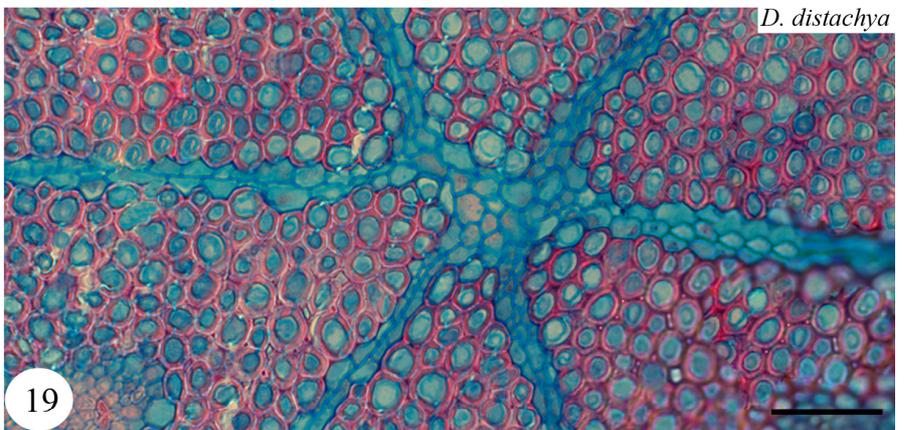
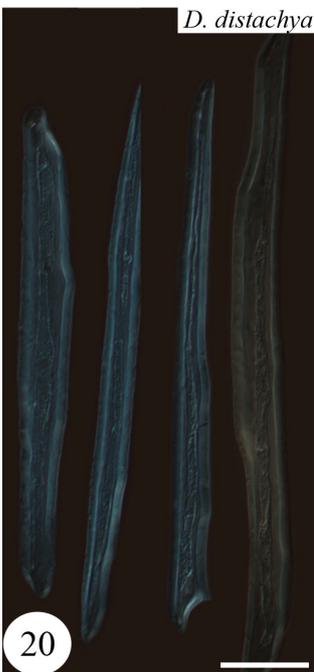
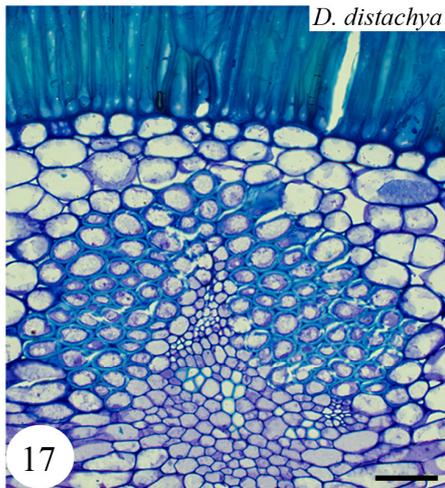
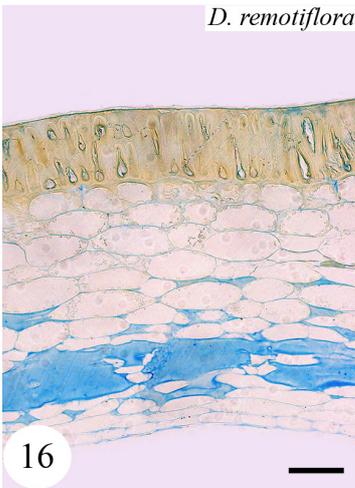
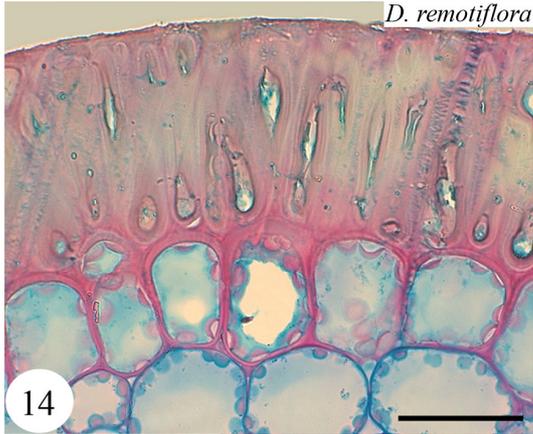


Fig. 22-31. Testes histoquímicos no exocarpo de cápsulas maduras de *Dyckia*. Fig. 22. Coloração natural (controle). Fig. 23. Coloração das paredes coradas com Azul de Toluidina O. Fig. 24. Reação positiva de Safranina O. Fig. 25. Reação positiva de Cloreto Férrico. Fig. 26. Presença de compostos fenólicos na calota esclerenquimática, reação Safranina O. Fig. 27. Reação positiva para lignina na calota esclerenquimática e reação negativa para exocarpo, seta. Fig. 28. Autofluorescência em UV (340-380 nm). Fig. 29. Marcação positiva para ligninas com o teste de Acridine Orange. Fig. 30. Sem marcação para flavonóides com Reagente Natural. Fig. 31. Sem marcação para flavonóides com Reagente de Wilson. Barra de escala: Figs. 22, 23, 27-31= 50 μm , Figs. 24-26= 25 μm .

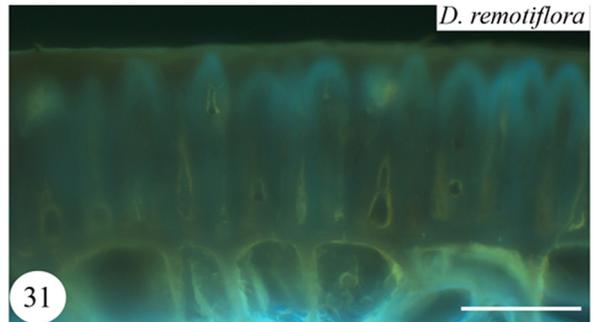
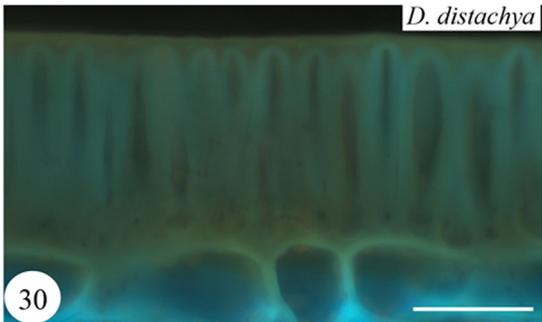
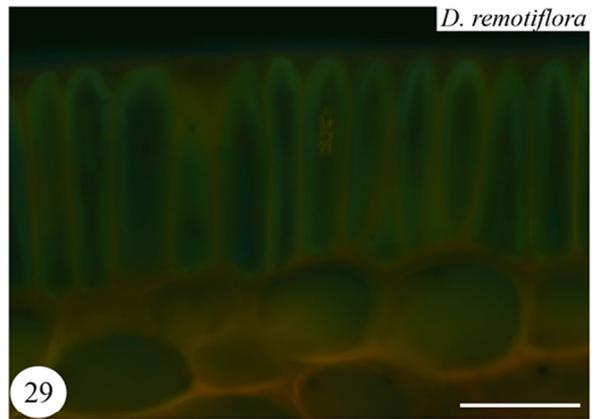
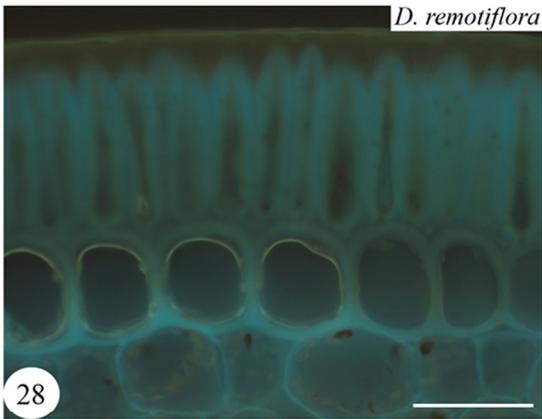
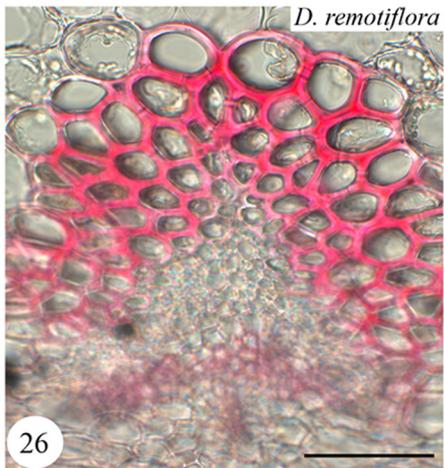
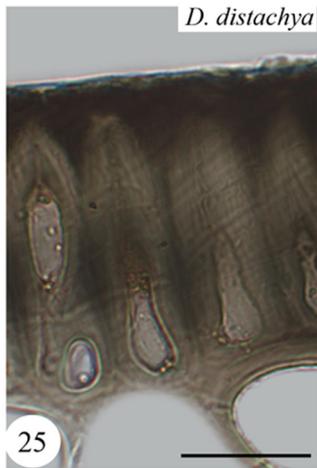
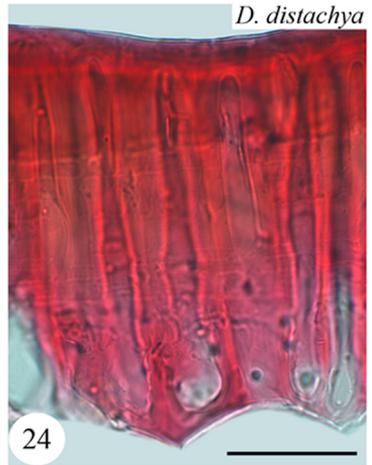
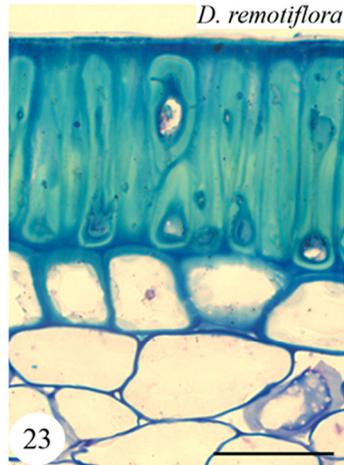
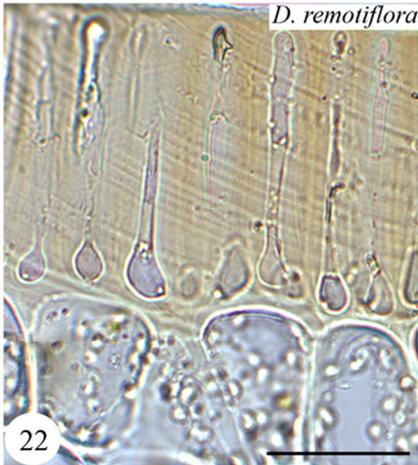


Tabela 1. Comparação de caracteres histoquímicos do exocarpo das cápsulas madura das espécies de *Dyckia*.

Espécies		<i>D. remotiflora</i>	<i>D. reitzii</i>	<i>D. distachya</i>
Componente químico-Teste/Tecido		Exocarpo	Exocarpo	Exocarpo
Compostos	Safranina O	+	+	+
Fenólicos	Cloreto Férrico	+	+	+
	Floroglucinol-HCl	-	-	-
Lignina	Laranja de Acridina	+*	+*	+*
	Maüle	-	-	-
Flavonóides	Reagente Natural	-	-	-
	Reagente de Wilson	-	-	-

+ = presente, - = ausente, * = presente somente na camada mais interna

CAPÍTULO III

Artigo II. Ontogenia e histoquímica do pericarpo de *Tillandsia geminiflora* Brong.

(Tillandsioideae – Bromeliaceae)

**Ontogenia e histoquímica do pericarpo de *Tillandsia geminiflora* Brong. (Tillandsioideae
– Bromeliaceae)**

Fernanda Santos-Silva, Alexandra Antunes Mastroberti e Jorge Ernesto de Araujo Mariath^{2,3}

Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Av. Bento Gonçalves, 9500 Prédio 43423 sala 201 CEP 91501-970 Porto Alegre, Rio Grande
do Sul, Brasil

Autor para correspondência: jorge.mariath@ufrgs.br

Resumo

O gênero *Tillandsia* tem se mostrado como um táxon não-resolvido nas análises filogenéticas recentes. Desse modo, o investimento em abordagens distintas, como anatômica, pode ser valioso na aquisição de caracteres filogeneticamente informativos. Assim, o presente trabalho tem como objetivo descrever a ontogenia e a histoquímica do pericarpo de *T. geminiflora* buscando ampliar o conhecimento acerca dos padrões anatômicos e da caracterização química dos frutos do gênero além de compará-los com os padrões observados em outros gêneros de Tillandsioideae ou em outros gêneros nas demais subfamílias de Bromeliaceae. A estruturação geral dos estratos mecânicos, com células esclerenquimáticas com espessamento em “U” no exocarpo e endocarpo e de uma bainha perivascular esclerenquimática, parece ser homogênea no pericarpo das espécies de *Tillandsia*. A presença de idioblastos mucilaginosos e da composição fenólica do exocarpo e do endocarpo parece estar relacionada à proteção da semente durante o longo período de desenvolvimento. Embora já tenham sido encontradas algumas diferenças entre *T. geminiflora* e as outras espécies de Tillandsioideae, como o tipo celular componente do endocarpo, o número de estratos da hipoderme e a presença de idioblastos mucilaginosos, outros estudos como este são necessários para avaliar as possibilidades taxonômicas desses caracteres.

Palavras-chave: *Tillandsia*, Bromeliaceae, cápsula, anatomia, histoquímica

Introdução

Tillandsia L. é o maior gênero de Tillandsioideae abrangendo cerca de 600 espécies (Luther 2008). Tillandsioideae representa uma das três subfamílias tradicionalmente aceitas da família Bromeliaceae juntamente com Bromelioideae e Pitcairnioideae (Smith & Downs 1977), e, atualmente, é umas das oito linhagens reconhecidas para grupo nas análises filogenéticas (Givnish *et al.* 2007).

As espécies de *Tillandsia* encontram-se distribuídas por todo o continente americano (Reitz 1983). São ervas epífitas ou rupícolas caulescentes ou acaules de hábito variado. As folhas são rosuladas ou fasciculadas, com margens inteiras. A inflorescência é variada, sendo comum a presença de espigas dístico-florais, às vezes essa espiga pode ser reduzida a uma estrutura polístico-floral com apenas uma única flor e pode ser raramente reduzida a uma flor solitária. As flores são perfeitas, com pedicelos curtos (Reitz 1983).

O fruto no gênero, ele é uma cápsula septicida (Smith & Downs 1977). As sementes são eretas, estreitamente cilíndricas ou fusiformes com penacho basal (Reitz 1983). Uma característica interessante reconhecida somente durante a fase reprodutiva de *Tillandsia* é o tempo prolongado de desenvolvimento de suas sementes, sendo que alguns meses separam o momento da fecundação até a liberação das mesmas (Benzing 2000).

Com relação à delimitação genérica, a distinção entre alguns gêneros ainda é inconsistente e discutível em Bromeliaceae (Benzing 2000). Em Tillandsioideae, os gêneros *Vriesea* Lindl. e *Tillandsia*, por exemplo, são distintos apenas pela presença ou ausência de apêndices petalíneos (Smith & Downs 1977). Especificamente sobre *Tillandsia*, o gênero se mostrou como um grupo filogeneticamente não-resolvido (Barfuss *et al.* 2005), embora, estudos recentes demonstrem um avanço na compreensão sobre parte de suas relações infragenéricas (Chew *et al.* 2010).

Paralelamente às análises filogenéticas com dados moleculares, a utilização de caracteres morfológicos em análises cladísticas têm obtido dados relevantes que corroboram os dados moleculares em Bromeliaceae (Faria *et al.* 2004). Entretanto, *Tillandsia* carece de trabalhos análises estruturais de estruturas reprodutivas (tanto embriológicas, como de pericarpo e de semente) e devido à baixa plasticidade fenotípica dessas características, elas podem ser importantes para construção de matrizes de caracteres.

Esse trabalho tem como objetivo descrever a ontogenia e a histoquímica do pericarpo de *T. geminiflora* visando ampliar o conhecimento acerca dos padrões anatômicos e da caracterização química dos frutos do gênero além de compará-los com os padrões observados em outros gêneros de Tillandsioideae ou mesmo de outras subfamílias de Bromeliaceae.

Material e Métodos

O material botânico de *T. geminiflora* foi coletado em populações ocorrentes no Campus do Vale da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), município de Porto Alegre (30°02'S, 51°06'W); na Fazenda Passo do Capitão Jango, município de Camaquã (30°51'S, 51°48'W) e na Fazenda São Maximiano, município de Guaíba (30°10'S, 51°23'W), Rio Grande do Sul, Brasil. Foram coletados botões florais, flores em antese, frutos imaturos e maduros de no mínimo três indivíduos. As exsiccatas das plantas coletadas em campo foram depositadas no herbário ICN da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob a seguinte numeração: ICN160900, ICN183675, ICN183676.

Estádios ontogenéticos foram delimitados a partir das modificações morfológicas e anatômicas observadas. Dessa maneira, o primeiro estágio é representado por botões florais e flores em antese. O segundo estágio está representado pela cápsula imatura. O terceiro estágio está representado pelas cápsulas maduras, de coloração amarronzada, antes do processo de

deiscência. O quarto estágio está representado pelas cápsulas maduras já deiscentes.

O material coletado foi fixado em glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M- pH7.2 por um período de 48h (McDowell & Trump 1976), lavado em tampão fosfato de sódio 0,1M- pH7,2 (Gabriel 1982) e desidratado em série etílica com finalização com série de soluções de etanol-clorofórmio (Purvis *et al.* 1964). O material foi incluído em resina a base de hidroxietilmetacrilato (Gerrits & Smid 1983). Seções transversais e longitudinais entre 5 e 10 µm de espessura foram obtidas no micrótomo de guias Leitz 1400 com navalha de aço de perfil D, coradas com Azul de Toluidina O 0,05% pH 4.4 (Feder & O'Brien 1958) Todas as seções foram analisadas no microscópio óptico Leica DM R em campo claro equipado com sistema fotográfico digital.

Para caracterização do pericarpo, foram realizados os seguintes testes histoquímicos: Ácido Periódico/ Reagente de Schiff (PAS) (O'Brien & McCully 1981) para polissacarídeos totais, Azul de Alciano 8GX (Lillie 1965) para mucopolissacarídeos ácidos, Calcoflúor White (Hughes & McCully 1975) para celulose, Sudan III (O'Brien & McCully 1981) para lipídios, Safranina O (Johansen 1940) e Cloreto Férrico (Johansen 1940) para compostos fenólicos, Floroglucinol-HCl (Sass 1951) para lignina rica em unidades guaiacil e Laranja de Acridina (Li & Reeve 2004) para ligninas; Reagente Natural (Wollenweber 1982) e Reagente de Wilson (Charrière-Ladreix 1976) para detecção de flavonóides (flavonas e flavonóis e agliconas flavonólicas, respectivamente) e Vanilina-HCl (Guerin *et al.* 1971) para taninos. As análises foram realizadas sob microscopia óptica em campo claro e em epifluorescência na faixa do UV no caso dos testes de Calcoflúor White, de Laranja de Acridina, Reagente Natural e de Wilson (filtro de excitação 340nm-380nm).

A terminologia adotada para a delimitação das camadas dos componentes do pericarpo e dos tipos de deiscência está de acordo com Roth (1977) e Spjut (1994), respectivamente.

Resultados

ESTÁDIO I. O ovário é súpero, tricarpelar e trilocular. Os carpelos possuem três nervuras, uma dorsal e duas nervuras ventrais. Os carpelos estão unidos pelas laterais carpelares, formando um septo (Fig. 1). Essa fusão é incompleta uma vez que os limites entre carpelos são observados. Seis linhas de deiscência são formadas pelo contato das margens carpelares e pelo contato entre os diferentes carpelos. Essas linhas são formadas por duas camadas de células (as margens carpelares), que são menores do que as células adjacentes (Fig. 2).

A epiderme na face externa é uniestratificada e apresenta células de formato quadrangular e com núcleos conspícuos (Fig. 3). O mesofilo é composto por 7 a 9 camadas celulares (Fig. 4). Idioblastos contendo ráfides são observados dispersos pelo mesofilo, inclusive na região ventral (Fig. 5, setas). O feixe vascular dorsal apresenta os elementos traqueais já diferenciados (Fig. 6). Os feixes vasculares ventrais apresentam-se de forma semelhante. A face epidérmica interna é uniestratificada, formada por células mais alongadas tangencialmente com núcleos conspícuos (Fig. 6).

ESTÁDIO II. O exocarpo apresenta-se uniestratificado e, nessa fase, suas células apresentam somente parede primária. As paredes periclinais externas são convexas (Fig. 7). O mesocarpo é formado por 9 a 10 camadas celulares. As três camadas mais internas (próximas ao endocarpo) são formadas por células um pouco menores e de formato regular em seção transversal (Fig. 7). Tanto as células ao redor do feixe vascular dorsal (bainha perivascular) quanto as células ao redor dos feixes ventrais são de natureza parenquimática. O endocarpo é uniestratificado com as células maiores do que as demais células do pericarpo (Fig. 8).

ESTÁDIO III. O exocarpo é uniestratificado, formado por esclereídes alongadas

longitudinalmente e com espessamento desigual (Fig. 9). Essas células, em seção transversal, apresentam formato quadrangular e espessamento parietal secundário em formato de “U” na parede periclinal interna. As paredes periclinais externas dessas células possuem uma coloração púrpura quando coradas com Azul de Toluidina O (Fig. 10). A hipoderme é formada por duas a três camadas celulares, suas células componentes possuem as paredes secundárias finas (Fig. 10). O restante das camadas componentes do mesocarpo está subdividido em duas regiões: uma região mediana formada por 3-4 camadas celulares comprimidas e a outra região voltada para o endocarpo formada por 3-5 camadas de células não-comprimidas (Fig. 11). Nesse estrato mesocárpico são observados idioblastos com ráfides (dado não mostrado). O feixe vascular dorsal é envolto por uma bainha esclerenquimática (Fig. 12). As células parenquimáticas dispostas ao redor dos feixes vasculares ventrais (observadas no estágio anterior) se diferenciam em conjunto de fibras. Essas fibras margeiam as linhas de deiscência (Fig. 13, setas). Essas linhas são formadas por duas camadas celulares com células menores quando comparadas às células do mesocarpo, de paredes delgadas e onduladas (Fig. 14). O endocarpo é uniestratificado, com células alongadas anticlinalmente e possuem aspecto retangular em seção transversal. As paredes possuem espessamento secundário em formato de “U” nas paredes periclinais internas que pela caracterização estrutural podem ser denominadas macroesclereídes (Fig. 15).

ESTÁDIO IV. São formadas três valvas pela separação dos carpelos a partir dos septos (Fig. 16). As células componentes do exocarpo apresentam espessamento em forma de “U”. As paredes periclinais externas, assim como o conteúdo dessas células, são predominantemente de natureza polissacarídica em função da coloração púrpura quando corados com Azul de Toluidina O (Fig. 17). Esse conteúdo polissacarídico pode ainda ser observado nas células hipodérmicas e nas demais células componentes do mesocarpo (Fig. 17, setas) que, nesse estágio, encontra-se comprimido (Fig. 18). As fibras perivasculares do feixe

vascular dorsal (Fig. 19) e as fibras da região ventral carpelar (Fig. 20) apresentam as paredes secundárias mais espessadas. O endocarpo apresenta as paredes espessadas e esse espessamento, de aspecto lamelar ocupa todo o ou quase todo o lume celular (Fig. 21).

A análise histoquímica foi realizada para caracterização química do pericarpo da cápsula madura, com especial destaque para o endocarpo devido à sua coloração laranja-amarronzada natural quando seccionado à mão-livre (Fig. 22). Os resultados dos testes histoquímicos encontram-se sumarizados na tabela 1.

Nas paredes das células do exocarpo detecta-se a presença (maior reação) de polissacarídeos totais (Fig. 23), de mucopolissacarídeos ácidos (Fig. 24) e de lipídios (Fig. 25) nas paredes periclinais externas. Há presença de proteínas totais (Fig. 26) na porção mais interna das paredes secundárias. Compostos fenólicos estão presentes em todas as paredes (Fig. 27) e a marcação para ligninas é positiva no espessamento parietal em “U” (Fig. 28).

No mesocarpo, observa-se a localização de conteúdo polissacarídico em algumas células do mesocarpo (Fig. 29) e de compostos fenólicos nas camadas celulares comprimidas (Fig. 30). As fibras perivasculares são constituídas de ligninas nas paredes secundárias (dado não mostrado).

A presença de polissacarídeos totais (Fig. 31) e mucopolissacarídeos ácidos (Fig. 32) é mais intensa na porção mais interna da parede secundária, assim como para celulose (dado não- mostrado). Há compostos fenólicos presentes em toda a extensão dessas paredes (Fig. 33). As paredes celulares sob luz ultravioleta apresentam uma coloração amarronzada (dado não-mostrado). Entretanto ligninas não são detectadas com os testes de Floroglucinol-HCl (dado não mostrado) e de Laranja de Acridina (Fig. 34). Assim como não há detecção inequívoca de componentes flavonoídicos com os testes com Reagente Natural e Reagente de Wilson e de taninos com o teste de Vanilina-HCl (dados não-mostrados).

Discussão

O fruto de *Tillandsia geminiflora*, pela sua estrutura, pode ser considerado como uma cápsula por ser um fruto simples, seco, proveniente de ovário súpero, com três carpelos, plurispérmico e deiscente mediante fendas longitudinais (Souza 2006). A deiscência dessa cápsula é classificada como septicida (Spjut 1994, Barroso *et al.* 1999), embora essa denominação seja incompleta uma vez que o processo de abertura desse fruto envolve além da abertura pela separação dos septos, considerada a deiscência septicida propriamente dita (Roth 1977), uma separação das margens carpelares, configurando a deiscência do tipo marginicida ou ventricida (Spjut 1994).

A deiscência septicida pode ser considerada como um dos tipos mais primitivos de deiscência uma vez que denota um menor grau de fusão entre os carpelos (Roth 1977). Esse fato é importante visto que, Tillandsioideae, subfamília a qual pertence *T. geminiflora*, é considerada uma das linhagens mais basais na classificação aceita atualmente (Givnish *et al.* 2007) e apresenta sincarpia parcial e deiscência septicida.

Em relação à estrutura anatômica do pericarpo da espécie desse estudo, o exocarpo é unisseriado e possui espessamentos de parede em formato de “U”. Esse tipo de espessamento ocorre apenas quando a parede periclinal interna (ou externa) junto com as paredes anticlinais é espessada, sendo também observado em cápsulas de dicotiledôneas (Roth 1977).

A presença dos espessamentos parietais em forma de “U” já era uma característica marcante na estrutura foliar de Bromeliaceae (Braga 1977; Aoyama & Sajo 2003; Proença & Sajo 2004; Proença & Sajo 2007) e também parece ser marcante para a estrutura dos frutos secos da família (Fagundes & Mariath, 2010).

O endocarpo possui funções diferentes daquelas do exocarpo. O exocarpo tem função principal para a proteção mecânica e fisiológica do pericarpo, sua estrutura é orientada para o

reforço mecânico das células, especialmente nas paredes celulares (Roth 1977). A mesma autora afirma ainda que em cápsulas, o endocarpo frequentemente não possui função protetora, podendo ser pouco desenvolvido ou ser obliterado no início do desenvolvimento. Entretanto, em *T. geminiflora* o endocarpo se configura como um estrato mecânico marcante e persistente até a maturidade, atuante no processo de deiscência.

A impregnação de compostos fenólicos nas paredes celulares e as modificações conseqüentes em suas propriedades mecânicas surgiram nas algas carofíceas. Esses compostos funcionaram primeiramente como defesas antimicrobiais (que também auxiliaram na resistência à dessecação) e posteriormente, adquiriram outras funções como o suporte estrutural e proteção contra UV nas primeiras plantas terrestres (Graham *et al.* 2004). As paredes secundárias do endocarpo de *T. geminiflora* possuem uma coloração natural marrom-avermelhada e após os testes histoquímicos utilizados nesse trabalho verificou-se que essas paredes são impregnadas por compostos fenólicos. Entretanto, na investigação histoquímica para determinação da classe desse componente não foi possível identificar a presença de lignina, de flavonóides (flavonas, flavonóis ou agliconas flavonólicas) ou de taninos.

Apesar dos resultados aparentemente negativos obtidos pelos testes histoquímicos é pouco provável que as paredes do endocarpo não possuam quantidades ainda que mínimas dos compostos supracitados. Esses componentes são essenciais para as propriedades mecânicas da parede célula, no caso da lignina, e para a defesa vegetal contra estresses bióticos e abióticos, em relação aos compostos flavonoídicos e taninos (Dixon *et al.* 2002).

Os testes histoquímicos possuem limitações para a detecção e correta identificação de compostos fenólicos, especialmente lignina, devido à natureza complexa de seus polímeros que muitas vezes acarreta diferenças estruturais entre grupos taxonômicos, como no caso de Poaceae (Vermerris & Nicholson 2008). Para a elucidação das classes de compostos fenólicos que estão presentes no endocarpo de *T. geminiflora* seriam necessários estudos que abranjam

técnicas de isolamento e identificação, como ensaios de cromatografia, de tioacidólise, ou de ressonância magnética nuclear (Vermerris & Nicholson 2008).

Estruturas secretoras são componentes significativos da estrutura do pericarpo maduro e podem aparecer como células secretoras isoladas, como cavidades secretoras de origem lisígena ou esquizógena, com canais secretores delineados por células secretoras, ou como laticíferos (Roth 1977).

A habilidade de sintetizar substâncias mucilaginosas é uma interessante característica em diásporos (frutos e sementes) de muitas angiospermas. A secreção de mucilagem já foi descrita em mais de 80 famílias (Kreitschitz 2009). Em frutos e sementes, a mucilagem teria função protetora contra infecções virais (Garwood 1985). Em *Artemisia* L., fungos estão frequentemente presentes na superfície do diásporo e provavelmente participariam de simbiose micorrízica. Isso pode ser especulado devido às condições de umidade, abundância de polissacarídeos e disponibilidade de oxigênio que poderiam facilitar o crescimento de fungos micorrízicos associadas à secreção de mucilagem (Kreitschitz 2009). Em *T. geminiflora*, observa-se a presença de idioblastos mucilaginosos que se desenvolveram apenas na maturidade da cápsula e persistiram até a cápsula deiscente. Frente às possíveis funções já atribuídas à secreção dessas substâncias polissacarídicas, a função desses idioblastos na estrutura pericárpica de *T. geminiflora* não é completamente clara se analisada isoladamente.

A combinação da presença dessas estruturas secretoras e das características acima discutidas do endocarpo pode estar relacionada à função protetora contra estresses bióticos ou abióticos. Assim, esses aspectos da estrutura pericárpica de *T. geminiflora* atuariam como barreiras físicas e químicas essenciais para a proteção das sementes durante o seu prolongado tempo de desenvolvimento.

Em relação à estrutura pericárpica em *Tillandsia*, Morra *et al.* (2002) verificaram que

a cápsula de *T. tricholepis* apresenta exocarpo com paredes celulares delgadas, mesocarpo com duas a três camadas celulares e endocarpo com células semelhantes à fibroesclereídes com paredes celulares anticlinais e periclinal interna espessada e lignificada. Observações anatômicas do pericarpo de *T. aeranthos* (Fagundes & Mariath 2010) e de *T. geminiflora* demonstram que o exocarpo é constituído por esclereídes alongadas longitudinalmente com paredes celulares espessadas desigualmente, em formato de “U” em seção transversal, mesocarpo parenquimático com camadas celulares comprimidas na maturidade e endocarpo constituído de macroesclereídes, também com paredes celulares em forma de “U” em seção transversal. Diferentemente das outras duas espécies de *Tillandsia* já estudadas, em *T. geminiflora*, foi observada a presença de hipoderme formada por dois estratos celulares enquanto que, em *T. aeranthos*, essa camada é composta por apenas um estrato celular (Fagundes & Mariath, 2010) e em *T. tricholepis* não foi observada a presença de hipoderme (Morra *et al.* 2002). Além disso, idioblastos secretores de mucilagem estão presentes apenas na espécie do presente estudo.

Assim, a estruturação geral dos estratos mecânicos parece ser homogênea no pericarpo das espécies de *Tillandsia*, semelhante ao anteriormente observado em *Vriesea*, outro gênero de Tillandsioideae, estreitamente relacionado à *Tillandsia* (Fagundes & Mariath 2010). Embora algumas diferenças tenham sido observadas entre as espécies, como o tipo celular componente do endocarpo, número de estratos da hipoderme e presença de idioblastos mucilaginosos, mais estudos são necessários para avaliar as possibilidades taxonômicas desses caracteres.

Agradecimentos

Nós agradecemos ao de Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado da primeira autora. Esse trabalho teve suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Referências

- AOYAMA, E. M.; SAJO, M. G. Estrutura foliar de *Aechmea* Ruiz & Pav. Subgênero *Lamprococcus* (Beer) Baker e espécies relacionadas (Bromeliaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 4, p. 461-473, 2003.
- BARFUSS, M. H. J.; SAMUEL, R.; TILL, W.; STUESSY, T. F. Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 2, p. 337-351, 2005.
- BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: Editora UFV, 1999.
- BENZING, D. H. **Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation**. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- BRAGA, M. M. N. Anatomia foliar de Bromeliaceae da Campina. **Acta Amazonica**, v. 7, n.3, Suplemento, 1977.
- CHARRIÈRE-LADREIX, Y. Répartition intracellulaire du secrétat flavonique de *Populus nigra* L. **Planta**, v. 129, p. 167-174, 1976.
- CHEW, T.; DE LUNA, E.; GONZÁLEZ, D. Phylogenetic relationships of the pseudobulbous *Tillandsia* species (Bromeliaceae) inferred from cladistic analyses of ITS 2, 5.8S ribosomal RNA gene and ETS sequences. **Systematic Botany**, v. 35, n. 1, p. 86-95, 2010.

DIXON, R. A.; ACHNINE, L.; KOTA, P.; CHANG-JUN LIU, M. S.; REDDY, S.; WANG, L. The phenylpropanoid pathway and plant defence – a genomics perspective. **Molecular Plant Pathology**, v. 3, n. 5, p. 371-390, 2002.

FAGUNDES, N. F.; MARIATH, J. E. A. Morphoanatomy and ontogeny of fruit in Bromeliaceae species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 765-779, 2010.

FARIA, A. P. G.; WENDT, T.; BROWN, G. K. Cladistic relationships of *Aechmea* (Bromeliaceae, Bromelioideae) and allied genera. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 91, p. 303-319, 2004.

FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique. Some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v. 55, p. 123-142, 1958.

GABRIEL, B. L. **Biological Electron Microscopy**. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1982.

GARWOOD, N. C. The role of mucilage in the germination of cuipo, *Cavanillesia platanifolia* (H. and B.) H.B.K. (Bombacaceae), a tropical tree. **American Journal of Botany**, v. 72, n. 7, p. 1095-1105, 1985.

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

GIVNISH, T. J.; MILLAM, K. C.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. **Aliso**, v. 23, p. 3-26, 2007.

GRAHAM, L. E.; KODNER, R. B.; FISHER, M. M.; GRAHAM, J. M.; WILCOX, L. W.; HACKNEY, J. M.; OBST, J.; BILKEY, P. C.; HANSON, D. T.; COOK, M. E. (2004) Early land plant adaptations to terrestrial stress: a focus on phenolics. In: HEMSLEY, A. A.; POOLE, I (eds.) **The evolution of plant physiology**. Linnean Society Symposium, v. 1, n. 21, London: Elsevier Academic Press, 2004.

GUERIN, H. P.; DELAVEAU, P.G.; PARIS, R. R. Localisations histochimiques. II: Procédés de pigments flavoniques. Application à quelques Phanérogames. **Bulletin de la Societe Botanique de France**, v. 118, p. 29-36, 1971.

HUGHES, J.; McCULLY, M. E. Use of an optical brightener in study of plant structure. **Stain Technology**, v. 50, n. 5, p. 319-329, 1975.

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

KREITSCHITZ, A. Biological properties of fruit and seed slime envelope: how to live, fly, and not die. *In*: GORB, S. N. **Functional Surfaces in Biology**, v. 1. Springer. p. 1-11, 2009.

LI, K.; REEVE, D. W. Fluorescent labeling of lignin in the wood pulp fiber wall. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 24, n. 2, p. 169-181, 2004.

LILLIE, R. D. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 3^oed. New York: McGraw-Hill Co., 1965.

LUTHER, H. E. **An alphabetical list of Bromeliad binomials**. Sarasota, Florida: The Bromeliad Society International, 2008.

MCDOWELL, E. M.; TRUMP, B. R. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 1000, p. 405-414, 1976.

MORRA, L.; DOTTORI, N.; COSA, M. T. Ontogenia y anatomia de semilla y fruto en *Tillandsia tricholepis* (Bromeliaceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 37, n. 3-4, 193-201, 2002.

O'BRIEN, T. P.; McCULLY, M. E. The study of plant structure: principles and selected methods. Melbourne, Termacarphi Pty., 1981.

PROENÇA, S. L.; SAJO, M. G. Estrutura foliar de espécies de *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 2, 319-331, 2004.

PROENÇA, S. L.; SAJO, M. G. Anatomia foliar de bromélias ocorrentes em áreas de cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 3, p. 657-673, 2007.

PURVIS, M. J.; COLLIER, D.C.; WALLS, D. **Laboratory techniques in botany**. London: Butterworths, 1964.

REITZ, R. **Bromeliáceas e a Malária - Bromélia endêmica**. In: Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, pars. 1, fascículo BROM, p.1-559, 1983.

ROTH, I. **Fruits of Angiosperms**. Berlin, Gebrüder Borntraeger, 1977.

SASS, J. E. **Botanical Microtechnique**. Iowa, State University Press, 1951.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. **Tillandsioideae (Bromeliaceae)**. In: Flora Neotropica Monograph. New York: Hafner Press, mon. 14, pars. 2, p. 663-1492, 1977.

SOUZA, L. A. **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2006.

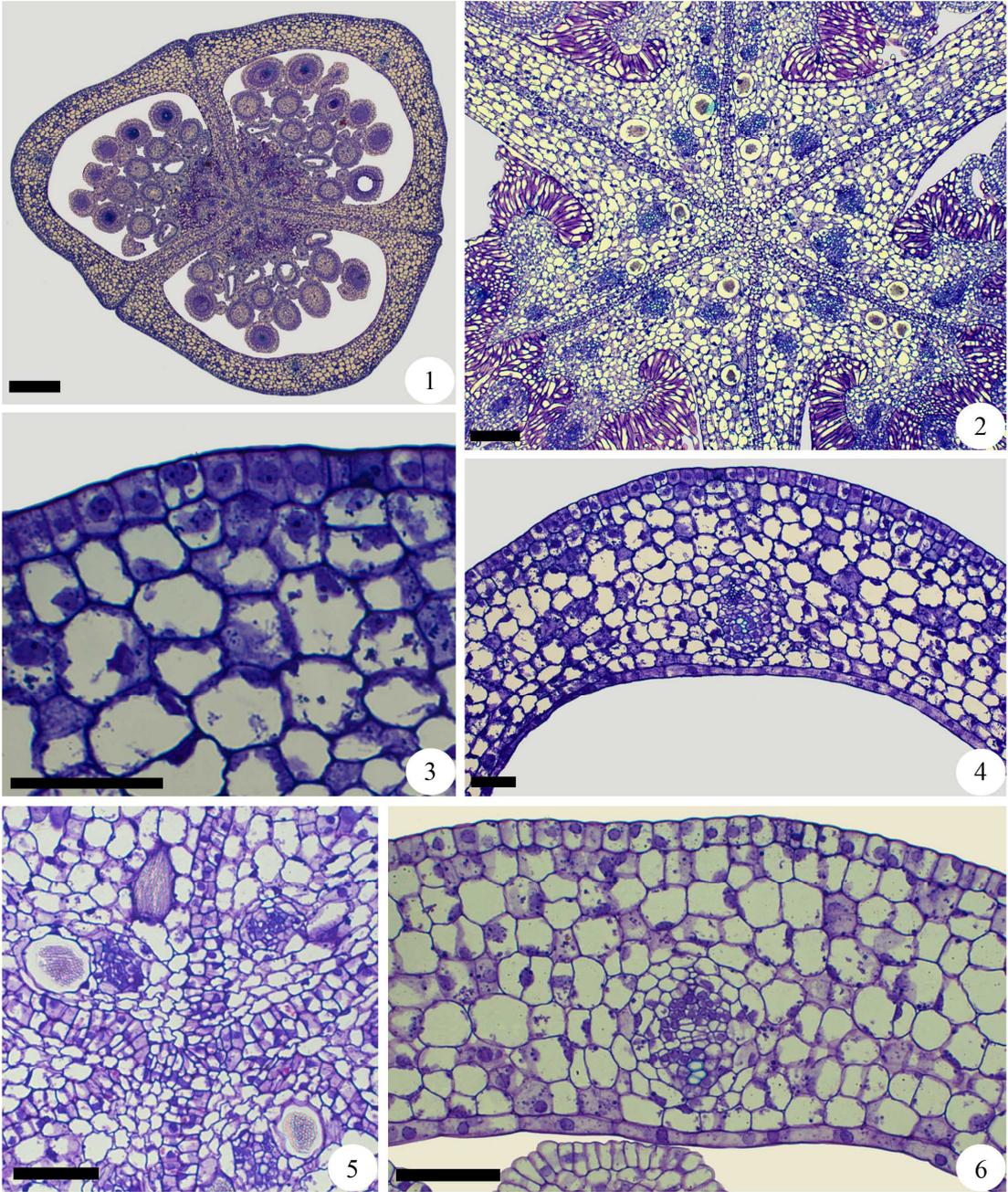
SPJUT, R. W. **A Systematic Treatment of Fruit Types**. New York: Memoirs of the New York Botanical Garden, 1994.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic Compound Biochemistry**. 1ªed. Springer, 2008.

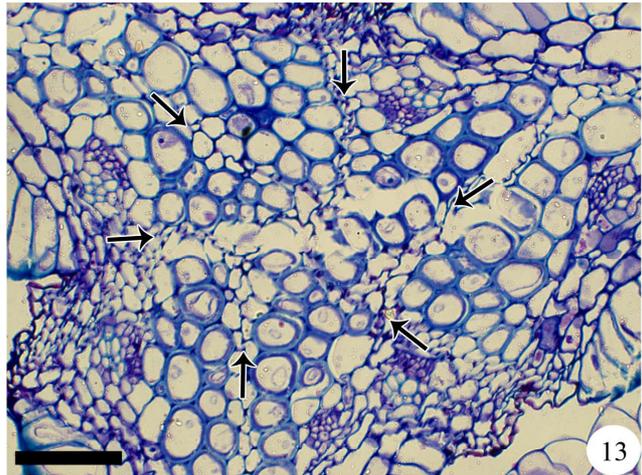
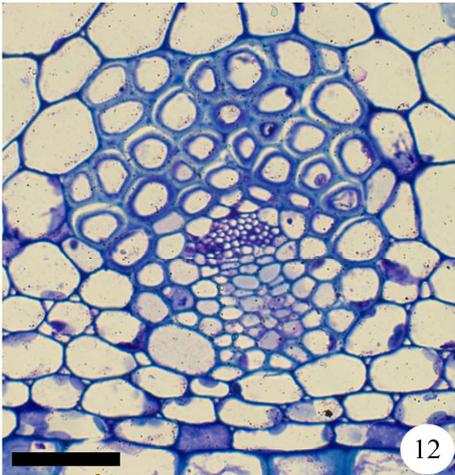
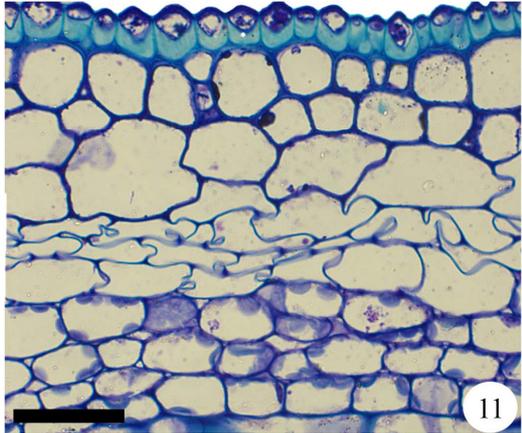
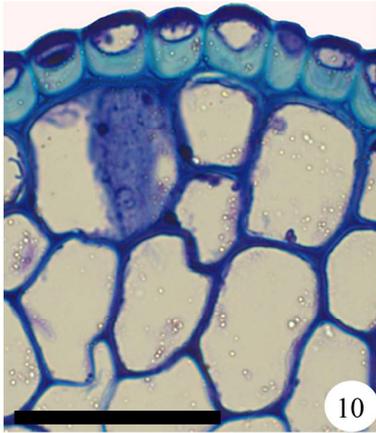
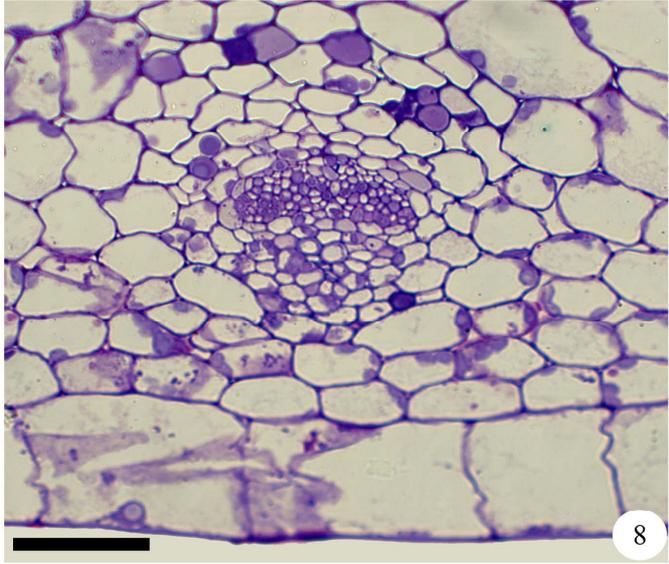
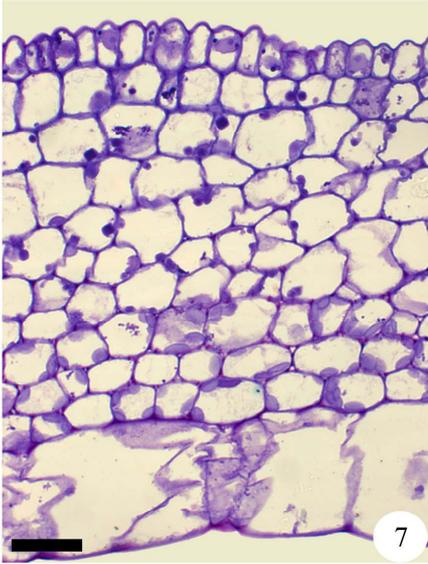
WOLLENWEBER, E. Flavones and flavonols. *In*: HARBOURNE JB & MABRY TJ (eds.). **The flavonoids: advances in research**. London: Chapman and Hall, p. 189-259, 1982.

Figuras 1-6. Seções transversais de ovários em pré-antese e antese de *Tillandsia geminiflora*.

Fig. 1. Aspecto geral do ovário tricarpelar, trilocular e com três nervuras por carpelo. Fig. 2. Região ventral dos carpelos, seis linhas de deiscência visíveis. Fig. 3. Células da face epidérmica externa com núcleos conspícuos. Fig. 4. Mesofilo composto por 7 a 9 camadas celulares. Fig. 5. Idioblastos de ráfides presentes no mesofilo (setas). Fig. 6. Feixe vascular dorsal com elementos traqueais já diferenciados, células da face epidérmica interna com núcleos visíveis e citoplasma mais denso. Barra escala: Fig. 1 300µm, Fig. 2 -6 50µm



Figuras 7-13. Seções transversais de cápsulas imaturas e maduras *T. geminiflora*. Fig. 7. Células exocárpicas com paredes periclinais externas convexas e mais espessadas, mesocarpo com 9 a 10 camadas celulares. Fig. 8. Bainha perivascular parenquimática e células do endocarpo alongadas anticlinalmente. Fig. 9. Esclereides exocárpicas dissociadas. Fig. 10. Espessamento em “U” das esclereides exocárpicas, hipoderme com paredes secundárias delgadas. Fig. 11. Mesocarpo com duas regiões, uma mediana com camadas celulares comprimidas e outra mais interna, junto ao endocarpo, sem camadas comprimidas. Fig. 12. Feixe vascular dorsal com bainha perivascular esclerenquimática. Fig. 13. Esclerênquima diferenciado adjacente às linhas de deiscência (indicadas por setas). Barras de escala Figs. 7-13=50µm



Figuras 14-21. Seções transversais de cápsulas maduras e deiscentes de *T. geminiflora*. Fig. 14. Linhas de deiscência formadas por duas camadas de células com paredes delgadas e onduladas (seta). Fig. 15. Células do endocarpo com espessamento de parede secundária com forma de “U” em seção transversal. Fig. 16. Cápsula deiscente com formação de três valvas. Fig. 17. Células exocárpicas com espessamento parietal em forma de “U”, as paredes periclinais externas com espessamento de parede de coloração púrpura. Presença de conteúdo polissacarídico nas células exocárpicas, hipodérmicas e mesocárpicas (setas). Fig. 18. Presença de compressão das camadas celulares do mesocarpo. Fig. 19. Bainha esclerenquimática em torno do feixe vascular dorsal. Fig. 20. Fibras adjacentes às linhas de deiscência ventrais. Fig. 21. Espessamento de parede secundária de aspecto lamelar das células do endocarpo. Barras de escala Figs. 14, 15, 18= 50µm; Fig. 16= 1 cm, Figs. 19-21= 25µm

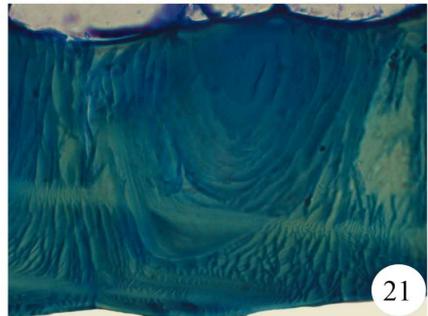
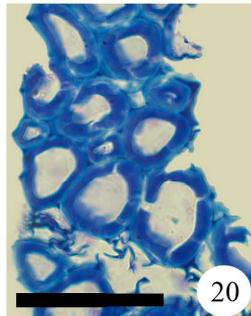
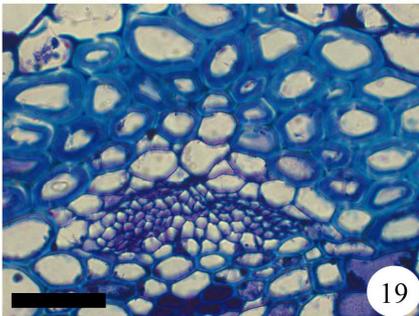
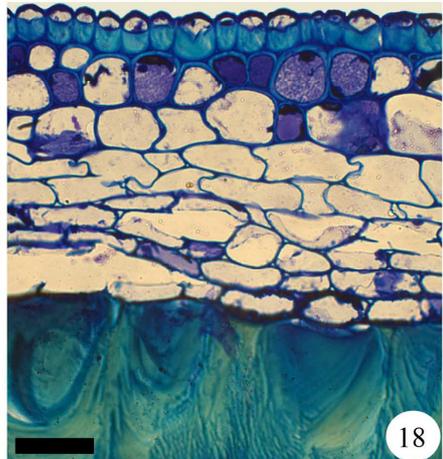
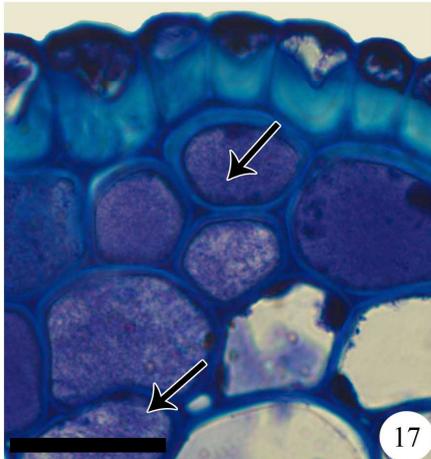
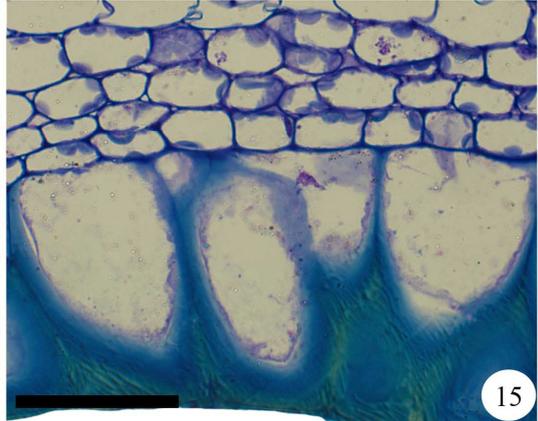
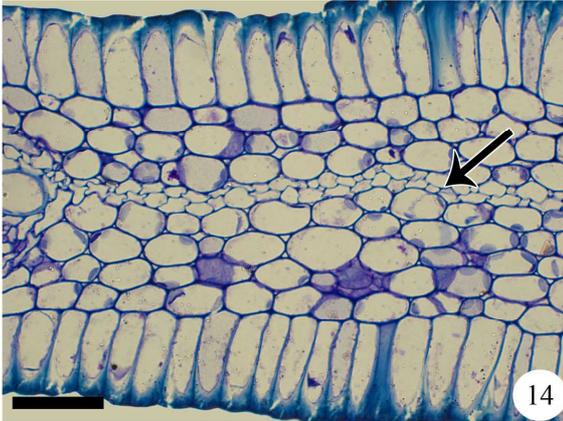
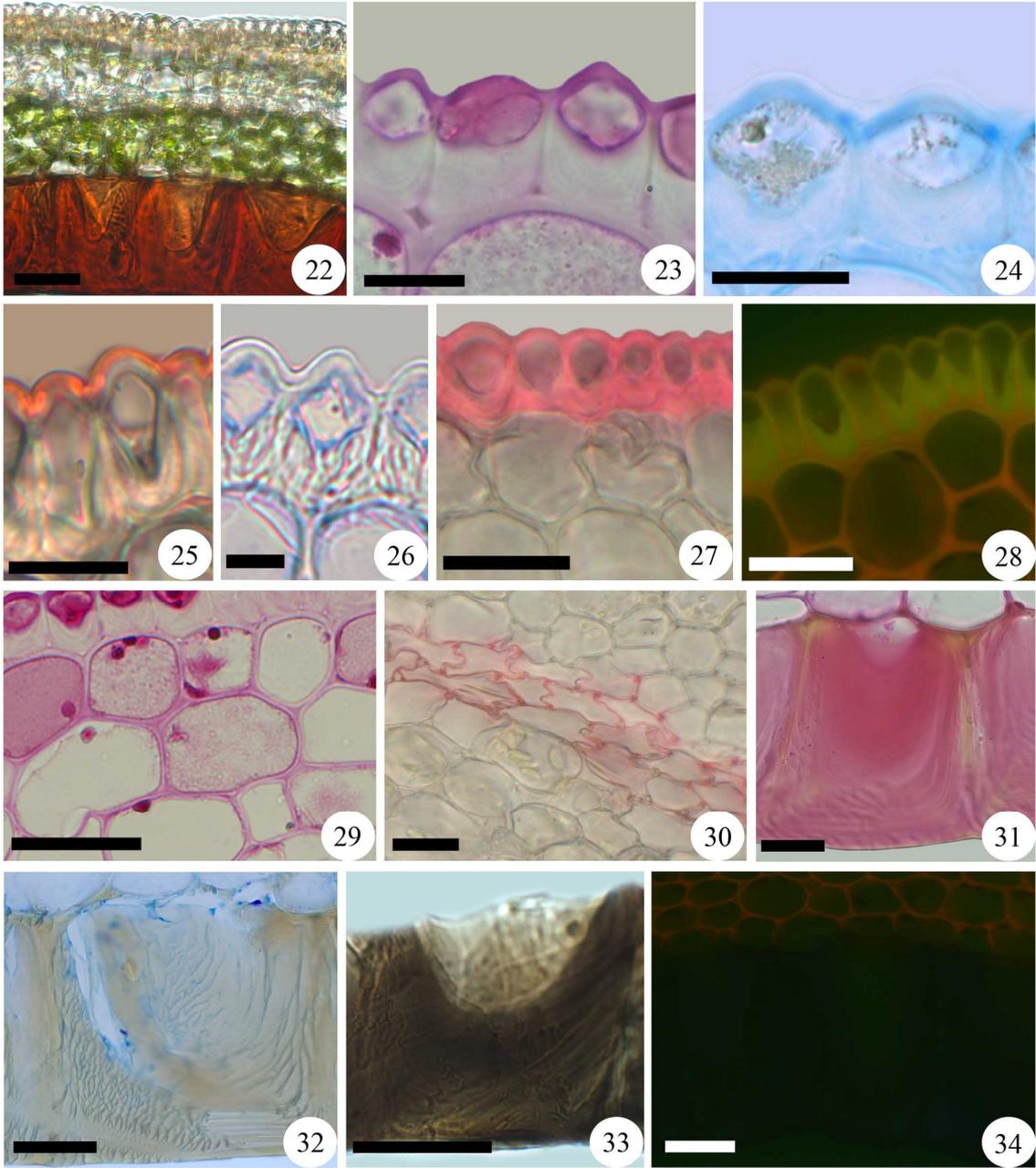


Tabela 1. Comparação de caracteres histoquímicos dos estratos pericárpicos cápsula madura de *T. geminiflora*.

Espécie		<i>T. geminiflora</i>		
Componente químico-Teste/Tecido		Exocarpo	Mesocarpo	Endocarpo
Polissacarídeos	PAS-Schiff	+	+	+
	Azul de Alciano	+	+	+
Celulose	Calcoflúor White	+	+	+
Lipídios	Sudan III	+*	-	-
Proteínas	Coomassie Blue	+	+	+
Componentes	Safranina O	+	+f,c	+
Fenólicos	Cloreto Férrico	+	+f	+
	Floroglucinol-HCl	-	+f	-
Lignina	Laranja de Acridina	+	+f	-
	Reagente Natural	-	-	-
Flavonóides	Reagente Wilson	-	-	-
	Vanilina-HCl	-	-	-

+ = presença, - = ausência, * = camada mais interna, c = camadas comprimidas, f= feixe vascular,

Figuras 22-34. Testes histoquímicos em seções transversais de cápsulas maduras de *T. geminiflora*. Fig. 22. Controle, coloração natural amarronzada do endocarpo. Fig. 23. Reação positiva de PAS-Schiff nas células do exocarpo principalmente nas paredes periclinais externas e no conteúdo celular. Fig. 24. Reação positiva mais intensa nas paredes periclinais externas com Azul de Alciano. Fig. 25. Presença de lipídios nas paredes periclinais externas detectada com Sudan III. Fig. 26. Presença de proteínas nas camadas mais internas das paredes exocárpicas, teste de Coomassie Blue. Fig. 27. Compostos fenólicos detectados com Safranina O. Fig. 28. Presença de ligninas detectada com o teste de Laranja de Acridina. Fig. 29. Secreção polissacarídica nas células hipodérmicas e mesocárpicas definida com o teste de PAS-Schiff. Fig. 30. Presença de compostos fenólicos detectada com Safranina O nas camadas comprimidas do mesocarpo. Fig. 31. Reação positiva para polissacarídeos totais com PAS-Schiff. Fig. 32. Presença de mucopolissacarídeos ácidos com Azul de Alciano. Fig. 33. Compostos fenólicos detectados com Cloreto Férrico. Fig. 34. Ausência de marcação positiva para ligninas com teste de Laranja de Acridina. Barras de escala Figs.21, 32, 33= 50µm, Figs. 22, 23, 24, 26-28, 30, 31 = 25µm, Fig. 25= 10µm



CAPÍTULO IV

Artigo III. Vascularização floral e ontogenia do fruto proveniente de ovário ínfero de

Bromelia antiacantha Bert. (Bromelioideae - Bromeliaceae)

Vascularização floral e ontogenia do fruto proveniente de ovário ínfero de *Bromelia antiacantha* Bert. (Bromelioideae - Bromeliaceae)

Fernanda Santos-Silva, Alexandra Antunes Mastroberti e Jorge Ernesto de Araujo Mariath

Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biociências,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Av. Bento Gonçalves, 9500 Prédio 43423 sala 201 CEP 91501-970 Porto Alegre, Rio Grande
do Sul, Brasil

Autor para correspondência: jorge.mariath@ufrgs.br

Resumo

A compreensão histológica do fruto proveniente de ovário ínfero é problemática, assim como a própria terminologia para esse órgão. Estudos que investiguem essas questões são escassos, assim como estudos que utilizem esses dados para solução de questões taxonômicas. O presente trabalho tem como objetivos descrever a ontogenia do fruto de *B. antiacantha*, com o auxílio do estudo da vascularização floral para determinação da origem dos tecidos não-carpelares, além de analisar essa estrutura no contexto da família e discutir alguns tópicos acerca de terminologia de frutos. A análise da vascularização floral e da ontogenia do fruto de *B. antiacantha* revela que a porção não-carpelar da parede do fruto é de origem apendicular como observado em algumas espécies da subfamília Bromelioideae. Para classificação do fruto, emprega-se o termo *baga*. Comparando com outras espécies da subfamília já estudadas, o fruto de *B. antiacantha* se caracteriza por uma hipoderme com 8-10 camadas celulares, pela presença de cavidades secretoras esquizógenas e pela presença de bainhas perivasculares esclerenquimáticas. Mesmo com o incremento de informações sobre estruturas pericárpicas em Bromelioideae, mais estudos ontogenéticos são necessários para poder realizar inferências evolutivas sobre os frutos dessa subfamília.

Palavras-chave: *baga*, Bromeliaceae, ovário ínfero, terminologia, vascularização.

Introdução

O pericarpo possui como função básica a proteção da semente contra estresses bióticos e abióticos além de possibilitar a dispersão das sementes. O fruto pode conter estruturas além das originadas a partir da parede do ovário, como cálice, pedicelo e o hipanto (Roth 1977).

A compreensão histológica do fruto proveniente de ovário ínfero é problemática, assim como compreender a estrutura do ovário ínfero é um desafio recorrente para os morfologistas florais (Fahn 1990). O resultado dessa dificuldade é a descrição dessa estrutura em nível topográfico desconsiderando a origem desses componentes pericárpicos (Souza 2006).

Além disso, a terminologia de frutos é especialmente complicada. Os termos utilizados implicam similaridade morfológica, mas não necessariamente homologia (Wagenitz 1999). Poucas são as iniciativas para o esclarecimento da natureza das estruturas pericárpicas e a verificação da nomenclatura utilizada, como por exemplo, o trabalho de Marzinek *et al.* (2008) que discute o emprego de cipsela ou aquênio para os frutos de Asteraceae. Segundo esses autores, a divisão nomenclatural deve se basear nas diferenças na origem do ovário, ficando cipsela para fruto oriundo de ovário ínfero (no caso de Asteraceae) e aquênio para os frutos provenientes de ovário súpero (como em Rosaceae e Plumbaginaceae). Dessa forma, fica evidente a necessidade de trabalhos que analisem a estrutura complexa dos frutos provenientes de ovário ínfero e de sua classificação.

A subfamília Bromelioideae se caracteriza por possuir flores com ovário ínfero, frutos bacáceos e sementes nuas (Smith & Downs 1979). Esse grupo é considerado como a linhagem de divergência mais recente entre as subfamílias de Bromeliaceae (Givnish *et al.* 2007).

Em relação aos frutos de Bromelioideae, existem os trabalhos anatômicos de Okimoto

(1948) e Fagundes & Mariath (2010). O estudo de Okimoto (1948) com *Ananas comosus*, é o único que apresenta dados de vascularização floral que contribuem para a interpretação da estrutura da infrutescência, de constituição diferente dos demais frutos da subfamília. Assim, embora o estudo de vascularização floral tenha sido utilizado de forma eficiente para a melhor compreensão da estrutura do fruto proveniente de ovário ínfero em trabalhos com outras famílias, ainda não foi explorado no contexto da subfamília Bromelioideae.

Além disso, embora a subfamília Bromelioideae seja reconhecida como um grupo natural, ainda persistem problemas de circunscrição genérica, como por exemplo, nos gêneros *Aechmea* e *Quesnelia* (Schulte *et al.* 2009). Assim, há necessidade de buscar abordagens que possam contribuir com caracteres taxonomicamente informativos. Nesse sentido, trabalhos anatômicos com frutos podem ser bastante valiosos, e o único trabalho até o presente momento a realizar inferências taxonômicas usando esses dados para Bromelioideae e a família Bromeliaceae é o estudo de Fagundes & Mariath (2010).

Portanto, esse trabalho tem como objetivos descrever a ontogenia do fruto de *B. antiacantha*, espécie pertencente a um dos gêneros de divergência mais precoce na subfamília, com o auxílio do estudo da vascularização floral para determinação da origem dos tecidos não-carpelares, além de analisar essa estrutura no contexto da família Bromeliaceae e discutir alguns tópicos acerca de terminologia de frutos.

Material e Métodos

O material botânico de *B. antiacantha* foi coletado em populações ocorrentes na Fazenda São Maximiano, município de Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil (30°10'S, 51°23'W). Foram coletados botões florais, ovários, frutos imaturos e maduros. A exsicata da planta coletada em campo foi depositada no herbário ICN da Universidade Federal do Rio

Grande do Sul sob a seguinte numeração: ICN152995.

A análise de vascularização floral foi realizada com botões florais inteiros enquanto que a ontogenia do pericarpo foi avaliada a partir de seções medianas. O material coletado foi fixado em glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M- pH7.2 por um período de 48h (McDowell & Trump 1976), lavado em tampão fosfato de sódio 0,1M- pH7,2 (Gabriel 1982) e desidratado em série etílica ascendente com finalização com série de soluções de etanol-clorofórmio (Purvis *et al.* 1964). O material foi incluído em resina a base de hidroxietilmetacrilato (Gerrits & Smid 1983). Seções transversais e longitudinais entre 5 e 10 µm de espessura foram obtidas no micrótomo de guias Leitz 1400 com navalha de aço de perfil D, coradas com Azul de Toluidina O 0,05% H 4.4 (Feder & O'Brien 1958). Além disso, foi realizado o teste de Ácido Periódico/ Reagente de Schiff (PAS) (O'Brien e McCully 1981) para a detecção de polissacarídeos. Todas as seções foram analisadas no microscópio óptico Leica DM R em campo claro equipado com sistema fotográfico digital.

A terminologia adotada para a descrição dos resultados e delimitação das camadas componentes do pericarpo está de acordo Roth (1977) e Spjut (1994) para classificação de fruto.

Resultados

Vascularização Floral:

A Fig. 1 esquematiza o botão floral de *B. antiacantha* visto em seção longitudinal. Os botões florais dessa espécie têm em torno de 15 mm de comprimento. Em relação à vascularização, não são observados feixes vasculares descendentes (setas), apenas traços divergindo para as diferentes peças florais. Alguns feixes invertidos em relação aos demais

(xilema voltado para a face externa) são visualizados logo após os pontos de ramificação na porção mediana do ovário. Para cada ramificação, um dos feixes resultantes apresenta tal condição, que se modifica no ápice do ovário quando esses reassumem a orientação dos demais feixes (Fig. 2)

No nível representado na Fig. 3, uma seção transversal de botão floral, observa-se os feixes fundamentais (FF) na região do pedicelo. Todos os feixes são colaterais e não são observados feixes invertidos. A porção nectarífera e o início da abertura dos lóculos estão representados pela Fig. 4, sendo visíveis os feixes carpelares dorsais (CD). Nesse nível observam-se feixes vasculares invertidos dispersos na região mediana do mesofilo, os quais correspondem àqueles feixes torcidos, resultantes de ramificações, observados em seção longitudinal.

A porção seminífera do botão floral está representada pela Fig. 5. Nessa região os feixes carpelares dorsais e ventrais (CV) são visíveis assim como são observados os traços dos estames opostos às sépalas (TES) e os traços medianos das sépalas (TSM). Nesse nível, assim como no nível anterior, são observados os feixes invertidos.

No nível representado pela Fig. 6, as sépalas já estão individualizadas. Observam-se os traços laterais das pétalas (TPL) e os traços medianos das pétalas (TPM).

O início da separação das pétalas é observado no nível representado pela Fig. 7. Além disso, os feixes dos estames opostos às sépalas (ES) e dos opostos às pétalas (EP) e o estilete encontram-se individualizados, com apenas um feixe correspondente a cada carpelo. Já na Fig. 8, as pétalas já estão individualizadas e os filetes dos estames opostos às sépalas (ES) e pétalas (EP) começam a se individualizar. Nesses dois níveis não são mais observados feixes vasculares torcidos.

Ontogenia do Pericarpo:

ESTÁDIO I. Esse estágio está representado por ovários em pré e pós-antese. O ovário é ínfero, tricarpelar e trilocular. A face epidérmica externa apresenta acúmulo de substância polissacarídica, também se observam estômatos (Fig. 9) e tricomas (Fig. 10). Há presença de idioblastos com ráfides dispersos pelo mesofilo (Fig. 11, setas). Encontra-se um grande número de feixes vasculares colaterais, com a presença de alguns feixes invertidos, com já citado. (Fig. 12, setas).

Na região ventral observam-se seis linhas de sutura dos três carpelos. Essas linhas são formadas por células menores do que as demais células (Fig. 13). As cavidades septais estão delimitadas por uma epiderme secretora, com presença de acúmulo de compostos polissacarídicos (Fig.13). As células da face epidérmica interna são de natureza parenquimática e apresentam acúmulo de polissacarídeos (Fig. 14).

ESTÁDIO II. Esse estágio está representado pelo fruto de coloração verde. O exocarpo apresenta as mesmas características do estágio um. Na área entendida como mesocarpo *sensu lato*, de origem dupla, devido à contribuição de tecidos de origem ovariana e do hipanto, os feixes vasculares apresentam uma bainha perivascular de natureza parenquimática (Fig. 15). Na região mediana do mesocarpo, entre os espaços intercelulares, observa-se uma deposição inicial de uma substância polissacarídica (Fig. 16, insert).

ESTÁDIO III. Esse estágio está representado pelo fruto de coloração amarela. O exocarpo apresenta as paredes celulares mais espessadas e não apresenta mais conteúdo polissacarídico (Fig. 17). Observa-se uma hipoderme composta por 8-10 camadas celulares, essas células também apresentam paredes celulares espessadas (Fig. 17). Há maior acúmulo de secreção polissacarídica nas cavidades esquizógenas observadas no estágio dois. Ao redor

delas há camadas celulares comprimidas devido ao seu crescimento (Fig.18). Todos os feixes vasculares presentes no mesocarpo estão envoltos por uma bainha perivasular esclerenquimática (Fig. 18). Em relação à delimitação da participação de tecidos não-carpelares na composição do mesocarpo observa-se uma diminuição no número de feixes vasculares próximo à região do endocarpo. Além disso, os feixes vasculares presentes no mesocarpo de origem não-carpelar apresentam uma bainha perivasular com fibras de paredes mais espessadas enquanto que os feixes do mesocarpo de origem carpelar possuem uma bainha perivasular esclerenquimática com menor espessamento das paredes (Fig. 19).

A epiderme dos canais septais nectaríferos ainda apresenta substâncias polissacarídicas em suas células (Fig. 20). Assim como o endocarpo ainda apresenta natureza parenquimática (Fig. 21).

Discussão

No presente trabalho, o fruto de *Bromelia antiacantha* é classificado como baga, por se tratar de um fruto indeiscente com pericarpo que não se diferencia internamente por um rígido endocarpo, conforme o conceito de Spjut (1994). Os frutos de Bromelioideae também já foram classificados como baga por Fagundes & Mariath (2010).

O termo baga, ao ser cunhado por Linnaeus em 1751, não fazia distinção entre estruturas oriundas de ovário supero e ínfero, considerando apenas as características morfológicas dessa estrutura (Spjut 1994). Entretanto, a separação em diferentes tipos de frutos conforme a posição do ovário foi várias vezes proposta, como no caso dos frutos pomáceos (Hertel 1959). Essa classificação de frutos provenientes de ovários íferos inclui a delimitação de subtipos de famílias e gêneros.

O conceito de baga encerra controvérsias acerca de sua definição, assim como o

próprio conceito de fruto. Nesse sentido, Spjut e Thieret (1989) e Spjut (1994) comentam que, ao invés de ampliar o conceito de fruto a partir do momento em que ficou claro que essa estrutura poderia ter participação de tecidos não-carpelares, preferiu-se criar conceitos como o de pseudofruto.

Em *B. antiacantha*, a partir do estudo de vascularização floral, observou-se uma controvérsia em relação à presença de feixes vasculares invertidos. A análise das seções transversais demonstrou a presença de feixes vasculares invertidos (xilema voltado para a face externa) na porção mediana do mesofilo. A presença dessas inversões nos feixes é considerada geralmente como um sinal do afundamento do ovário em tecido receptacular (Douglas 1944; Puri 1951, 1952). Entretanto, ao analisar a vascularização do botão floral em seções longitudinais ficou evidente que não existem feixes descendentes. Esses feixes invertidos são, na realidade, feixes torcidos oriundos da ramificação dos feixes vasculares para irrigação das diferentes peças florais.

Dessa forma, fica claro que a porção extra-carpelar, nesse caso um hipanto, do ovário de *B. antiacantha* é formada pela coesão e adnação das bases das diferentes partes florais e não por afundamento do ovário no receptáculo. O hipanto da espécie do presente estudo pode então ser classificada como de origem apendicular, considerada como a condição mais encontrada nos estudos com espécies de angiospermas de ovário ínfero (Puri 1951, 1952; Roth 1977).

Com base no exposto acima, evidencia-se que ao fazer a análise da vascularização floral deve-se explorar seções do material com orientações diversas para que não exista o risco de uma avaliação parcial que poderia levar a uma conclusão equivocada.

No contexto da família Bromeliaceae, Okimoto (1948) ao analisar a vascularização em *Ananas comosus* considerou o ovário ínfero dessa espécie como de natureza apendicular, não observando a presença de feixes invertidos.

Sajo *et al.* (2004) analisaram a vascularização do ovário de três gêneros de Bromelioideae (*Aechmea*, *Quesnelia* e *Orthophytum*). Eles consideraram os ovários genuinamente íferos devido ao fato de que os feixes vasculares que irrigam sépalas e carpelos divergiram próximo ao topo do ovário. Embora os autores não tenham assumido qual a origem dos tecidos não-carpelares, os esquemas apresentados da vascularização dessas espécies indicam hipanto de origem apendicular visto que não se observa a presença de feixes invertidos. Fagundes & Mariath (2010) ao analisar a ontogênese dos frutos de *A. calyculata* e *Billbergia nutans*, assim como Sajo *et al.* (2004), não avaliaram a origem dos tecidos extra-carpelares. Entretanto, os resultados indicam a também provável origem apendicular do hipanto, uma vez que não foram observados feixes invertidos.

Entretanto, Douglas (1957) comenta que além da presença de ovário ífero com hipanto de origem apendicular, teria sido observada a presença de ovários com hipanto de origem receptacular em algumas espécies da família Bromeliaceae a partir dos dados compilados por essa autora.

Portanto, há variação dentro de Bromelioideae em relação à origem dos tecidos extra-carpelares que compõem a parede do fruto na maturidade. *B. antiacantha* possui origem apendicular assim como alguns dos outros representantes de Bromelioideae já estudados. Dessa maneira, a decisão de assumir que os frutos de Bromelioideae são bagas que possuem diferentes origens para composição da parede parece ser mais parcimoniosa. A proposição de nomenclatura diferenciada para o fruto da subfamília seria prematura e mais estudos são necessários para avaliar a complexa estrutura pericárpica de Bromelioideae.

Outra questão da terminologia de frutos está relacionada às definições das camadas componentes do pericarpo em estruturas de origem complexas (com participação do hipanto como em *B. antiacantha*). Dessa forma, no presente trabalho, assim como no estudo de Marzinek *et al.* (2008), adotou-se o conceito morfológico (pericarpo *lato sensu*). O exocarpo

do fruto de *B. antiacantha* é a camada externa do hipanto, e o mesocarpo inclui tecidos que possuem de origem carpelar e extra-carpelar. Apenas o endocarpo é proveniente da face epidérmica interna do ovário.

Em relação à estrutura pericárpica, a presença de uma hipoderme bem desenvolvida, adjacente ao exocarpo, é característica de muitos frutos, incluindo as bagas já estudadas (Roth 1977). Em *B. antiacantha* foram observadas 8-10 camadas, enquanto que em *A. calyculata* e *Billbergia nutans* são observadas 2-3 camadas hipodérmicas.

Quanto à separação do mesocarpo de origem carpelar e o de origem a partir do hipanto, Okimoto (1948) observou uma diferença temporal na diferenciação dos feixes vasculares de *A. comosus*. Há diferenciação das células parenquimáticas em torno dos feixes vasculares não-carpelares em elementos esclerenquimáticos, formando uma bainha perivascular esclerenquimática (Okimoto, 1948). Em *B. antiacantha* foi observado uma diferença em relação ao grau de espessamento dos elementos esclerenquimáticos das bainhas perivasculares. Os elementos esclerenquimáticos da porção extra-carpelar do mesocarpo apresentavam um maior espessamento de suas paredes enquanto que os feixes da porção carpelar apresentavam esses elementos com paredes delgadas. Assim, essa característica pode ser um indício de delimitação dos limites entre os tecidos carpelares e extra-carpelares.

A presença de cavidades secretoras esquizógenas foi observada no mesocarpo de *B. antiacantha*. A presença de estruturas secretoras ainda não havia sido descrita para o pericarpo de representantes de Bromelioideae, apenas sido relatada em *Dyckia maritima*, uma Pitcairnioideae (Fagundes & Mariath 2010).

B. antiacantha é representante de um gênero de divergência precoce dentro de Bromelioideae (Sass & Specht 2010) e apresenta uma estrutura de ovário e fruto maduro semelhante aos outros gêneros. Essa espécie apresenta o hipanto de origem apendicular, assim como alguns dos gêneros já estudados, os quais são de divergência tardia [*Ananas* (Okimoto

1948), *Aechmea*, *Ortophytum* e *Quesnelia* (Sajo *et al.* 2004), *Aechmea* e *Billbergia* (Fagundes & Mariath 2010)]. Assim, embora o presente trabalho tenha incrementado as informações sobre as estruturas pericárpicas em Bromelioideae, mais estudos ontogenéticos como esse são necessários para poder realizar inferências evolutivas sobre os frutos dessa subfamília.

Agradecimentos

Nós agradecemos ao Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado da primeira autora. Esse trabalho teve suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

Referências

DOUGLAS, G. The inferior ovary. **The Botanical Review**, v. 10, p. 125-186, 1944.

DOUGLAS, G. The inferior ovary. II. **The Botanical Review**, v. 23, p. 1-46, 1957

FAGUNDES, N. F.; MARIATH, J. E. A. Morphoanatomy and ontogeny of fruit in Bromeliaceae species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 765-779, 2010.

FAHN, A. **Plant Anatomy**. New York: Pergamon Press, 1990.

FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique. Some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v. 55, p. 123-142, 1958.

GABRIEL, B. L. **Biological Electron Microscopy**. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1982.

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

GIVNISH, T. J.; MILLAM, K. C.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. **Aliso**, v. 23, p. 3-26, 2007.

HERTEL, R. J. G. Contribuições para a fitologia teórica. II. Algumas concepções na carpologia. **Humanitas**, v. 4, n. 4, p. 11-48, 1959.

MARZINEK, J.; DE-PAULA, O. C.; OLIVEIRA, D. M. T. Cypselia or achene? Refining terminology by considering anatomical and historical factors. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, n.3, p. 549-553, 2008.

MCDOWELL, E. M.; TRUMP, B. R. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 1000, p. 405-414, 1976.

O'BRIEN, T. P.; McCULLY, M. E. The study of plant structure: principles and selected methods. Melbourne, Termacarphi Pty., 1981.

OKIMOTO, M. C. Anatomy and histology of the pineapple inflorescence and fruit. **Botanical Gazette**, v. 110, n. 2, p. 217-231, 1948.

PURI, V. The role of floral anatomy in the solution of morphological problems. **The Botanical Review**, v. 17, p. 471-553, 1951.

PURI, V. Floral anatomy and inferior ovary. **Phytomorphology**, v. 2, p. 122-129, 1952.

PURVIS, M. J.; COLLIER, D. C.; WALLS, D. **Laboratory techniques in botany**. London: Butterworths, 1964.

ROTH, I. **Fruits of Angiosperms**. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1977.

- SAJO, M. G.; RUDALL, P. J.; PRYCHID, C. J. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectaries in commelinid monocots. **Plant Systematics and Evolution**, v. 247, p. 215-231, 2004.
- SASS, C.; SPECHT, C. D. Phylogenetic estimation of the core Bromelioids with an emphasis on the genus *Aechmea* (Bromeliaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 55, p. 559-571, 2010.
- SCHULTE, K.; BARFUSS, M. H. J.; ZIZKA, G. Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 51, p. 327-339, 2009.
- SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. **Bromelioideae (Bromeliaceae)**. In: Flora Neotropica Monograph. New York: The New York Botanical Garden, , mon. 14, pars. 3, p.1493-2142, 1979.
- SOUZA, L.A. **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2006.
- SPJUT, R. W. **A Systematic Treatment of Fruit Types**. New York: Memoirs of the New York Botanical Garden, 1994.
- SPJUT, R. W.; THIERET, J. W. Confusion between multiple and aggregate fruits. **The Botanical Review**, v. 55, n. 1, p. 53-72, 1989.
- WAGENITZ, G. Botanical terminology and homology in their historical context. **Systematic Geography of Plants**, v.68, p. 33-37, 1999.

Figura 1. Esquema do botão floral de *B. antiacantha* montado a partir de diversas seções longitudinais (inversões dos feixes vasculares não são observadas). Barra de escala= 5 mm

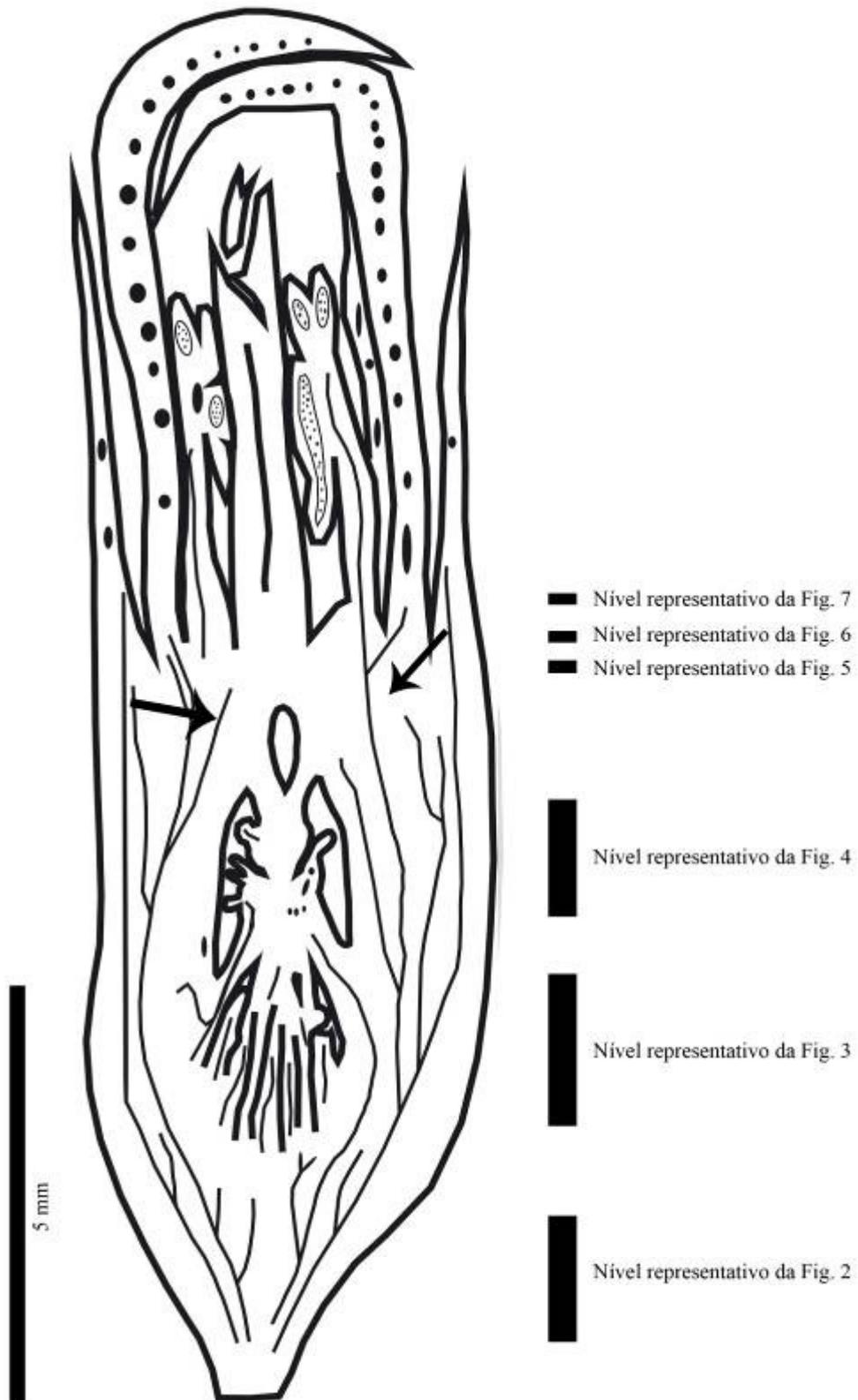
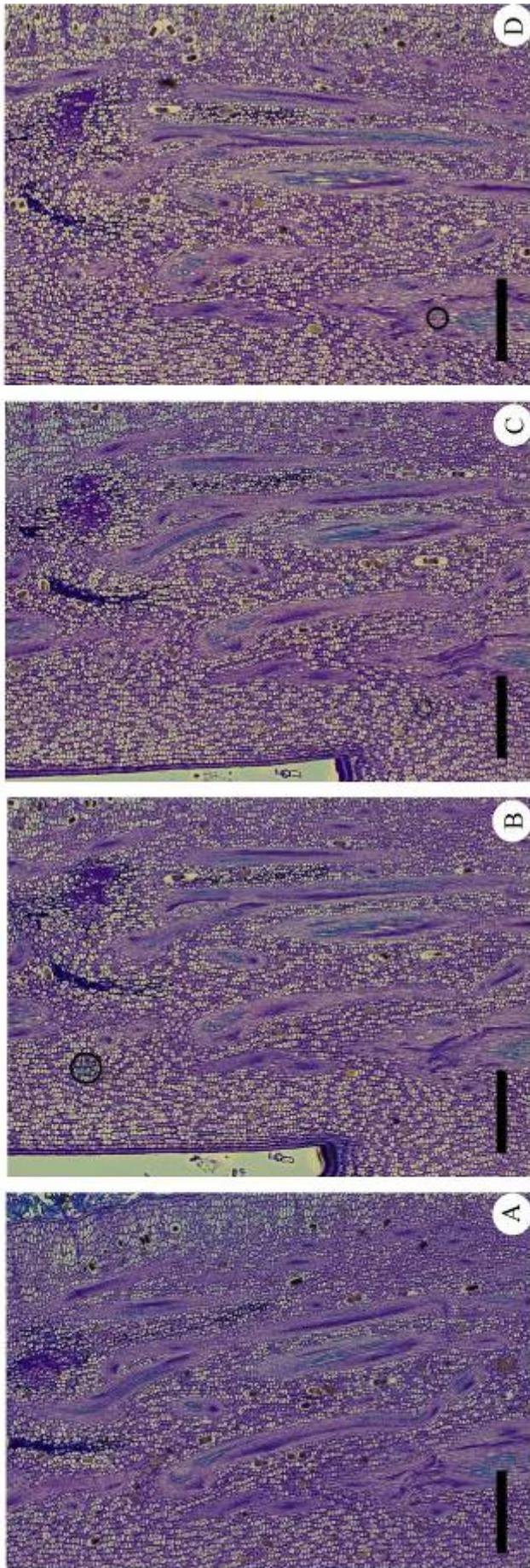
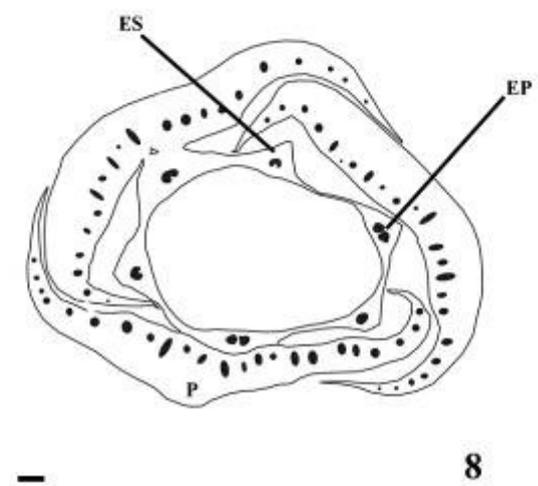
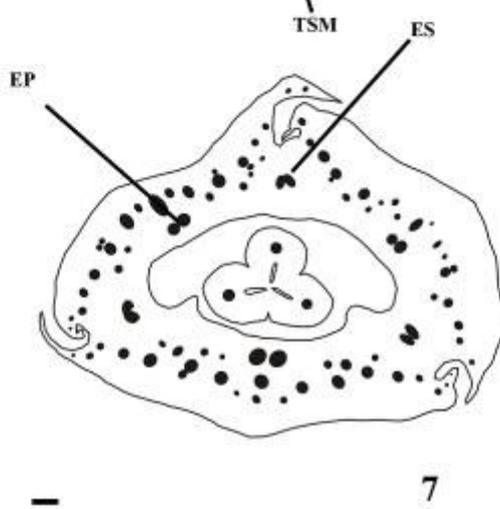
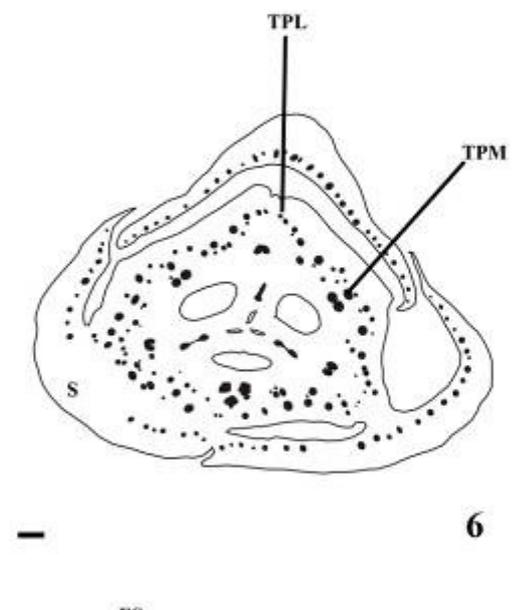
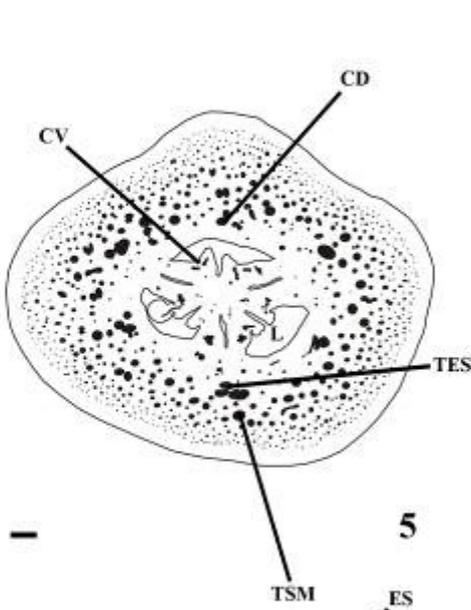
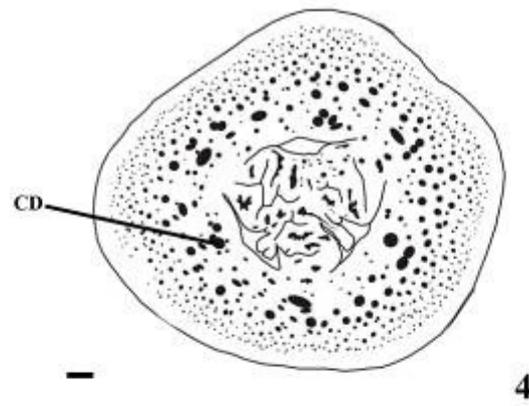
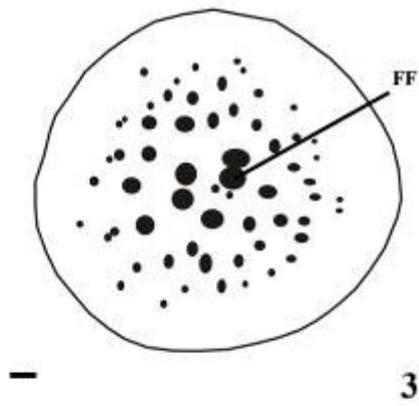


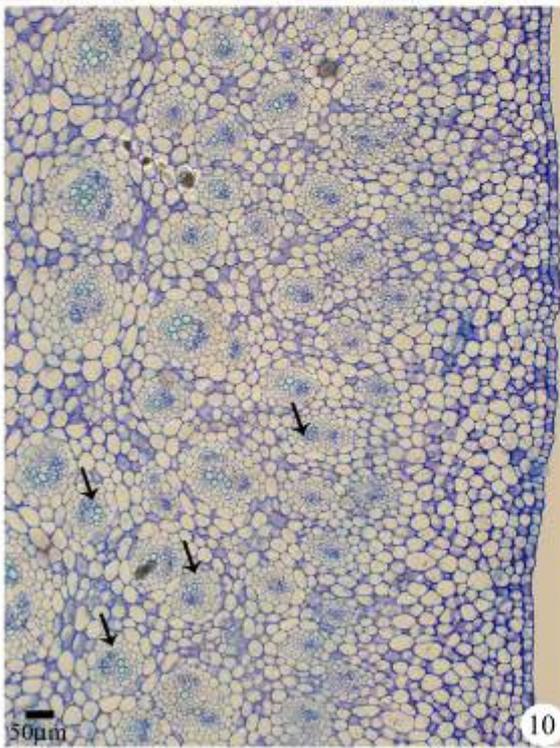
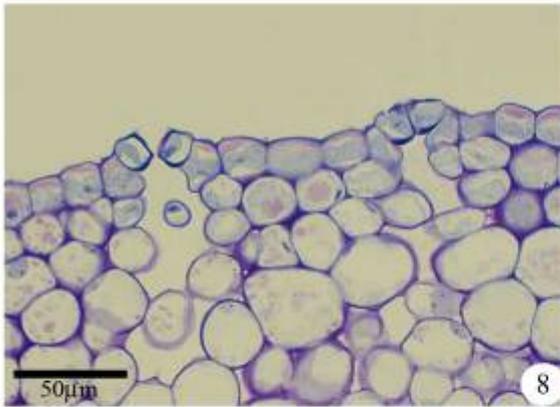
Figura 2 Seções longitudinais de botão floral de *Bromelia antiacantha*. As inversões dos feixes presentes após as ramificações vistas a partir de uma seqüência de seções (A-D).



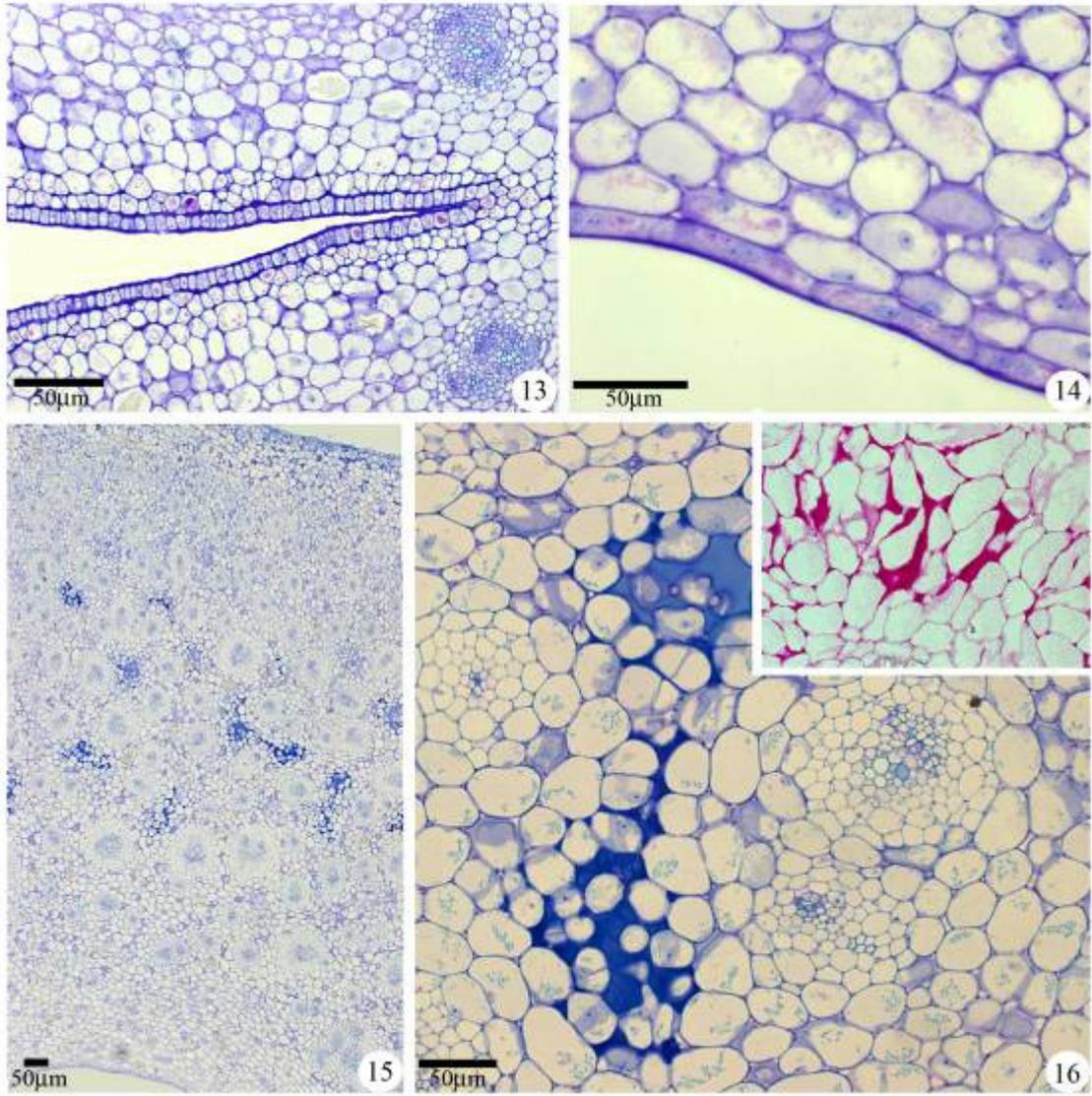
Figuras 3 a 8. Esquemas da vascularização floral de *Bromelia antiacantha* a partir de seções transversais. Fig. 3. Nível representativo do pedicelo, presença feixes fundamentais (FF). Fig. 4. Nível representativo da base do ovário, região nectarífera, início da abertura dos lóculos, CD= feixe carpelar dorsal. Fig. 5. Nível representativo da porção seminífera do ovário. CD= feixe carpelar dorsal, CV= feixe carpelar ventral, TSM= traço estame oposto à sépala, TSM= traço mediano da sépala. Fig. 6. Nível representativo da região de saída das sépalas. TPL= traço lateral da pétala, TPM= traço mediano da pétala, S= sépala. Fig. 7. Nível representativo da região de saída das pétalas. ES= feixe do estame oposto à sépala, EP= feixe do estame oposto à pétala. Fig. 8. Nível representativo da individualização dos estames. ES= feixe do estame oposto à sépala, EP= feixe do estame oposto à pétala, P= pétala.



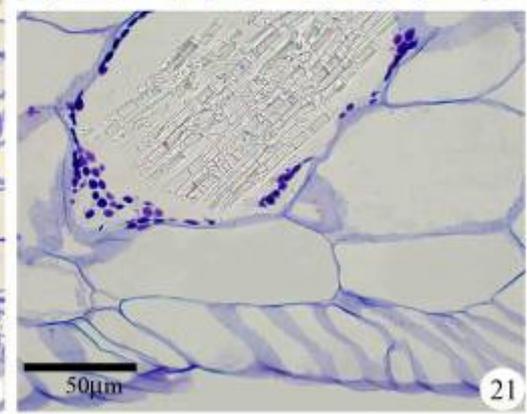
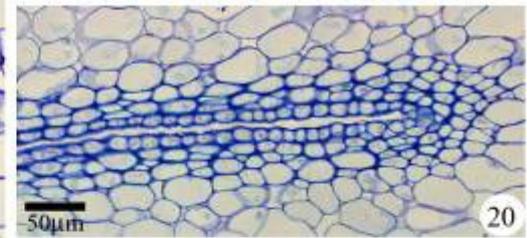
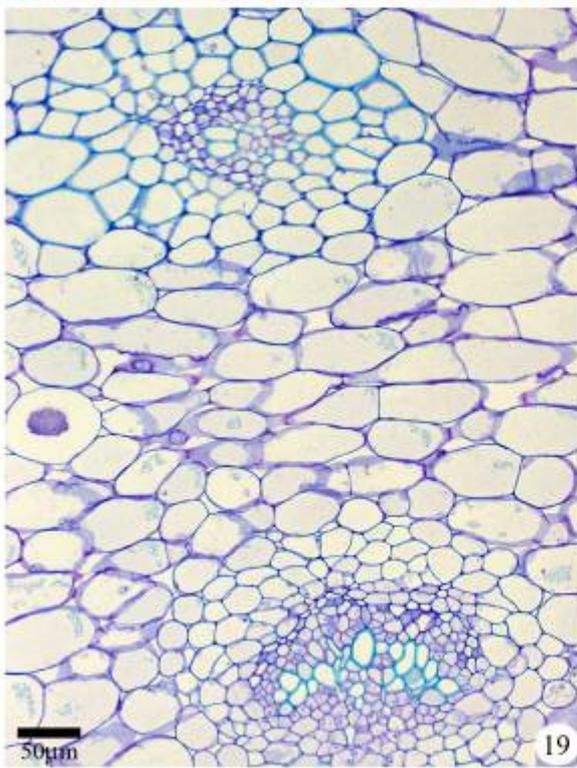
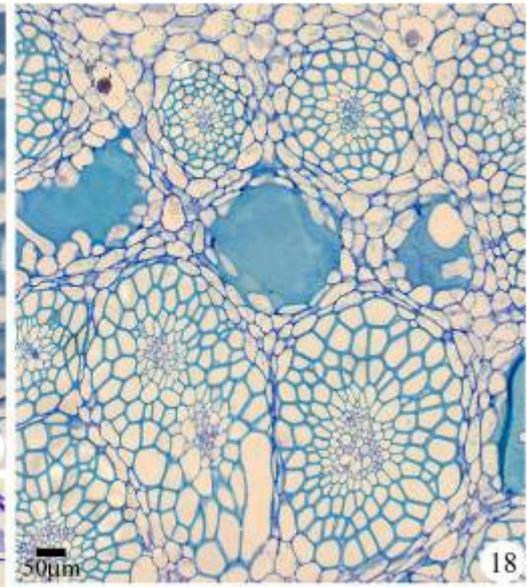
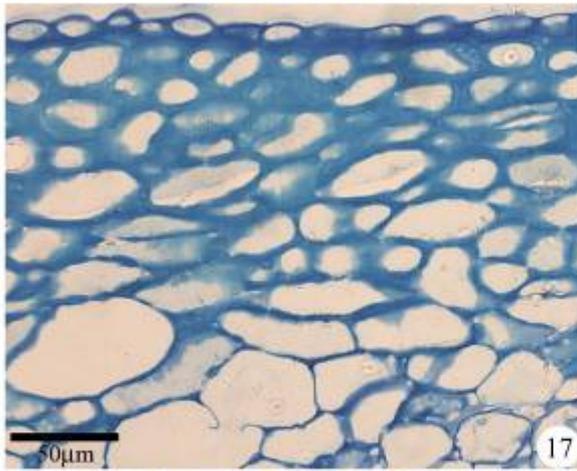
Figuras 9 a 12. Seções transversais de ovários de *B. antiacantha*. Fig. 9. Aspecto geral face epidérmica externa, estômatos visíveis, setas. Fig. 10. Escamas peltadas presentes na face epidérmica externa, idioblastos com ráfides visíveis. Fig. 11. Aspecto geral do mesofilo, presença de feixes vasculares invertidos (setas). Fig. 12. Aspecto da região ventral, linhas de suturas carpelares visíveis.



Figuras 13 a 16. Seções transversais de ovários e frutos imaturos de *B. antiacantha*. Fig. 13. Aspecto das células componentes do duto nectarífero. Fig. 14. Aspecto das células componentes da face epidérmica interna. Fig. 15. Aspecto geral do pericarpo do fruto imaturo. Fig. 16. Acúmulo de secreção entre espaços intercelulares, insert: reação positiva para polissacarídeos.



Figuras 17 a 21. Seções transversais de frutos maduros de *B. antiacantha*. Fig. 16. Aspecto do exocarpo e das camadas hipodérmicas com paredes mais espessadas. Fig. 17. Cavidades secretoras esquizógenas no mesocarpo. Fig. 18. Diferença no espessamento dos elementos esclerenquimáticos de feixes da área extra-carpelar e carpelar. Fig. 19. Aspecto das células do duto nectarífero. Fig. 20. Aspecto das células endocárpicas.



CAPÍTULO V

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo pretendeu ampliar o conhecimento acerca da estrutura anatômica dos frutos de Bromeliaceae, explorando aspectos ontogenéticos, funcionais e taxonômicos.

Os padrões observados em relação aos estratos mecânicos que compõem a estrutura das cápsulas de Pitcairnioideae e Tillandsioideae parecem ser conservados para o nível genérico. Algumas diferenças são observadas em nível específico como o número de camadas componentes do mesocarpo, número de camadas hipodérmicas, presença de extensões de bainha, presença de estruturas secretoras.

Esses caracteres apresentados representam o princípio das buscas por caracteres anatômicos informativos para a família Bromeliaceae. A utilização dos caracteres anatômicos apurados nesse trabalho ainda requer uma maior avaliação para utilizá-los com fins taxonômicos, especialmente em nível genérico.

Os padrões de deiscência observados seguem a tendência evolutiva da família a partir de cápsulas septicidas (Tillandsioideae), que são consideradas mais primitivas, passando por cápsulas de deiscência mista (Pitcairnioideae) chegando à indeiscência alcançada em Bromelioideae.

A presença de estruturas secretoras no pericarpo maduro nos frutos de *Dyckia* e *Tillandsia* foi registrada. Estima-se a participação dessas estruturas nos diferentes processos fisiológicos das cápsulas, como a participação dessas estruturas no processo de deiscência mista (septicida e loculicida) em *Dyckia* e no auxílio na proteção do embrião durante o lento desenvolvimento de *Tillandsia*.

As paredes secundárias presentes no exocarpo e no endocarpo das cápsulas de Pitcairnioideae e Tillandsioideae apresentam composição fenólica de natureza desconhecida. Embora seja evidente a função mecânica desses estratos, avanços nos estudos em relação ao isolamento e caracterização desses compostos são necessários para avaliar de forma acurada as funções desses compostos na fisiologia desses frutos, como, por exemplo, no processo de

deiscência.

Com relação à estrutura do fruto de Bromelioideae, percebe-se que há variação em relação à origem dos tecidos que compõem a parede desse fruto. Em *Bromelia antiacantha*, o hipanto é de origem apendicular, enquanto há registros para a família Bromeliaceae de hipanto com origem receptacular.

Sugere-se a utilização do termo *baga* para a classificação dos frutos carnosos de Bromelioideae, uma vez que esse termo, em sua origem, não fazia distinção entre ovário ínfero e súpero.

O estudo de vascularização floral mostrou-se como uma interessante abordagem para análise aprofundada do ovário ínfero de *B. antiacantha* (e conseqüentemente para o fruto). Ressalta-se que esse tipo de estudo deve ser conduzido com extrema cautela, conforme demonstrado pelas evidências controversas apresentadas em relação à presença de inversões de feixes.

