

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**“Aspectos embriológicos e reprodutivos em *Miconia albicans* (Sw.) Triana e  
*Miconia chamissois* Naud. (Melastomataceae)”**

**Ana Paula de Souza Caetano**

**Monografia apresentada à Coordenação do  
Curso de Ciências Biológicas, da  
Universidade Federal de Uberlândia, para a  
obtenção do grau de Bacharel em Ciências  
Biológicas.**

**Uberlândia - MG**

**Julho de 2007**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**“Aspectos embriológicos e reprodutivos em *Miconia albicans* (Sw.) Triana e  
*Miconia chamissois* Naud. (Melastomataceae)”**

**Ana Paula de Souza Caetano**

**Orientador: Paulo Eugênio Alves Macedo Oliveira**

**Monografia apresentada à Coordenação do  
Curso de Ciências Biológicas, da  
Universidade Federal de Uberlândia, para a  
obtenção do grau de Bacharel em Ciências  
Biológicas.**

**Uberlândia - MG**

**Julho de 2007**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**“Aspectos embriológicos e reprodutivos em *Miconia albicans* (Sw.) Triana e  
*Miconia chamissois* Naud. (Melastomataceae)”**

**Ana Paula de Souza Caetano**

**Paulo Eugênio Alves Macedo Oliveira  
Instituto de Biologia**

**Homologado pela coordenação do Curso de  
Ciências Biológicas em \_\_/\_\_/\_\_**

**Coordenador: Vera Lúcia de Campos Brites**

**Uberlândia - MG**

**Julho de 2007**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

“Aspectos embriológicos e reprodutivos em *Miconia albicans* (Sw.) Triana e  
*Miconia chamissois* Naud. (Melastomataceae)”

Ana Paula de Souza Caetano

Aprovado pela Banca Examinadora em: 24/07/07. Nota: 100



Professor Dr. Paulo Eugênio Aves Macedo Oliveira



Professora Dra. Renata Carmo-Oliveira

Professora Dra. Daniela Guimarães Simão

Uberlândia, 24 de Julho de 2007

## AGRADECIMENTOS

À Deus, sempre presente em minha vida.

Aos meus familiares, que continuamente me apóiam. Em especial, aos meus pais e irmã, pelo companheirismo e amor nos melhores e piores momentos.

Ao professor Paulo Eugênio pela orientação, boa vontade, paciência e motivação em períodos difíceis.

Aos demais docentes do curso de graduação da Universidade Federal de Uberlândia, em especial à Professora Renata, Neuza e Marli que despertaram em mim a paixão pela botânica.

A todos os amigos e colegas da graduação, em especial à Alice, Carol, Micaela e Michelle pela amizade e companheirismo nos melhores e piores momentos.

A todos os amigos que fiz no Laboratório de Morfologia Vegetal e Imagens: em especial ao Clesnan, Daniela, Diana, Felipe e Luciana, pelas dicas, discussões, idéias e pela ajuda ao longo do trabalho.

À Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em especial ao Departamento de Biologia (INBIO).

Ao CNPq, pela bolsa de estudos.

À Marcinha pelo apóio técnico e pela prontidão em ajudar sempre preciso.

Aos funcionários do Instituto de Biologia, em especial ao Antônio.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

O sistema reprodutivo da espécie *Miconia chamissois* e aspectos embriológicos de *Miconia albicans* (espécie apomítica) e *M. chamissois* (espécie sexuada) foram estudados. Em *M. chamissois* os estudos reprodutivos envolveram polinizações controladas, cálculo do índice de auto-incompatibilidade (ISI), viabilidade polínica, análise do crescimento de tubos polínicos e observações sobre o processo de polinização. Apesar de a frutificação ocorrer preferencialmente em flores com polinização cruzada, a espécie parece ser autocompatível. Para as análises embriológicas, o material botânico foi fixado em FAA modificado e em glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2 e incluído em historesina. As secções obtidas em micrótomo foram coradas em Azul de Toluidina. Em ambas as espécies a formação da parede da antera é do tipo Dicotiledôneo. Epiderme, endotécio, camada média e tapete são todos unisseriados. Em *M. chamissois*, citocineses simultâneas das células-mãe de micrósporos resultam em tétrades tetraédricas. Por outro lado, em *M. albicans* a meiose irregular das células-mãe de micrósporos leva a formação de tétrades anômalas que logo se degeneram, originando anteras maduras sem grãos de pólen viáveis. Nas duas espécies, os óvulos são anátropos, crassinucelados e com dois tegumentos, que formam a micrópila. A megasporogênese em *M. chamissois* leva a formação de uma tétrade, com o megásporo calazal originando um saco embrionário do tipo *Polygonum*. Em *M. albicans*, a apomixia é do tipo diplospórica, onde uma meiose anormal parece ser seguida por replicação cromossômica e formação de um saco embrionário semelhante ao de *M. chamissois*, porém não reduzido, na qual a oosfera origina o embrião e o núcleo secundário o endosperma, ambos de maneira autônoma. Como as anteras são inférteis, presume-se que não há fecundação para a espécie e, portanto, o endosperma e o embrião são autônomos e têm origem unicamente materna.

**Palavras-chave:** apomixia, embriologia, Melastomataceae.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	04
Áreas de estudo .....	04
Espécies estudadas .....	04
Biologia reprodutiva .....	05
Estudos embriológicos .....	06
<b>3. RESULTADOS</b> .....	07
<i>Miconia chamissois</i> .....	07
Sistema reprodutivo .....	07
Desenvolvimento da antera, microsporogênese e microgametogênese .....	08
Desenvolvimento do megasporângio, megasporogênese e megagametogênese .....	10
<i>Miconia albicans</i> .....	11
Desenvolvimento do microsporângio, microsporogênese e microgametogênese .....	11
Desenvolvimento do megasporângio, megasporogênese e megagametogênese .....	12
<b>4. DISCUSSÃO</b> .....	14
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	22

## 1. INTRODUÇÃO

A família Melastomataceae ocorre em regiões tropicais e subtropicais, com cerca de 4500 espécies que estão distribuídas em aproximadamente 150 a 166 gêneros (Renner 1993, Clausing & Renner 2001). No Brasil, ocorrem cerca de 68 gêneros com aproximadamente 1500 espécies, distribuídas em diversas formações vegetais, como: florestas, cerrados e campos rupestres. No Triângulo Mineiro, a família é indicada como um dos principais componentes da flora (Goodland & Ferri 1979, Romero & Martins 2002).

Algumas espécies da família, como a medinila (*Medinilla magifica*), a quaresmeira (*Tibouchina granulosa*) e a orelha de onça (*Tibouchina clavata*), destacam-se por seu potencial ornamental (Souza & Lorenzi 2005). Espécies do gênero *Miconia*, produzem frutos que são utilizados por diversas aves frugívoras (Snow 1981). Além disso, a atividade analgésica de algumas espécies deste gênero foi verificada, apresentando resultados significativos (Cunha *et al.* 2003).

As espécies da família Melastomataceae são comumente plantas herbáceas, arbustivas ou arbóreas, com folhas de disposição oposta ou oposta cruzada, inteiras, sem estípulas, curvinérveas, com 3, 5 ou 7 nervuras ou peninérveas. As flores podem ser pequenas ou grandes e vistosas, cíclicas, hermafroditas, geralmente de simetria radial e diclamídeas. A flor em geral é pentâmera, com sépalas e pétalas livres. O androceu freqüentemente é formado por 10 estames, e o ovário é semi-ífero, comumente pentacarpelar e pentalocular. O fruto é do tipo baciforme ou capsular loculicida. As sementes são pequenas e freqüentemente com testa ornamentada (Joly 1991).

O gênero *Miconia* apresenta o maior número de espécies da família, cerca de um quarto, ocorrendo desde o sul do México até o norte da Argentina e Uruguai. Este gênero é atualmente reconhecido por suas folhas destituídas de formicários, inflorescências geralmente terminais e não envoltas por brácteas foliosas, hipanto sem constrição no ápice, cálice com lacínias externas reduzidas, pétalas com ápice arredondado ou emarginado e frutos bacáceos (Goldenberg 2004).

Na família Melastomataceae o sistema reprodutivo predominante é o xenógamo, devido à separação espacial nas flores entre o estigma e as anteras e a necessidade de manipulação

destas anteras poricidas pelos vetores para liberação do pólen (Goldenberg 2000). Quanto à biologia reprodutiva, 113 espécies pertencentes à família foram investigadas até o momento, sendo que 25 são indicadas como auto-incompatíveis e 44 como autocompatíveis. Um número bastante expressivo, 39 a 44% do total de espécies estudadas, são consideradas apomíticas (Goldenberg & Shepherd 1998, Goldenberg & Werpachowski 2004).

O termo apomixia é atualmente descrito como um processo de formação assexual de embriões a partir de tecidos dos óvulos (Nogler 1984, Koltunow 1995, Bicknell & Koltunow 2004). Os mecanismos apomíticos conhecidos apresentam em comum três características: o desenvolvimento de uma célula capaz de formar um embrião sem ocorrência de meiose – apomeiose; o desenvolvimento do embrião espontaneamente - partenogênese; e a produção de endosperma - de forma autônoma ou derivada da fertilização (Koltunow 1993, Koltunow 1995, Carman 1997, Bicknell & Koltunow 2004). Além disso, os embriões apomíticos são geneticamente idênticos à planta mãe, exceto na ocorrência de mutações esporádicas (Koltunow 1993).

De acordo com a origem do embrião, a apomixia pode ser classificada em dois tipos básicos: esporofítica e gametofítica. Na apomixia esporofítica, ou embrionia adventícia, o embrião origina-se espontaneamente a partir de células do óvulo, geralmente após a maturação do mesmo (Nogler 1984, Koltunow 1993, Bicknell & Koltunow 2004). Na apomixia gametofítica, o desenvolvimento do embrião ocorre a partir de um saco embrionário não reduzido, e o endosperma pode se desenvolver de forma espontânea ou induzida. Baseando-se no tipo de célula que origina o saco embrionário, o mecanismo gametofítico é subdividido em diplosporia e aposporia. Se a célula mãe de megásporo origina o saco embrionário não reduzido, tem-se a diplosporia. Porém, se ocorrer a diferenciação de uma célula somática do óvulo no saco embrionário não reduzido, ocorre então a aposporia (Nogler 1984, Koltunow 1993, Bicknell & Koltunow 2004).

As plantas apomíticas apresentam algumas vantagens quando comparadas às plantas sexuais. Nas apomíticas, genótipos originados por processos de mutação ou hibridação podem ser rapidamente fixados e distribuídos em amplas áreas (Stebbins 1985). A apomixia pode atribuir às espécies uma maior capacidade de colonização, já que independem de polinizadores. Espécies sexuais devem ser muito mais dependentes de habitats estáveis, com populações ativas de abelhas especializadas na polinização, em particular de espécies com anteras poricidas como ocorre em Melastomataceae (Goldenberg 2000).

Os processos apomíticos são amplamente distribuídos entre as angiospermas, sendo descritos em aproximadamente 400 táxons e distribuídos em 40 famílias, sendo mais

freqüentes em alguns grupos de plantas, como Poaceae, Rosaceae e Asteraceae (Carman 1997, Goldenberg 2000). Na família Melastomataceae a ocorrência de apomixia se concentra na tribo *Miconieae* (Goldenberg & Shepherd 1998, Goldenberg 2000). Nesta tribo, uma proporção de 63% das espécies estudadas são apomíticas (Goldenberg & Shepherd 1998). Das espécies sexuadas deste grupo, várias são marcadamente auto-incompatíveis, com reação de incompatibilidade ocorrendo no nível do estilete (Goldenberg & Shepherd 1998). Entretanto, estas informações não devem ser generalizadas já que foram estudadas apenas cerca de 5% das espécies existentes em Melastomataceae (Renner 1989, Souza-Silva 1997, Sousa-Silva 2000, Santos 2003, Fracasso & Sazima 2004, Goldenberg & Werpachowski 2004).

Estudos revelam que a família Melastomataceae pode apresentar espécies com diferentes tipos de apomixia. Borges (1991) relata em *Leandra australis* a formação de embriões a partir de sacos embrionários não reduzidos, sugerindo apomixia gametofítica diplospórica, além do desenvolvimento de embriões adventícios. Em *Osbeckia hispidissima* é relatada a ocorrência de duas tétrades (Subramanyam 1941) e *Miconia rubiginosa* (Simão & Oliveira 2005) é relatada a ocorrência de poliembrionia a partir de células do nucelo, sugerindo apomixia esporofítica.

O presente trabalho teve como objetivo principal comparar as características reprodutivas e embriológicas de duas espécies com sistemas de reprodução contrastantes: *Miconia albicans* (Sw.) Triana, uma espécie tipicamente apomítica, de ampla distribuição e comum em diferentes fisionomias de cerrado (Goldenberg & Shepherd 1998), e *Miconia chamissois* Naud, espécie sexuada e auto-incompatível, comum em ambientes de bordas de matas da região (Souza-Silva 1997). Buscou-se ainda discutir o processo de apomixia no gênero *Miconia* e na família Melastomataceae de uma maneira geral.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Áreas de estudo

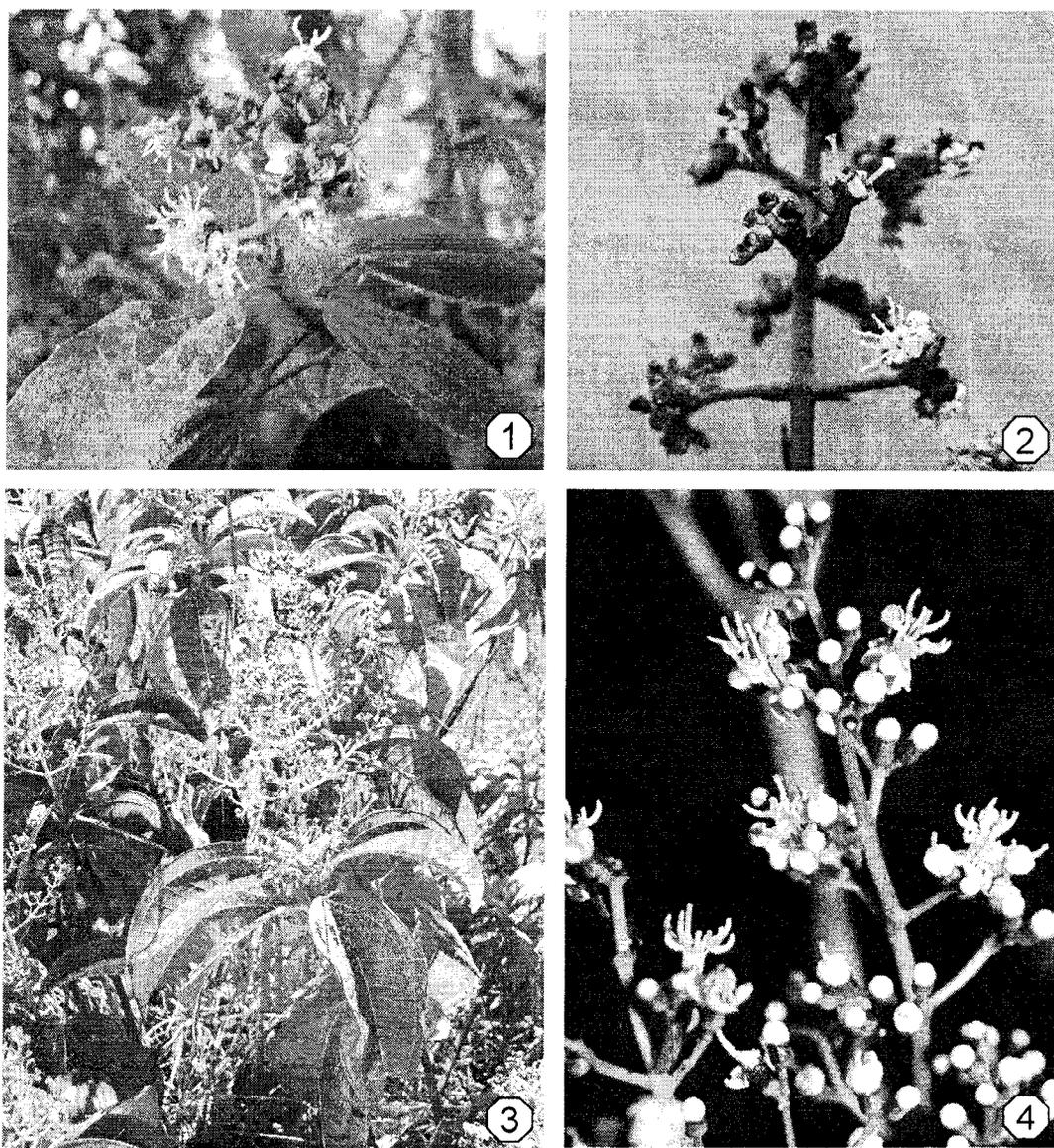
O estudo foi realizado em remanescentes de vegetação nativa no município de Uberlândia-MG. O clima da região é caracterizado por duas estações bem definidas: um verão quente e chuvoso e um inverno frio e seco. A média da precipitação anual oscila em torno de 1550 mm, e a temperatura média é de cerca de 22°C (Nimer & Brandão 1989).

As coletas foram realizadas para *Miconia albicans* em cerrados da Reserva Ecológica do Clube Caça e Pesca Itororó (18°58'35"S : 48°17'24"W) e na Fazenda Experimental do Glória – UFU (18° 56'44"S : 48°13'05"W). As coletas e análise do sistema reprodutivo de *Miconia chamissois* foram realizadas em bordas de matas de galeria do Parque do Sabiá (18°54'38" : 48°14'04"W). As exsiccatas foram depositadas de maneira convencional no Herbário Uberlandensis (HUFU - Universidade Federal de Uberlândia).

### Espécies estudadas

*Miconia albicans* (figuras 1 e 2) é um arbusto com 3,0 a 7,0 metros de altura. Floresce de setembro a novembro. Apresenta ramos, pecíolos, face abaxial das folhas, inflorescências e hipanto densamente revestidos por tricomas. As inflorescências são do tipo panículas escorpióides. As flores são pentâmeras com hipanto, cálice persistente e pétalas brancas. O androceu possui 10 estames levemente dimorfos, anteras brancas, uniporosas e conectivo com apêndice basal amplo, contínuo da região ventral à dorsal ou com um calcar dorsal alargado e duas aurículas ventrais. O ovário é trilocular, glabro, com estilete alargado no ápice e estigma truncado. O fruto é do tipo baga, apresentando coloração rosada quando imaturo e verde-jade quando maduro (Goldenberg 2004).

*Miconia chamissois* (figuras 3 e 4) é um arbusto com 2,0 a 5,0 metros de altura, glabro e com inflorescências do tipo panículas, terminais. A floração inicia-se em março e estende-se até o mês de junho. As flores são pentâmeras, com hipanto, cálice persistente e pétalas brancas. O androceu possui 10 estames em dois verticilos ligeiramente diferentes, anteras brancas, uniporosas e conectivo prolongado abaixo das tecas. O ovário é tri ou pentalocular, glabro, com estilete levemente espessado no ápice e estigma truncado a arredondado. O fruto



**Figuras 1 à 4: Hábito e inflorescências das espécies estudadas: *Miconia albicans* e *Miconia chamissois*.**

Figura 1. Detalhe da inflorescência de *M. albicans*.

Figura 2. Ramo com flores e alguns frutos em início de desenvolvimento de *M. albicans*.

Figura 3. Arbusto de *M. chamissois*.

Figura 4. Ramo com botões e flores – *M. chamissois*.

é do tipo baga, de coloração verde quando imaturo e enegrecido quando maduro (Goldenberg 2004).

### **Sistema Reprodutivo**

Análises sobre o sistema reprodutivo de *Miconia chamissois* foram realizadas a fim de se complementar estudos feitos anteriormente (Souza-Silva 1997). Os estudos sobre o sistema de reprodução de *Miconia albicans* revelam que esta é uma espécie comprovadamente apomítica e praticamente estéril quanto à produção de pólen (Renner 1989, Goldenberg & Shepherd 1998). Desta forma, investigações sobre o sistema de reprodução desta espécie não foram feitas.

Os estudos realizados em *M. chamissois* envolveram polinizações controladas, cálculo do índice de auto-incompatibilidade (ISI), viabilidade polínica e observações sobre crescimento de tubos polínicos, além de observações gerais sobre o processo de polinização e comportamento dos polinizadores.

Para as polinizações controladas foram realizados cinco tratamentos em cinco indivíduos diferentes, com todos os tratamentos realizados em cada indivíduo. Para cada tratamento utilizou-se 15 flores, totalizando 75 flores por tratamento. Os tratamentos realizados foram: controle (flores apenas marcadas, não ensacadas); apomixia (botões com estiletos e anteras cortados); polinização cruzada (flores polinizadas com pólen de outros indivíduos, inflorescências ensacadas), autopolinização (flores polinizadas com pólen proveniente do próprio indivíduo, inflorescências ensacadas), e autopolinização espontânea (inflorescências apenas ensacadas). A frutificação foi acompanhada até um mês após as polinizações, o que possibilitou o cálculo da porcentagem de frutos formados em cada tratamento (Goldenberg & Varassin 2001).

O índice de auto-incompatibilidade (ISI, *sensu* Bullock 1985) foi calculado dividindo-se o número total de frutos formados em flores tratadas com autopolinização manual pelo número de frutos formados em flores tratadas com polinização cruzada.

A viabilidade polínica foi estimada utilizando-se flores coletadas de cinco indivíduos diferentes, fixadas em álcool 70%. Os grãos de pólen foram retirados de cinco anteras de cada flor, corados com carmim acético e observados em microscópio ótico para contagem. Foram contados campos ao acaso até o total de 300 grãos em cada lâmina (Goldenberg & Varassin 2001).

A análise do desenvolvimento dos tubos polínicos foi feita a partir de material fixado em álcool 70%, utilizando-se a técnica de fluorescência (Martin 1959). Foram utilizados pistilos

dos tratamentos de autopolinização e de polinização cruzada com intervalos de 24, 48 e 72 horas após a polinização.

### **Estudos embriológicos**

Para o estudo do desenvolvimento dos esporângios, esporos e gametófitos masculinos e femininos e embriões, foram coletados nas duas espécies, botões florais em várias fases de desenvolvimento até antese, flores abertas e frutos jovens. As diferentes fases do desenvolvimento foram definidas de acordo com o tamanho do botão floral ou do fruto.

As amostras foram fixadas em FAA modificado (Lersten & Curtis 1988) por 24 horas e, a seguir, transferidas para álcool 70%. Utilizou-se também solução de glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2 (McDowell & Trump 1976) para fixação de algumas amostras. Após a fixação, as amostras foram submetidas à bomba de vácuo por, pelo menos, duas horas. O material selecionado foi submetido ao processo de desidratação em série etílica (Johansen 1940) e incluído em glicol-metacrilato (Kraus & Arduin 1997, Castro 1998). O material foi seccionado em micrótomo rotatório Leica RM2135, com espessura de 5,0 a 7,0 $\mu$ m. Os cortes foram corados com Azul de Toluidina 0,05% (Feder & O'Brien 1968), e examinados em microscópio de luz. As fotomicrografias foram realizadas no microscópio Zeiss Axioplan.

Algumas lâminas do laminário permanente foram tratadas com azul de anilina e observadas em microscopia de fluorescência (adaptado de Martin 1959) para verificar a deposição de calose (Rodkiewicz 1970, Kapil & Tiwari 1978, Sniezko & Harte 1984).

### 3. RESULTADOS

#### *Miconia chamissois*

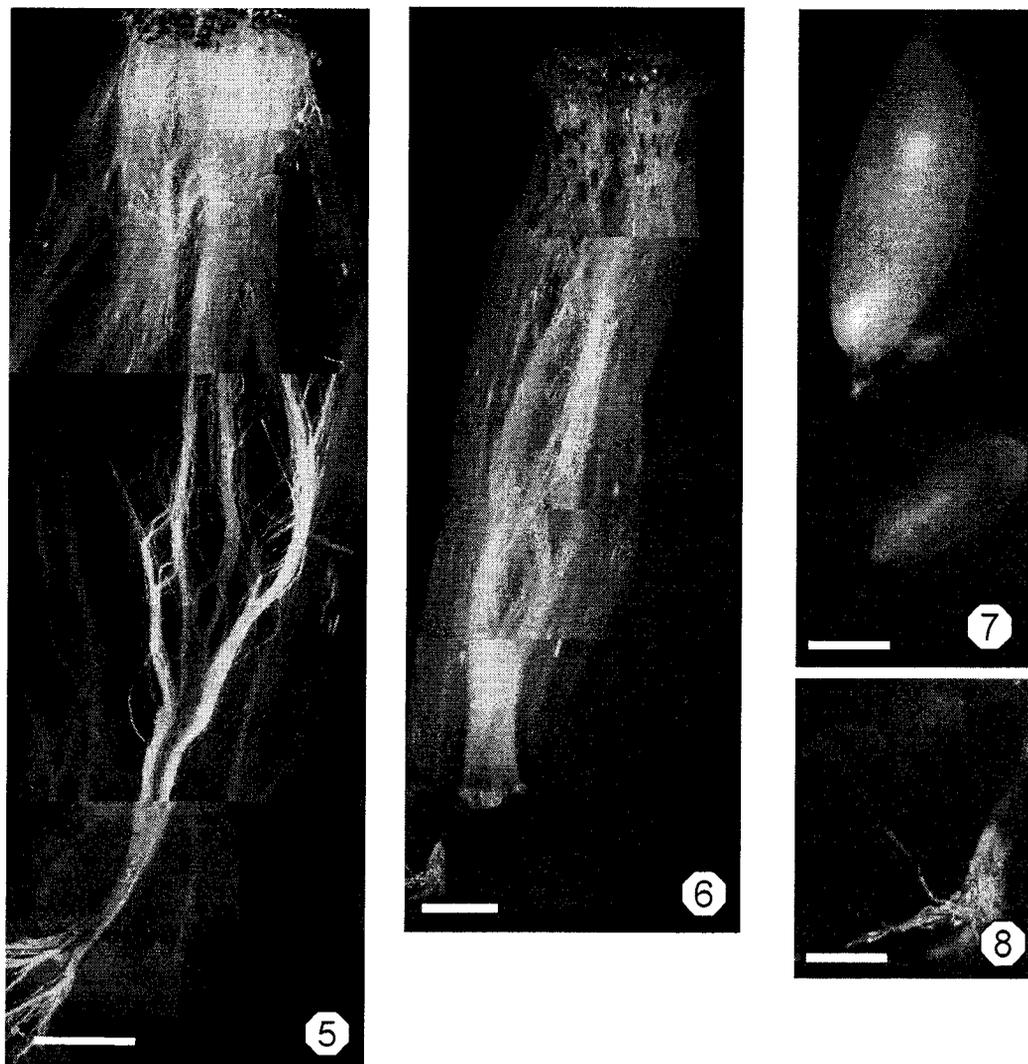
##### **Sistema reprodutivo**

Durante a abertura da flor, que ocorre logo no início da manhã, as flores exalam um odor adocicado bem característico e são visitadas e polinizadas por pequenas abelhas que vibram as flores para coleta de pólen. A flor aberta apresenta geralmente cálice arroxeadado, pétalas e verticilos reprodutivos brancos. As anteras possuem duas tecas que se abrem por meio de poros. Os 10 estames apresentam-se em duas séries alternadas, envolvendo o estilete, sendo que o estigma encontra-se a frente dos poros das anteras.

Não houve diferença marcante na viabilidade polínica entre os dois verticilos de estames, sendo as estimativas de viabilidade altas em ambos os casos (95,20% à 98,73%). A receptividade estigmática foi associada à umidade decorrente da formação de um exudado presente na superfície do estigma. A flor dura cerca de dois dias. Não há presença de nectários, sendo que a espécie oferece apenas pólen como recurso floral a seus visitantes.

A formação de frutos na espécie ocorre preferencialmente através de polinizações cruzadas (90,67%). Entretanto, verificou-se também frutificação de flores oriundas de autopolinização manual (26,67%) e de autopolinização espontânea (6,67%). A taxa de formação de frutos a partir de polinizações cruzadas (90,67%) foi próxima à taxa de frutos formados naturalmente (controle - 84%). Houve uma porcentagem muito baixa de frutos formados por apomixia (Tabela 1). O índice de auto-incompatibilidade (ISI) foi de 0,29.

Os tubos polínicos atingem as micrópilas dos óvulos cerca de 48 horas após a polinização, tanto em pistilos oriundos de tratamentos de autopolinização (figura 5) quanto de polinização cruzada (figura 6). Não foram encontrados sítios de auto-incompatibilidade. Observou-se a penetração do tubo polínico tanto em óvulos de flores autopolinizadas quanto em óvulos de flores tratadas com polinização cruzada (figuras 7 e 8).



**Figuras 5 à 8: Crescimento do tubo polínico em flores de *Miconia chamissois* sob tratamento de autopolinização e polinização cruzada.**

Figura 5: Crescimento do tubo polínico ao longo do estilete em flores de *M. chamissois* autopolinizadas. Após 48 horas, o tubo polínico já havia chegado à região do ovário. Escala: 50  $\mu$ m

Figura 6: Crescimento do tubo polínico ao longo do estilete em flores de *M. chamissois* submetidas ao tratamento de polinização cruzada. Cerca de 48 horas após o tratamento, o tubo polínico já encontra-se na região do ovário. Escala: 50  $\mu$ m.

Figura 7: Óvulos 72 horas após o tratamento de autopolinização. Escala: 25  $\mu$ m.

Figura 8. Óvulo cerca de 48 horas após o tratamento de polinização cruzada. Neste óvulo observa-se a penetração do tubo polínico. Escala: 25  $\mu$ m

**Tabela 1.** Resultado dos testes sobre os sistemas de reprodução de *Miconia chamissois*: número de flores testadas, número de frutos obtidos e porcentagens de frutificação.

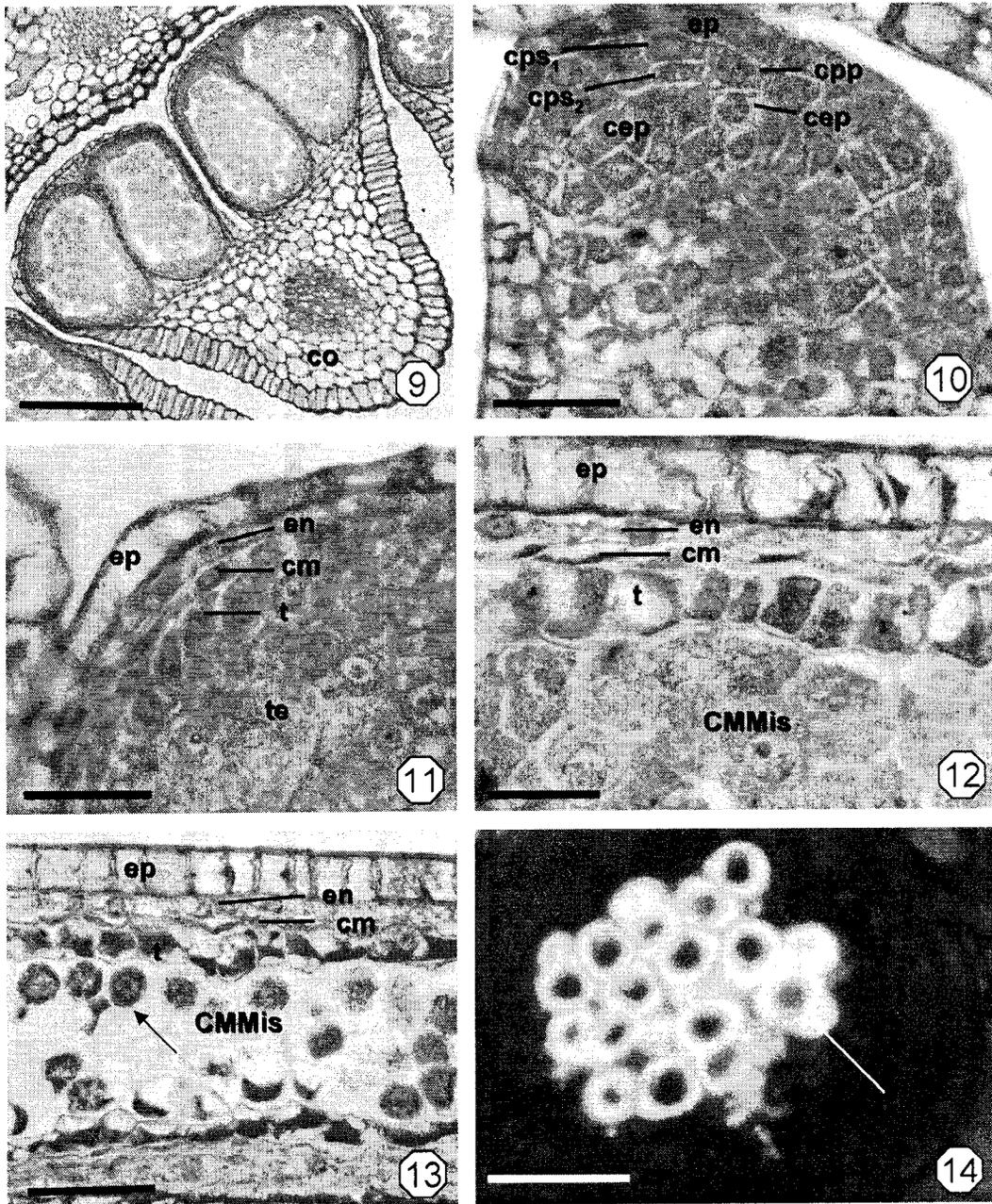
Tratamento	Número de flores testadas	Número de frutos obtidos	Porcentagem de frutificação
Apomixia	75	3	4%
Controle	75	63	84%
Polinização Cruzada	75	68	90,67%
Autopolinização manual	75	20	26,67%
Autopolinização espontânea	75	5	6,67%

### **Desenvolvimento da antera, microsporogênese e microgametogênese**

Os dez estames apresentam anteras bitecas e tetrasporangidas. O feixe vascular, colateral na região do conectivo, é envolto por células parenquimáticas relativamente grandes e vacuoladas (figura 9). Os dois microsporângios de cada teca estão separados por aproximadamente quatro camadas de células parenquimáticas, que formam o septo interesporangial.

Na antera jovem, a protoderme envolve na face ventral, células meristemáticas e, na face dorsal, as células do conectivo. Em um estágio posterior, células meristemáticas, por meio de divisões periclinais, originam a camada parietal primária externamente, e a camada esporogênica primária internamente. Células da camada parietal primária, por sua vez, dividem-se periclinalmente formando a camada parietal secundária externa, voltada para a epiderme, e a camada parietal secundária interna, voltada para o tecido esporogênico primário (figura 10). A camada parietal secundária externa, por meio de divisões periclinais origina o endotécio e a camada média, enquanto a camada parietal secundária interna diferencia-se diretamente no tapete (figuras 10 e 11). Portanto, de acordo com sua origem, a formação da parede da antera é do tipo dicotiledôneo (*sensu* Davis 1966).

As células esporogênicas primárias sofrem divisões mitóticas e se diferenciam em células esporogênicas, que são mais volumosas e apresentam citoplasma denso e núcleo evidente



**Figuras 9 à 24 – Desenvolvimento do microsporângio, microsporogênese e microgametogênese em *Miconia chamissois*.**

Figura 9. Secção transversal da antera em um botão floral já com os micrósporos formados. co: conectivo. Escala: 100µm.

Figura 10. Detalhe da teca em início de desenvolvimento, em secção transversal. ep: epiderme; cpp: camada parietal primária; cep: células esporogênicas primárias; cps<sub>1</sub>: camada parietal secundária externa; cps<sub>2</sub>: camada parietal secundária interna. Escala: 50µm.

Figura 11. Detalhe de um microsporângio da antera com tecido esporogênico (te) na região central em processo de diferenciação. ep: epiderme; en: endotécio; cm: camada média; t: tapete. Escala: 25µm.

Figura 12. Secção longitudinal da antera com detalhe da epiderme (ep), endotécio (en), camada média (cm), tapete (t) e células-mãe de micrósporos (CMMis) no início da meiose. Escala: 10µm.

Figura 13. Secção longitudinal da antera com células-mãe de micrósporos no início do processo meiótico, envoltas pela parede de calose (seta). ep: epiderme; en: endotécio; cm: camada média; t: tapete; CMMis: células-mãe de micrósporos. Escala: 10µm.

Figura 14. Reação com Azul de Anilina sob as células-mãe de micrósporos em microscópio de fluorescência, evidenciando a deposição de calose (seta). Escala: 25µm.

(figura 11). O tecido esporogênico sofre proliferação até suas células entrarem em prófase meiótica, transformando-se então em células-mãe de micrósporos, que são maiores que as células esporogênicas. Neste estágio, a parede da antera apresenta os seguintes estratos parietais: epiderme, endotécio, camada média e tapete, todos com apenas uma camada de células (figuras 12 e 13).

As células-mãe de micrósporos, durante o início da meiose, sofrem deposição de calose entre a parede celular e a membrana plasmática (figura 14). Na formação dos micrósporos, primeiramente observa-se dois núcleos resultantes da fase I da meiose (figura 15). Ao final da meiose II, as tétrades de micrósporos dispõem-se de forma tetraédrica (figura 16), estando envolvidas pela calose (figura 17). A citocinese é simultânea, não ocorrendo formação de parede entre os micrósporos durante as divisões.

Com a dissolução da parede de calose os micrósporos uninucleados são liberados (figuras 18 e 19). Após a formação de um vacúolo, o núcleo do micrósporo passa a ocupar uma posição marginal (figura 20). Após uma mitose, têm-se um gametófito masculino formado por duas células desiguais, a célula geradora e a célula vegetativa. A célula geradora ocupa posição marginal no gametófito e é menor que a célula vegetativa (figura 21). Os grãos de pólen são tricolporados e liberados em nômades no estágio bicelular, através de anteras com deiscência poricida.

As células epidérmicas estão presentes na antera madura e durante todo o período de antese floral. A epiderme que apresenta inicialmente pequenas células achatadas de paredes finas, com o desenvolvimento da antera, passa a apresentar células altas e mais vacuoladas, com núcleo periférico (figuras 10-13). O endotécio, inicialmente é constituído por células semelhantes às da epiderme e da camada média. Com o desenvolvimento da antera, as células do endotécio tornam-se mais proeminentes. Durante a maturação das anteras a parede celular do endotécio não sofre espessamento e esta camada se mantém presente na antera madura (figuras 11-13). A camada média é comprimida durante a formação das células mãe de megásporos, principalmente devido ao aumento das células do tapete (figuras 12 e 13), e na antera madura estas células já não são mais observadas. O tapete é do tipo secretor ou glandular, e no início do seu desenvolvimento apresenta células isodiamétricas com citoplasma denso e único núcleo situado na posição central (figuras 11 e 12). Durante o desenvolvimento da antera estas células tornam-se mais volumosas e com conteúdo mais denso (figuras 18 e 19). Nas fases posteriores as células do tapete vão sendo absorvidas e se degeneram. Na antera madura esta camada já não é mais observada, ocorrendo apenas alguns resquícios que não foram totalmente consumidos.

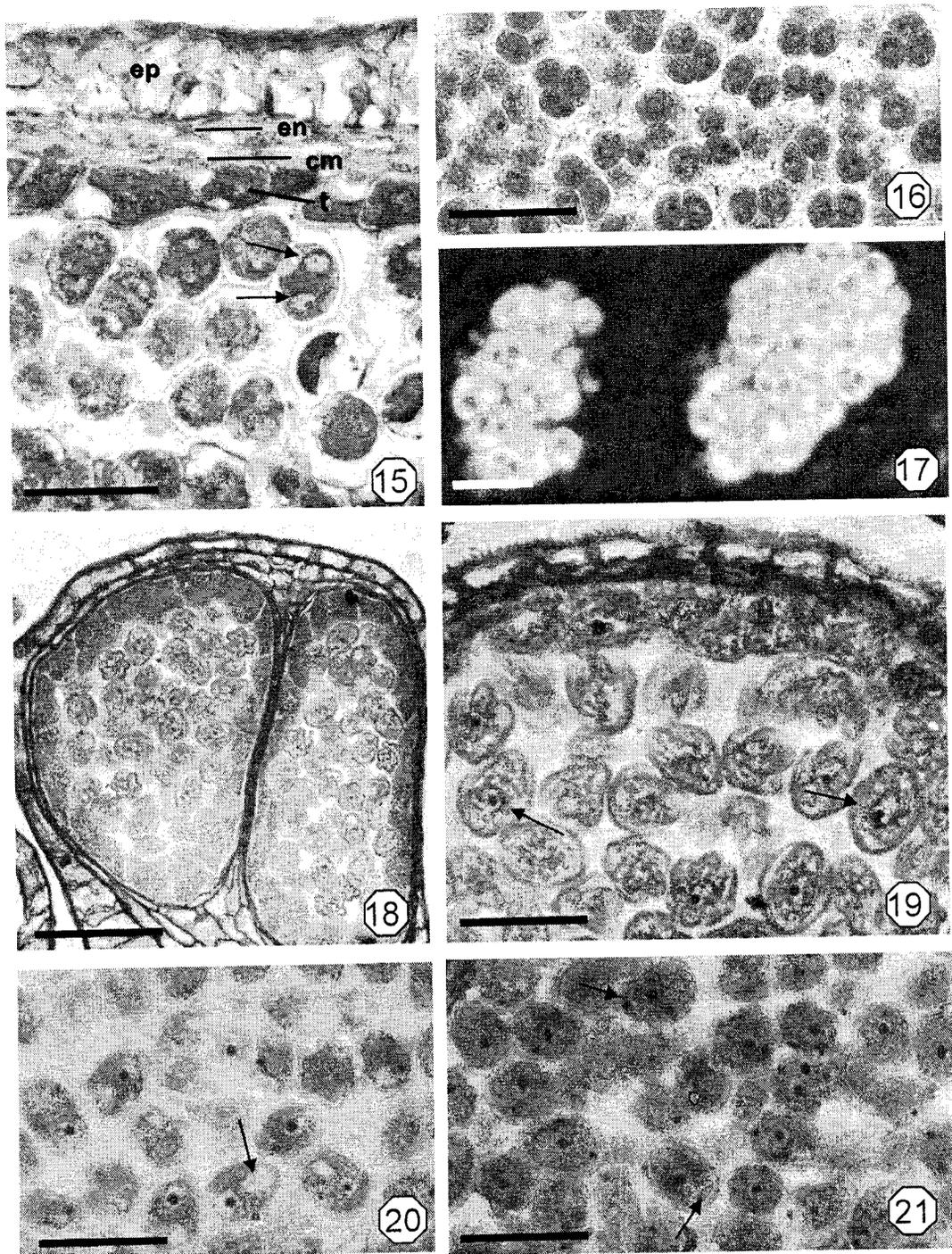


Figura 15. Secção longitudinal da antera. Detalhe das díades de núcleos (setas) resultantes da meiose I nas células-mãe de micrósporos. ep: epiderme; en: endotécio; cm: camada média; t: tapete. Escala: 10µm.

Figura 16. Tétrades tetraédricas de micrósporos, em secção longitudinal. Escala: 10µm.

Figura 17. Reação com Azul de Anilina sob as tétrades de micrósporos em microscópio de fluorescência, evidenciando a deposição de calose. Escala: 25µm.

Figura 18. Secção transversal da teca mostrando os dois microsporângios. Observa-se nesta fase a dissolução da calose, deixando as tétrades livres. Escala: 20µm.

Figura 19. Detalhe de um dos microsporângios, com micrósporos livres com único núcleo central (setas). Escala: 10 µm.

Figura 20. Micrósporos com vacúolo volumoso (seta) e núcleo marginal. Escala: 10µm.

Figura 21. Grãos de pólen com a célula vegetativa, ocupando a região central e a pequena célula geradora na região marginal (seta). Escala: 10µm.

Na fase de antese, os microsporângios formam uma única cavidade devido à degeneração do septo interesporangial (figuras 22 e 23). Neste momento, a parede da antera é formada apenas pela epiderme e endotécio, não estando mais presentes a camada média e o tapete (figuras 22 e 23).

### **Desenvolvimento do megasporângio, megasporogênese e megagametogênese**

O ovário de *Miconia chamissois* é trilocular, com numerosos óvulos em cada um dos lóculos. A placentação é axial. O óvulo é anátropo, crassinucelado e bitegmentado, sendo o tegumento externo formado por três camadas e o tegumento interno formado por duas (figura 25). Ambos os tegumentos formam a micrópila, que apresenta um canal em “zig-zag”. O óvulo apresenta na região calazal, um tecido diferenciado, a hipóstase. Esta apresenta células parenquimáticas pequenas com denso citoplasma e vacúolo pouco volumoso.

O tegumento interno origina-se por divisões periclinais das células epidérmicas, sendo formado por duas camadas. Já para a formação do tegumento externo, que possui três camadas de células, além de células epidérmicas, também ocorre a participação de células subepidérmicas.

Inicialmente o óvulo apresenta a epiderme nucelar e uma ou mais células iniciais esporogênicas ou iniciais arquespóricas. Uma única célula inicial sofre divisão formando uma célula parietal primária e uma célula esporogênica (arquesporial). A célula parietal primária divide-se, formando de quatro a cinco camadas parietais entre a epiderme nucelar e a célula arquesporial, caracterizando o óvulo do tipo crassinucelado (figura ).

A célula esporogênica diferencia-se em célula-mãe de megásporo, que é alongada e apresenta citoplasma denso e núcleo proeminente (figura 25). Neste momento, devido à grande multiplicação de células na região do funículo, o óvulo já inicia sua curvatura anátropa. A célula-mãe de megásporo sofre meiose, originando uma díade (figura 26) e posteriormente uma tétrade linear de megásporos (figura 27). O megásporo funcional é o calazal, que se desenvolve, enquanto os outros se degeneram. Divisões mitóticas do megásporo funcional (figuras 28 e 29) levam à formação do saco embrionário do tipo *Polygonum*, que apresenta o aparato oosférico, composto por duas sinérgides e a oosfera; três antípodas e uma célula central com dois núcleos polares (figuras 30 e 31).

As antípodas, que se localizam no pólo calazal do saco embrionário, são efêmeras. Os dois núcleos polares da célula central se fundem antes da antese. No saco embrionário maduro, as sinérgides apresentam um vacúolo voltado para a região calazal e o núcleo voltado para o pólo micropilar. Já na oosfera, o núcleo localiza-se voltado para a posição calazal e o vacúolo

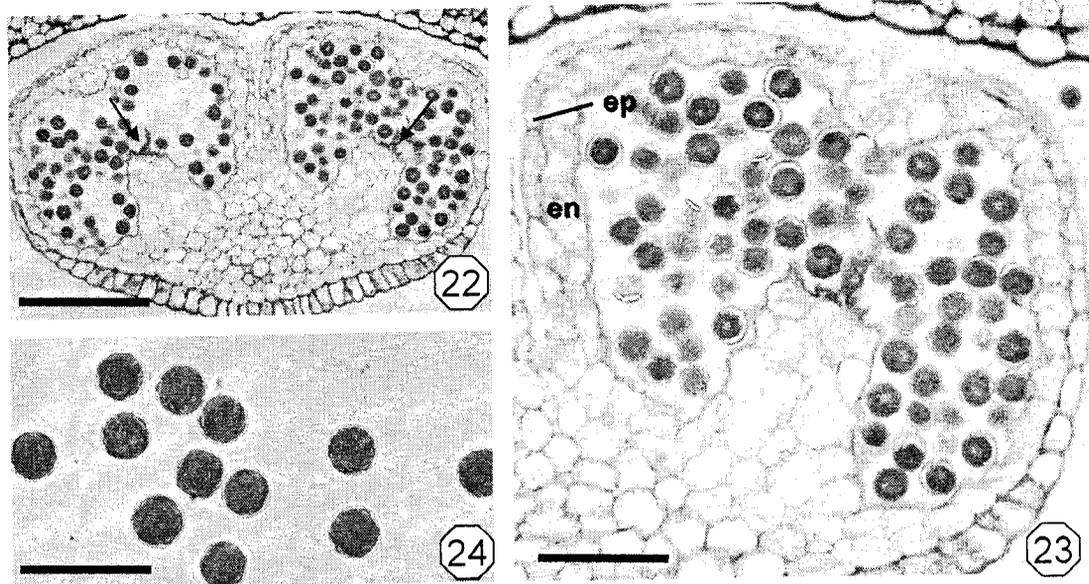


Figura 22. Secção transversal da antera madura com os grãos de pólen. Septo interesporangial degenerou-se (seta), formando uma única cavidade em cada teca. Escala: 100  $\mu$ m.

Figura 23. Detalhe de uma das tecas em um botão em fase de pré-antese. ep: epiderme, en: endotécio. Escala: 25  $\mu$ m.

Figura 24. Grãos de pólen viáveis corados com Carmim Acético. Escala: 25  $\mu$ m.

ocupa a região micropilar. Sinérgides e oosfera apresentaram o formato de pêra. Cerca de 48 horas após a fecundação foi possível observar a singamia, ou seja, a fusão da oosfera com o gametófito masculino e do núcleo secundário com o outro gametófito (figura 32)

### *Miconia albicans*

#### **Desenvolvimento do microsporângio, microsporogênese e microgametogênese**

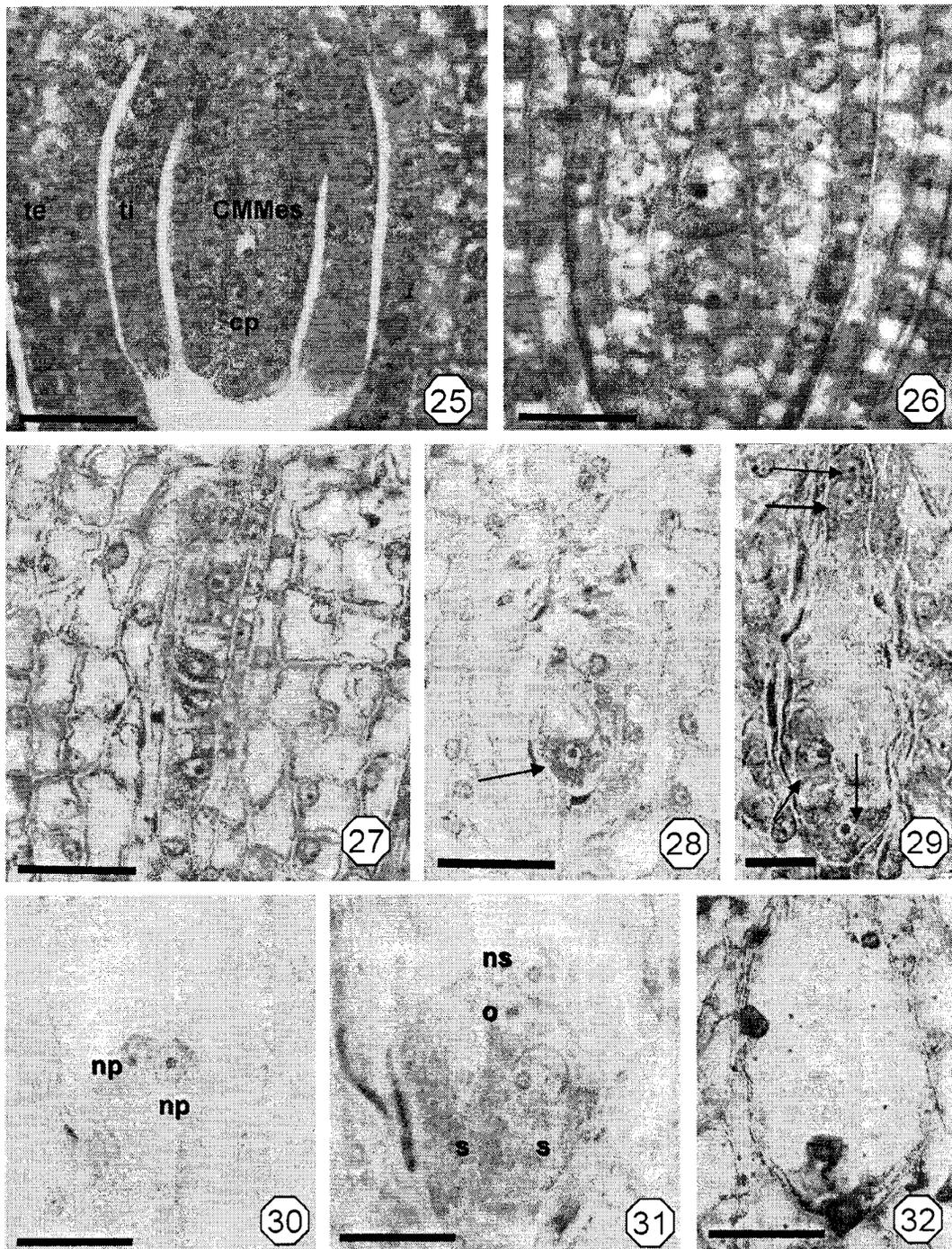
A espécie *Miconia albicans* também apresenta 10 estames com anteras bitecas e tetrasporangidas. A vascularização ocorre através de um feixe vascular presente na região do conectivo, circundado por células parenquimáticas, relativamente grandes e vacuoladas. Os dois microsporângios de cada teca estão separados por cerca de quatro camadas de células parenquimáticas, que formam um septo interesporangial (figuras 33 e 34).

A antera jovem apresenta uma protoderme que envolve, na face ventral, células do meristema fundamental e na face dorsal células meristemáticas que circundam o conectivo. As células do meristema fundamental sofrem divisões periclinais e originam a camada parietal primária, no lado epidérmico, e a camada esporogênica primária, voltada para o lado interno. A camada parietal primária passa por divisões periclinais, formando a camada parietal secundária externa, voltada para a epiderme, e a camada parietal secundária interna, voltada para o tecido esporogênico. A camada parietal secundária externa através de divisões periclinais origina o endotécio e a camada média, enquanto a camada parietal secundária interna diferencia-se diretamente no tapete externo. Assim, de acordo com sua origem, a formação dos estratos parietais é do tipo dicotiledôneo (*sensu* Davis 1966).

A epiderme, o endotécio, a camada média e o tapete, apresentam inicialmente características muito semelhantes às encontradas em *M. chamissois*, não possuindo nenhuma diferença a ser destacada.

As células esporogênicas primárias sofrem muitas divisões e diferenciam-se em células esporogênicas, que são mais volumosas que as primeiras. As células esporogênicas originam as células-mãe de micrósporos, que apresentam citoplasma denso e núcleo conspícuo. Nesta fase, a parede da antera é composta pela epiderme, endotécio, camada média e tapete, todos unisseriados (figura 35).

Nesta espécie a meiose não é regular e apesar de serem observadas algumas tétrades tetraédricas de micrósporos, estas são anômalas. Os poucos micrósporos formados são irregulares e não se desenvolvem em gametófitos masculinos, resultando em anteras maduras sem grãos de pólen, que possuem apenas restos de células oriundos do tapete ou dos próprios micrósporos que não se desenvolveram. O tapete, no momento da formação das tétrades de



**Figuras 25 à 32 - Megasporogênese e megagametogênese em *Miconia chamissois*.**

Figura 25. Secção longitudinal do óvulo com célula-mãe de megásporo, que encontra-se separada da epiderme nucelar por camadas de células parietais. Tegumento externo formado por 3 camadas e tegumento interno formado por 2. CMMes: célula-mãe de megásporo; cp: camadas parietais; te: tegumento externo; ti: tegumento interno. Escala: 50µm.

Figura 26. Detalhe da díade resultante da meiose I da célula-mãe de megásporo. Escala: 25µm.

Figura 27. Detalhe da tétrade de megásporo após meiose II. Escala: 25µm.

Figura 28. Saco embrionário binuclear. A seta indica um dos núcleos. Escala: 20µm.

Figura 29. Saco embrionário tetranuclear. As setas indicam os núcleos. Escala: 25µm.

Figura 30. Detalhe da célula central antes dos núcleos polares se fundirem. Escala: 20µm.

Figura 31. Detalhe da região micropilar do óvulo em antese. Observa-se a oosfera, as sinérgides e o núcleo secundário, resultante da fusão dos núcleos polares da célula central. o: oosfera; s: sinérgide; ns: núcleo secundário. Escala: 20µm.

Figura 32. Óvulo fecundado. Setas indicam o início da formação do endosperma e a oosfera fecundada. Escala 20µm.

micrósporos já se apresenta degenerado, ao contrário do que ocorre em *M. chamissois*, onde se observou a presença do tapete até a formação dos micrósporos. A parede da antera madura é formada pela epiderme e endotécio (figuras 36-40). Nesta fase, o septo interesporangial degenera-se, e os dois microsporângios de cada teca formam então uma única cavidade (figura 40).

### **Desenvolvimento do megasporângio, megasporogênese e megagametogênese.**

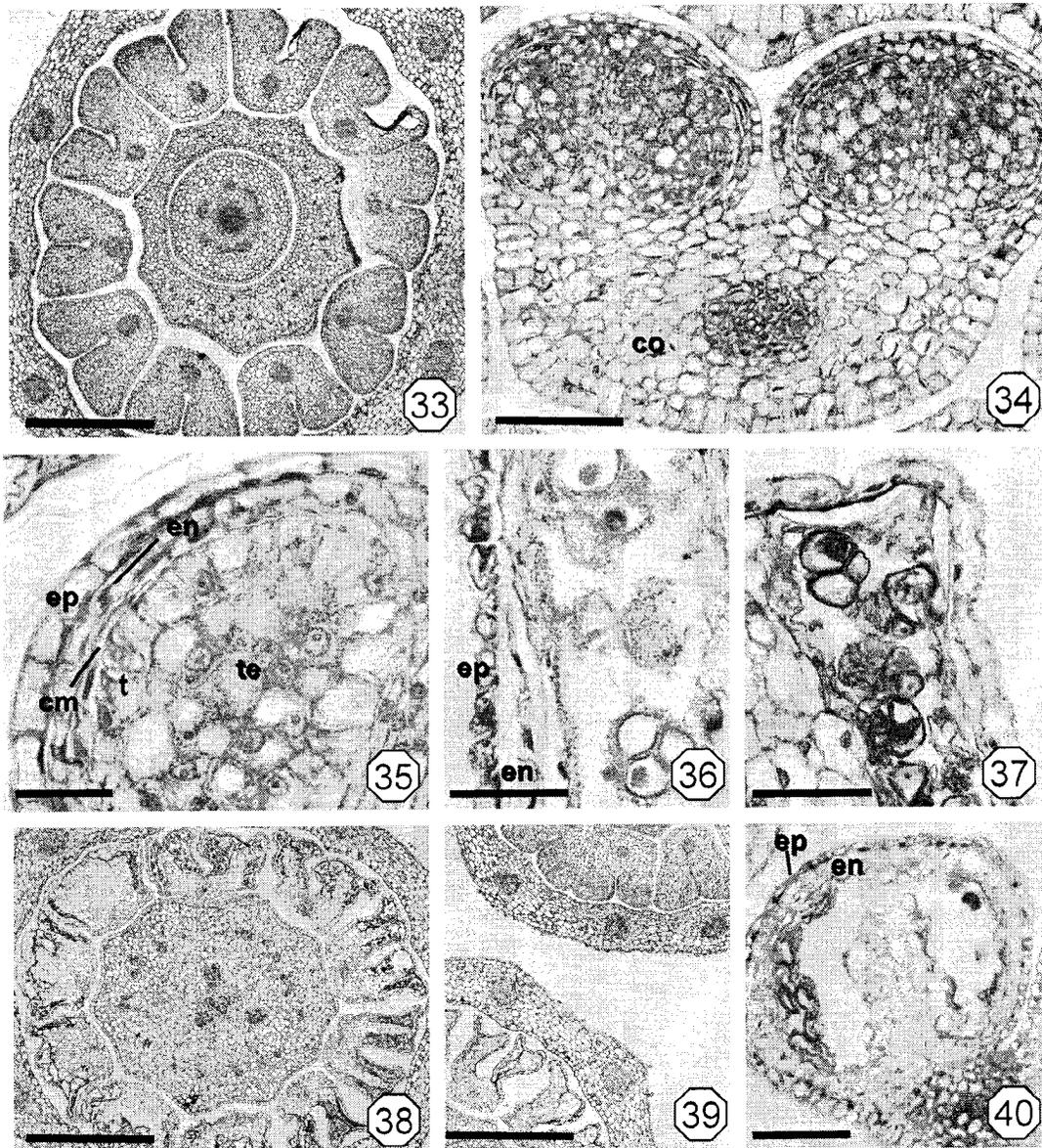
*Miconia albicans* apresenta ovário trilocular, com grande quantidade de óvulos presentes em cada lóculo. A placentação é axial. O óvulo é anátropo, crassinucelado e bitegumentado, com o tegumento externo formado por três camadas e o tegumento interno formado por duas (figura 41). Ambos os tegumentos formam a micrópila, que apresenta um canal em “zig-zag”. Na região calazal, um tecido se diferencia, formando a hipóstase, que apresenta células parenquimáticas pequenas com denso citoplasma e vacúolo pequeno.

O tegumento interno origina-se por divisões periclinais das células epidérmicas, e é formado inicialmente por duas camadas. Já para a formação do tegumento externo, que possui três camadas de células, além de células epidérmicas, também ocorre a participação de células subepidérmicas.

O óvulo apresenta inicialmente a epiderme nucelar e uma ou mais células iniciais esporogênicas (iniciais arquespóricas) (figuras 41 e 42). Uma única célula inicial sofre divisão formando uma célula parietal primária e uma célula esporogênica ou arquesporial (figura 43 e 44). A célula parietal primária divide-se, formando cerca de cinco camadas parietais entre a epiderme nucelar e a célula arquesporial, caracterizando o óvulo do tipo crassinucelado, que é determinado por uma posição mais aprofundada da célula esporogênica (figura 45).

A célula esporogênica diferencia-se em célula-mãe de megásporo (figura 45), que é alongada e apresenta citoplasma denso e núcleo proeminente. Neste momento, devido a grande multiplicação de células na região do funículo, o óvulo já inicia sua curvatura anátropa.

A célula-mãe de megásporo passa por uma meiose irregular, originando uma díade aparentemente normal (figura 46) e posteriormente uma tétrade de megásporos, sendo o megásporo calazal funcional, que se desenvolve enquanto os outros se degeneram (figura 47). Devido possivelmente a uma duplicação do número de cromossomos após a meiose, observa-se a presença de dois nucléolos no megásporo funcional (figura 47). O megásporo não reduzido origina um saco embrionário do tipo *Polygonum* (figura 48). Este apresenta uma oosfera e duas sinérgides em forma de pêra, que formam o aparato oosférico, três antípodas efêmeras e uma célula central com dois núcleos polares que se fundem antes mesmo da antese,



**Figura 33 à 40 – Desenvolvimento do microsporângio, microsporogênese e microgametogênese em *Miconia albicans*.**

Figura 33. Secção transversal do botão floral, mostrando os 10 estames presentes nas flores da espécie. Escala: 200µm.

Figura 34. Detalhe de uma antera em secção transversal. Observa-se os quatro microsporângios, as duas tecas e o conectivo. co: conectivo. Escala: 100µm.

Figura 35. Detalhe de um microsporângio em secção transversal, mostrando os estratos parietais presentes: epiderme (ep), endotécio (en), camada média (cm) e tapete (t). Observa-se também o tecido esporogénico (te). Escala: 10µm.

Figura 36. Detalhe das tétrades de micrósporos irregulares, em secção longitudinal. Nota-se apenas restos do tapete e da camada média. ep: epiderme; en: endotécio. Escala: 10µm.

Figura 37. Detalhe das tétrades de micrósporos irregulares, em secção transversal. Escala: 10µm.

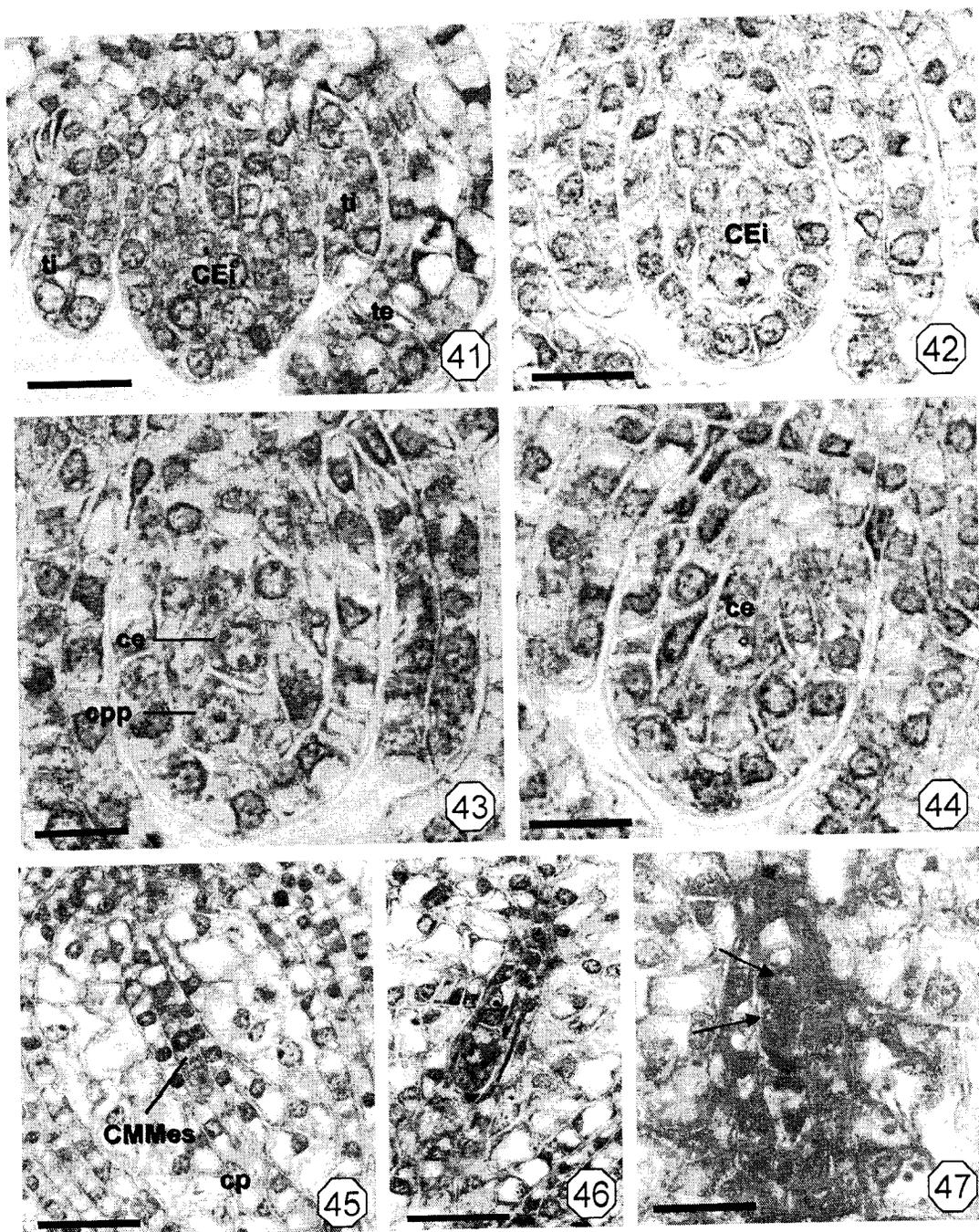
Figura 38. Secção transversal do botão floral, mostrando a degeneração dos micrósporos em todas as anteras. Escala: 200µm.

Figura 39. Dois botões florais em secção transversal, um antes e o outro após o processo de meiose irregular, que leva à degeneração dos micrósporos. Escala: 200µm.

Figura 40. Secção transversal de uma antera madura. O septo interesporangial em processo de ruptura, para formação de uma única cavidade. Microsporângio quase vazio, com restos celulares em degeneração. Nesta fase a parede da antera é formada por epiderme (ep) e endotécio (en). Escala: 20µm.

formando o núcleo secundário (figuras 49 e 50). Portanto, o saco embrionário maduro encontrado em *M. albicans* é muito similar ao encontrado em *M. chamissois*. Após a formação do saco embrionário, a oosfera não reduzida, oriunda da meiose irregular da célula-mãe de megásporo, sofre divisões e dá origem ao embrião (figuras 51 e 52). Portanto, a apomixia que ocorre nesta espécie é do tipo diplospórica. As sinérgides se degeneram e o núcleo secundário divide-se, originando um endosperma nuclear, possivelmente diplóide (figuras 53 e 55). Com o desenvolvimento do embrião (figura 54), células do nucelo tornam-se grandes e frouxas, com a parede celular muito delgada.

Como as anteras não apresentam grãos de pólen viáveis, presume-se que não há fecundação para a espécie e, portanto, o endosperma e o embrião são autônomos e têm origem unicamente materna.



**Figuras 41 à 55: Desenvolvimento do megasporângio, megasporogênese e megagametogênese.**

Figura 41. Óvulo em início de desenvolvimento, mostrando o início da formação dos tegumentos interno (ti) e externo (te), e a epiderme nucelar envolvendo células esporogênicas iniciais (CEi). Escala: 20µm.

Figura 42. Secção longitudinal do óvulo. Nota-se uma única célula inicial esporogênica (CEi) se diferenciando. Escala: 20µm.

Figura 43. Detalhe do óvulo em secção longitudinal, mostrando a formação da camada parietal primária (cpp) e da camada esporogênica (ce). Escala: 20µm.

Figura 44. Detalhe da camada esporogênica. A célula parietal primária sofre divisões periclinais e anticlinais, formando a camada de células parietais. Escala: 20µm.

Figura 45. Detalhe da célula-mãe de megásporo (CMMes), separada da epiderme nucelar pela camada parietal (cp). Escala: 25µm.

Figura 46. Díade após a meiose I, aparentemente normal. Escala: 20µm.

Figura 47. Megásporo calazal funcional e o restante em degeneração. Observa-se a presença de dois núcleos que podem indicar a duplicação do número de cromossomos após a meiose. Escala: 20µm.

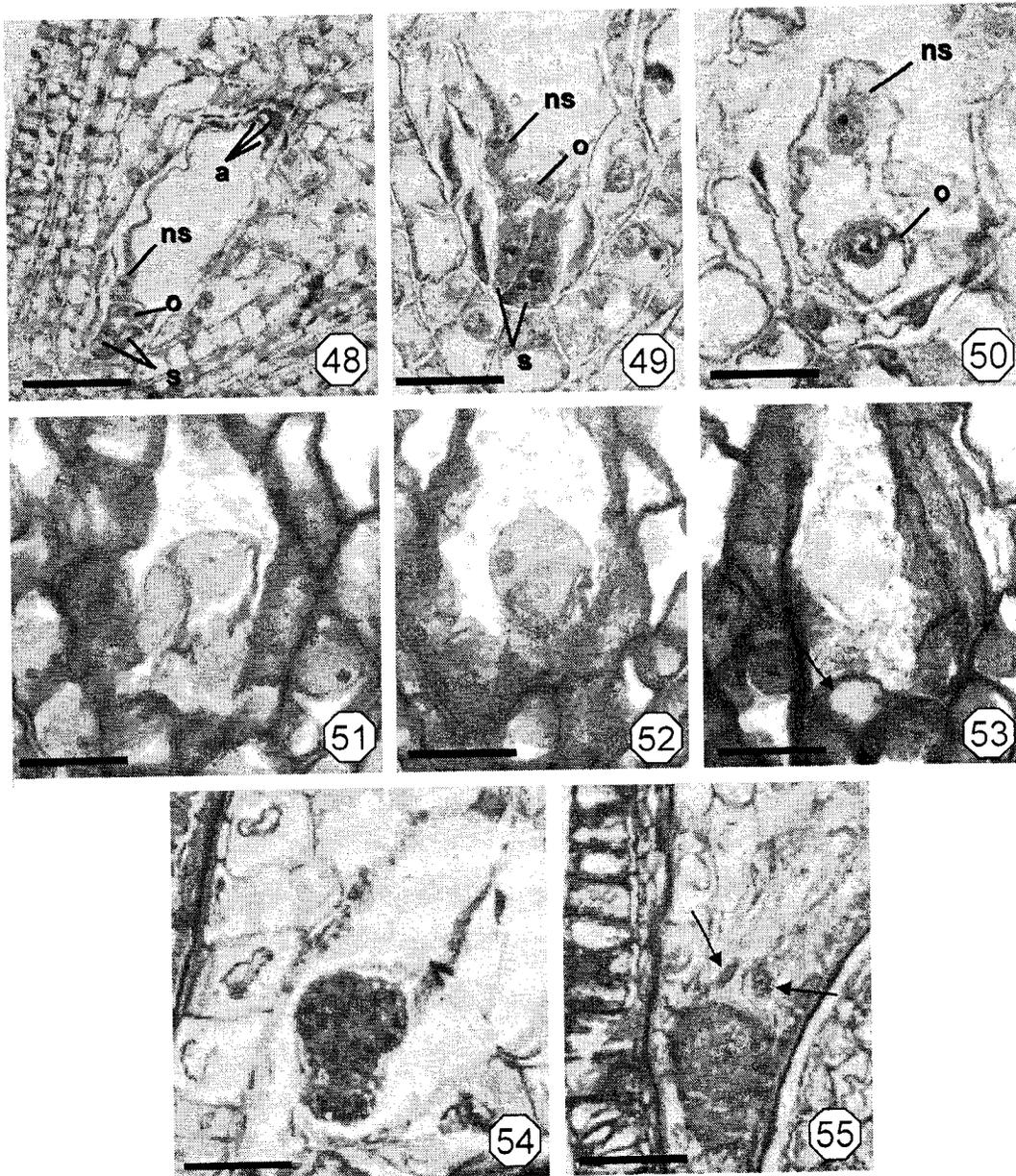


Figura 48. Saco embrionário do tipo *Polygonum*, com duas sinérgides (s), uma oosfera (o), núcleo secundário da célula central (ns) e três antípodas (a). Escala: 50µm.

Figura 49. Detalhe da região micropilar do óvulo da figura anterior. Observa-se o aparato oosférico com duas sinérgides e a oosfera; e também o núcleo secundário da célula central. s: sinérgide; o: oosfera; ns: núcleo secundário. Escala: 20µm.

Figura 50. Detalhe da oosfera e núcleo secundário. o: oosfera; ns: núcleo secundário. Escala: 20µm.

Figura 51. Oosfera. Escala: 20µm.

Figura 52. Detalhe do início do desenvolvimento do embrião apomítico originado da oosfera não reduzida. Escala: 20µm.

Figura 53. Detalhe de uma oosfera já se dividindo (com dois nucléolos – seta). Formação inicial do endosperma nuclear. Neste plano observa-se um núcleo do endosperma se dividindo. Escala: 20µm.

Figura 54. Aspecto geral do embrião apomítico na região micropilar. Provavelmente originado da oosfera. Escala: 25µm.

Figura 55. Embrião apomítico e parte das células do endosperma nuclear (setas). Escala: 25µm.

## 5. DISCUSSÃO

Os resultados das análises complementares do sistema de reprodução de *Miconia chamissois* confirmaram a natureza sexual da espécie, em oposição às características claramente apomíticas de *Miconia albicans*.

As características morfológicas de *Miconia chamissois* como anteras poricidas, simetria radial, odor suave, antese diurna, encaixam-se na síndrome de polinização por melitófila, descrita por Faegri & Pijl (1979).

O odor adocicado, que se observou na espécie pode ser produzido em vários locais, como em osmóforos localizados na superfície da corola, dos filetes, do estilete, da região dos poros das anteras e também das papilas estigmáticas. A presença de tricomas glandulares no hipanto, no ovário ou nos filetes, também pode contribuir para intensificar o odor nas flores, como descrito em *Cambessedesia hilariana* (Fracasso & Sazima 2004). Outra possibilidade é do odor ser emitido pelos grãos de pólen. Como nas anteras poricidas o pólen não está exposto, esse odor poderia funcionar como um guia ao androceu. Padrões como este foram verificados em outras espécies com anteras poricidas, como *Solanum* spp. (Solanaceae) e *Bellucia imperialis* (Melastomataceae) (Buchmann 1983).

Quanto ao sistema reprodutivo, *M. chamissois* apresentou um número semelhante de frutos formados a partir de polinizações cruzadas (90,67%) e polinizações naturais (84%). Uma vez que a espécie possuiu um número pequeno de frutos formados por autopolinização espontânea (6,67%) e não é apomítica, esse resultado expressa a eficiência dos polinizadores naturais da espécie na população estudada. Anteras poricidas requerem polinização por vibração e, apesar da formação esporádica de frutos por autopolinização espontânea, fazem com que a espécie seja dependente da polinização biótica para reprodução. O fato das anteras ocorrerem em dois verticilos pode aumentar a área de deposição do pólen na superfície do polinizador, resultando em maiores chances do estigma receber o grão de pólen, conforme observado em *C. hilariana* por Fracasso & Sazima (2004).

A menor taxa de frutificação de flores oriundas de autopolinização espontânea, quando comparada a flores submetidas ao tratamento de autopolinização manual, indicou que os caracteres morfológicos presentes na espécie, de fato tendem a diminuir a autopolinização

natural e promover a polinização cruzada. Renner (1989) descreve a separação espacial entre estigma e anteras (hercogamia) como a principal forma de espécies da família Melastomataceae diminuir as chances de autopolinização antes e durante a antese. Além disso, o contato do visitante com o estigma antes mesmo da coleta do pólen é favorecido por esta estrutura localizar-se a frente dos poros da antera. Em apenas duas espécies do gênero *Miconia* foram documentados casos de frutificação em flores originadas de tratamentos de autopolinização espontânea, sendo descritas em *M. minutiflora* (Goldenberg & Shepherd 1998) e em *M. sintenisii* (Dent-Acosta & Breckon 1991). Segundo Goldenberg & Shepherd (1998) estas espécies possuem anteras com poros largos que aparentemente não necessitam de polinização vibrátil.

A análise dos pistilos revelou que nas flores autopolinizadas e naquelas advindas de polinização cruzada, a velocidade de crescimento dos tubos polínicos foi similar. Além disso, não foi observada a presença de sítios de incompatibilidade em flores autopolinizadas. Este resultado contrasta com o obtido para essa mesma espécie por Souza-Silva (1997), que documenta a formação de sítios de auto-incompatibilidade. No entanto, essa autora registra a frutificação de 4% de frutos oriundos de autopolinização, sugerindo que podem ocorrer falhas no sistema de incompatibilidade. O índice de auto-incompatibilidade (ISI) de 0,29 sugere que a espécie é autocompatível (valores acima de 0,25 indicam autocompatibilidade). Este número é muito superior ao obtido por Souza-Silva (1997) para a mesma espécie (0,05), sendo que as diferenças encontradas podem ser resultantes da coleta de dados em populações distintas.

Apesar de não terem sido encontrados sítios de auto-incompatibilidade ao longo do estilete nos pistilos de flores submetidas à autopolinização manual, o número de frutos formados a partir desse tratamento (26,67%) foi bem menor que o número de frutos formados a partir de polinizações cruzadas (90,67%). Esse resultado pode ser explicado por algum tipo de mecanismo de auto-esterilidade ou depressão endogâmica, onde alelos recessivos causariam falhas no desenvolvimento de sementes e frutos resultantes de autocruzamentos. Resultados semelhantes foram encontrados para *C. hilariana* (Fracasso & Sazima 2004), onde apesar de não existirem diferenças quanto ao crescimento do tubo polínico entre os dois tratamentos (auto e cruzada), a frutificação de flores autopolinizadas foi bem menor quando comparadas à frutificação de flores sob tratamento de polinização cruzada.

O pequeno número de frutos formados em flores submetidas ao tratamento para verificar a presença de apomixia, revela que *M. chamissois* não possui esse sistema de reprodução. Resultados obtidos anteriormente com a espécie também não indicaram apomixia (Souza-Silva 1997), confirmando nossos resultados. Frutos formados após este tratamento

provavelmente resultaram de contaminações, já que as espécies verdadeiramente apomíticas da família demonstram alto índice de frutificação (Goldenberg & Shepherd 1998).

As observações embriológicas mostraram características semelhantes entre as duas espécies estudadas. Tobe e Raven (1983) descrevem oito características embriológicas que definem a ordem Myrtales. Destas, sete foram descritas para as espécies investigadas, sendo elas: tapete do tipo glandular, pólen bicelular na dispersão (apenas para *M. chamissois*, já que *M. albicans* não apresenta grãos de pólen), presença de um tegumento interno formado por duas camadas de células, óvulo crassinucelado, micrópila formada por ambos os tegumentos, antípodas efêmeras e formação de um endosperma nuclear (observado em *M. albicans*).

A presença de quatro microsporângios em cada antera, como relatado nas duas espécies aqui descritas, segue um padrão encontrado para Melastomataceae, e também para muitas outras espécies da ordem Myrtales (Tobe e Raven 1983). Davis (1966) relata que a condição tetrasporangiada é comum e ocorre como um caráter exclusivo em 190 famílias, sendo 83,6% destas dicotiledôneas.

O desenvolvimento da parede da antera, do tipo dicotiledôneo (Davis 1966), foi encontrado em ambas as espécies estudadas. Este autor relata que o tipo dicotiledôneo é derivado do tipo básico por uma supressão da divisão periclinal da camada parietal secundária interna, que se diferencia diretamente no tapete. Esse tipo de formação da parede da antera ocorre em cerca de 43 famílias, a maioria dicotiledôneas. O desenvolvimento do tipo dicotiledôneo foi relatado em outras espécies de Melastomataceae, como em *Miconia cabucu* (Medeiros & Morretes 1996), *Tibouchina cerastifolia* (Medeiros & Roos 1996), *Tococa formicaria*, *M. ferruginata*, *M. rubiginosa*, *M. theaezans* e *M. elegans* (Simão *et al.* 2006).

Ambas as espécies apresentam a parede da antera formada por epiderme, endotécio, camada média e tapete, todos unisseriados. A epiderme e o endotécio são encontrados na antera no momento da antese nas duas espécies aqui estudadas. A persistência da epiderme parece ser um caráter embriológico uniforme nas espécies de Melastomataceae estudadas até o momento e também nas angiospermas em geral (Davis 1966, Tobe & Raven 1983, Medeiros & Morretes 1996, Medeiros & Roos 1996, Simão *et al.* 2006). Porém, o endotécio não segue um único padrão. Simão *et al.* (2006) encontraram para algumas espécies de *Miconia* (*M. ferruginata*, *M. rubiginosa*, *M. theaezans* e *M. elegans*) apenas a epiderme persistente no momento da antese. Já para *Tococa formicaria* (Simão *et al.* 2006), *Miconia cabucu* (Medeiros & Morretes 1996) e *Tibouchina cerastifolia* (Medeiros & Roos 1996) os autores relataram a presença da epiderme e do endotécio durante o estágio de antese floral, assim como nas espécies descritas neste trabalho.

Nas duas espécies investigadas, o endotécio não desenvolveu espessamentos e nem deposição de substâncias nas paredes anticlinais. Em anteras com deiscência poricida, como é o caso das espécies estudadas, as células do endotécio não sofrem nenhum espessamento, já que essa característica está associada com mecanismos de deiscência da antera (Davis 1966).

A camada média é unisseriada e degenera-se ao longo do desenvolvimento da antera tanto em *M. chamissois* quanto em *M. albicans*. Davis (1966) afirma que a família Melastomataceae apresenta geralmente uma única camada média, à exceção de *Melastoma malabathricum*. Simão (comunicação pessoal) verificou em *Rhynchanthera grandiflora* a presença de três camadas médias. Goldenberg *et al.* (2003) também observou mais de uma camada média em duas espécies de *Miconia* (*M. pusilliflora* e *M. cinnamomifolia*). Dadas as variações observadas, essa característica não pode ser adotada como um caráter embriológico de valor taxonômico para definição desta família. Além disso, estudos envolvendo a descrição e o desenvolvimento da parede da antera devem ser realizados em um número maior de espécies de Melastomataceae, para o esclarecimento de tais variações no número de camadas médias.

Em *M. chamissois* e *M. albicans* verificou-se a presença de um tapete glandular unisseriado e uninucleado. *Miconia ferruginata*, *M. rubiginosa*, *M. theaezans* e *M. elegans* também apresentam essa mesma estrutura (Simão *et al.* 2006), assim como *Miconia cabucu* (Medeiros & Morretes 1996) e *Tibouchina cerastifolia* (Medeiros & Roos 1996) confirmando a descrição de Davis (1966) para a família. Tobe e Raven (1983) relatam que a ocorrência de um tapete glandular é amplamente difundida na ordem Myrtales e também nas dicotiledôneas (cerca de 87%). Porém, para os autores, o fato das células do tapete das espécies de Melastomataceae apresentarem apenas um núcleo, é um caráter que distingue a família Melastomataceae de outras famílias da ordem Myrtales, que apresentam tapete com células bi ou multinucleadas.

Na espécie apomítica *M. albicans*, a degeneração das células do tapete ocorre precocemente, sendo que pouco depois da formação de alguns micrósporos, essa camada já não é mais vista. O tapete é um tecido que está diretamente relacionado com a nutrição e desenvolvimento dos micrósporos. Problemas no funcionamento das células deste tecido podem causar esterilidade do pólen (Bhandari 1984). Portanto, a degeneração precoce do tapete, quando comparado à espécie sexuada, também pode contribuir para irregularidades no processo de desenvolvimento dos micrósporos em *M. albicans*.

A presença de calose envolvendo as células-mãe de micrósporos, em início de prófase meiótica e também os micrósporos, como ocorre em *M. chamissois*, é importante pelo fato de

criar um compartimento que isola o tecido esporogênico do tecido somático, principalmente das células do tapete. Além disso, também isola os micrósporos individualmente para seu desenvolvimento, conferindo-lhes proteção mecânica e evitando sua desidratação. A enzima calase, produzida pelo tapete, é responsável pela degradação da calose, e está ligada ao pH do lóculo, sendo fundamental para o desenvolvimento do grão de pólen (Bhandari 1984).

Quanto à microsporogênese, em ambas as espécies, a citocinese é simultânea, formando uma tétrade tetraédrica. Estes mesmos resultados foram obtidos para outras espécies de *Miconia* (Medeiros & Moretes 1996, Medeiros & Ross 1996, Simão *et al.* 2006) e parece ser um padrão para a família Melastomataceae (Davis 1966, Johri *et al.* 1992).

A formação do gametófito masculino em *M. chamissois* transcorre normalmente, sendo liberado no estágio bi-celular. Tobe e Raven (1983) indicam para os membros de Myrtales a presença de pólen bi-celular. Apesar de Davis (1966) e Johri *et al.* (1992) relatarem para a família grãos de pólen tricululares, outros trabalhos realizados com Melastomataceae também relatam o mesmo padrão encontrado em *M. chamissois* (Medeiros & Morretes 1996, Medeiros & Roos 1996, Simão *et al.* 2006).

Em *M. albicans*, ocorre uma interrupção na formação normal dos grãos de pólen no momento da meiose. Algumas divisões podem até ocorrer, formando tétrades tetraédricas de micrósporos, que apresentam formato bastante irregular. Mas, neste mesmo estágio, até mesmo as células do tapete já se apresentavam deterioradas, ao contrário do tapete observado em *M. chamissois* para esta mesma fase. Os micrósporos que foram originados dessas divisões meióticas não se desenvolvem, resultando em anteras maduras sem grãos de pólen viáveis e praticamente vazias. Vários casos de espécies apomíticas de Melastomataceae com viabilidade polínica baixa ou nula são relatados (Borges 1991, Goldenberg & Shepherd 1998, Souza-Silva 2000, Simão *et al.* 2006), apesar de não se constituírem em uma regra para espécies apomíticas da família (Souza-Silva 2000, Goldenberg & Shepherd 1998).

Eventos de completa esterilidade masculina estão associados à apomixia. Entretanto, na família, há casos de espécies apomíticas que apresentam indivíduos com alto índice de viabilidade polínica e também casos de espécies sexuadas que possuem pólen pouco viável, geralmente, devido a fatores ambientais. Por isso, a associação direta entre viabilidade polínica e apomixia deve ser evitada em Melastomataceae (Goldenberg & Shepherd 1998).

Acredita-se que a variação da viabilidade polínica em espécies apomíticas pode estar relacionada principalmente a irregularidades no processo de divisão meiótica (Goldenberg & Shepherd 1998). O número básico de cromossomos para a tribo *Miconieae* é  $n=17$  (Almeida & Chuang 1992). Entretanto, estudos revelaram que devido à poliploidia espécies apomíticas

de Melastomataceae apresentaram o número de cromossomos maior que 17. Tal fato tem como provável causa a origem híbrida destas espécies. Existe uma forte relação entre número de cromossomos elevados, de origem poliplóide, apomixia e irregularidades na meiose, que leva a infertilidade do grão de pólen (Nijs & Menken 1996, Goldenberg & Werpachowski 2004). Na espécie *M. albicans*, o número de cromossomos varia entre amostras de diferentes regiões,  $2n=34$  e  $2n=48$  (Solt & Wurdack 1980). Goldenberg e Shepherd (1998) discutem que espécies com populações difundidas podem variar no nível de ploidia e grau de apomixia. O número de cromossomos desta espécie indica sua possível origem híbrida, levando à poliploidia e conseqüentemente à irregularidades no processo meiótico, explicando a viabilidade nula de pólen encontrada nas populações da espécie aqui estudada.

Em *M. chamissois* e *M. albicans* os óvulos são anátropos, crassinucelados, bitegmentados e com micrópila formada por ambos os tegumentos. Esse padrão também é encontrado em outras espécies da família Melastomataceae estudadas (Subramanyam 1941, Davis 1966, Borges 1991, Johri *et al.* 1992, Medeiros & Morretes 1996). Óvulos anátropos são os mais comuns entre as angiospermas, sendo que 204 famílias apresentam exclusivamente óvulos com esta forma (Davis 1966). A curvatura anátropa começa logo no início da formação dos óvulos, geralmente pelo crescimento de células do funículo (Bouman 1984), como foi observado nas espécies investigadas neste trabalho.

*M. albicans* e *M. chamissois* apresentaram, na região calazal dos óvulos, a hipóstase, um tecido diferenciado com células parenquimáticas pequenas, denso citoplasma e pouco vacuoladas. Este caráter já foi encontrado em outras espécies de Melastomataceae (Davis 1966, Johri *et al.* 1992, Medeiros e Morretes 1996) e também na ordem Myrtales (Tobe & Raven 1983). Segundo Bouman (1984), muitas funções são atribuídas à hipóstase: ela pode atuar como um tecido de barreira ao avanço ilimitado do saco embrionário, pode facilitar o transporte de substâncias nutritivas conectando o feixe vascular ao saco embrionário e, além disso, pode ser responsável pela produção de determinadas enzimas e hormônios.

Os padrões de megasporogênese e megagametogênese observados em *M. chamissois*, como a formação uma tétrade linear de megásporos, sendo o megásporo calazal funcional originando um saco embrionário do tipo *Polygonum* são os mesmos encontrados para outras espécies de Melastomataceae (Davis 1966, Borges 1991, Johri *et al.* 1992, Medeiros & Morretes 1996). A tétrade linear de megásporos é o padrão mais comum entre as angiospermas, sendo que 213 famílias desse grupo apresentam exclusivamente esse caráter (Bouman 1984).

A presença de antípodas efêmeras, que se degeneram no período de antese, confirma os resultados obtidos para a maioria das espécies da ordem Myrtales (Tobe & Raven 1983) e também para a família Melastomataceae (Subramanyam 1941, Davis 1966, Borges 1991, Johri *et al.* 1992, Medeiros e Morretes 1996). Entre as angiospermas, as antípodas apresentam grande variação, e podem, como em algumas monocotiledôneas, proliferar-se em um tecido multicelular. Entretanto, em muitos grupos de dicotiledôneas é comum a degeneração das antípodas antes ou durante a maturação do saco embrionário (Bouman 1984). As sinérgides e as oosferas apresentaram uma forma comum a estas células: o formato de pêra, e localizam-se no pólo micropilar do saco embrionário, como descrito de forma geral para as angiospermas (Bouman 1984). Nas Melastomatáceas estudadas até o momento, a fusão dos núcleos polares da célula central ocorre antes da antese (Davis 1966, Johri *et al.* 1992, Medeiros e Morretes 1996), como foi descrito em ambas as espécies estudadas.

Como descrito, em *M. albicans* o saco embrionário também é do tipo *Polygonum* e bastante similar ao encontrado em *M. chamissois*. Esse resultado confirma a afirmação de Rutishauser (1982) de que as espécies apomíticas diplospóricas conservam os mecanismos de desenvolvimento do saco embrionário de seus parentes sexuados, porém, não experimentando uma meiose típica, o que acarreta a presença de núcleos não reduzidos no saco embrionário.

A diferença fundamental observada entre as duas espécies é que em *M. albicans* a meiose parece resultar em megásporos diplóides e não haplóides como os que geralmente ocorrem em espécies sexuadas, como *M. chamissois*. Como não foi observada a ocorrência de aposporos e o embrião se origina de um saco embrionário aparentemente normal, *M. albicans* apresenta apomixia do tipo diplospórica. O que foi observado na espécie foi a primeira fase da meiose seguida por uma segunda fase da meiose aparentemente assimétrica e evidências de duplicação do número de cromossomos do megásporo calazal, que levou a formação de um saco embrionário não reduzido.

Nogler (1984) descreve vários tipos básicos de diplosporia. A diplosporia mitótica, também chamada de tipo *Antennaria* é o processo mais comum, ocorrendo quando a meiose é totalmente inibida. Neste caso, a célula-mãe de megásporo prossegue diretamente para a primeira mitose, funcionando como um megásporo viável diplóide, que origina um saco embrionário não reduzido. A diplosporia do tipo *Antennaria* ocorre em gêneros como *Antennaria*, *Burmattia*, *Erigeron*, *Poa*, *Calamagrostis*, *Nardus*, etc. (Nogler 1984).

O tipo *Taraxacum* é um outro tipo de diplosporia (Nogler *loc.cit.*). Neste caso, a célula-mãe de megásporo entra em prófase meiótica, mas a meiose I resulta em uma restituição dos núcleos. A segunda divisão meiótica continua com o número não reduzido de cromossomos e

resulta em uma díade também não reduzida, na qual o megásporo calazal, através de mitoses, dá origem ao saco embrionário. Este processo foi descrito em *Taraxacum*, *Battaglia*, *Paspalum*, *Agropyron*, etc. (Nogler 1984). Segundo Basham (1980) pode ocorrer também uma meiose seguida da duplicação espontânea do número de cromossomos do megásporo funcional, padrão semelhante ao encontrado em *M. albicans*. Nogler (1984) descreve que a duplicação do número de cromossomos após a meiose é raramente descrita, e foi relatada em *Potentilla colina*, *Saccharum* e *Ranunculus auricomus*.

Borges (1991), também relatou apomixia gametofítica, possivelmente diplospórica, em uma espécie de Melastomataceae (*Leandra australis*). Além disso, em *Leandra cordifolia* (Subramanyam 1941) ocorre a dupla formação de sacos embrionários, que poderiam indicar aposporia, porém também a presença de arquespórios múltiplos, como já relatado por Tobe & Raven (1983) em Myrtales.

Em *M. albicans*, não há formação de grãos de pólen e, portanto, não há fecundação. Entretanto, verificou-se o desenvolvimento do endosperma a partir da célula central, indicando que a apomixia encontrada na espécie é autônoma. Segundo Nogler (1984), a polinização e a fertilização da célula central são imprescindíveis para as espécies apomíticas pseudogâmicas, com exceção de algumas gramíneas, em que o estímulo da polinização é suficiente para iniciar o desenvolvimento do endosperma. Já nas apomíticas autônomas, o desenvolvimento do endosperma e também do embrião não dependem dos eventos de polinização, e a oosfera e o núcleo polar (não reduzidos) não requerem fertilização. Para este mesmo autor, a maioria das espécies autônomas são diplospóricas, assim como *M. albicans*. O endosperma, entretanto, parece não se desenvolver no tecido nutritivo da semente em *M. albicans*. O tecido nutritivo que vai ser consumido pelo embrião durante o desenvolvimento é principalmente formado por células do nucelo. Este tipo de desenvolvimento seminal exalbuminoso é característico da ordem Myrtales e talvez ajude a explicar a autonomia do processo de apomixia na espécie estudada.

Apesar de algumas lacunas remanescentes, o presente trabalho permitiu comparar com sucesso a embriologia e reprodução das espécies de *Miconia* estudadas, que mostraram padrões de desenvolvimento semelhantes e consistentes com as informações existentes para a família Melastomataceae. Foi possível verificar a fase de interrupção na formação do grão de pólen, que leva à inviabilidade polínica em *M. albicans*, contrastando com a formação normal observada em *M. chamissois*. Foi possível mostrar também que a ocorrência de meiose, aparentemente anômala, resulta em duplicação cromossômica e em um saco embrionário não reduzido, caracterizando *M. albicans* como diplospórica. A formação de um saco embrionário,

aparentemente normal e similar ao observado na espécie sexuada, é seguida pelo desenvolvimento autônomo de um embrião e endosperma, resultando em sementes morfológicamente semelhantes às relatadas para outras espécies da família.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, F.; CHUANG, T.I. Chromosome numbers and their systematic significance in some Mexican *Melastomataceae*. **Systematic Botany**, v.17, p. 583-593. 1992.
- BASHAM, E.C. **Apomixis and its application in crop improvement**. *In*: Hybridization of Crop Plants (W.R. Fehr; H.H. Hadley eds.). Madison, American Society of Agronomy, 1980. p. 45-63.
- BHANDARI, N.N. **The microsporangium**. *In*: Embryology of angiosperms (B.M. Jorhi, ed.). Springer-Verlag, Berlin. 1984. p.51-121.
- BICKNELL, R.A.; KOLTUNOW, A.M. 2004. Understanding apomixes: recent advances and remaining comundrums. **The Plant Cell**, v.16, p.229-245. 2004.
- BORGES, H.B.N. **Biologia reprodutiva de quatro espécies de Melastomataceae**, 1991. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual de Campinas.
- BOUMAN, F. **The ovule**. *In*: Embryology of Angiosperms (B.M. Johri, ed.). Springer-Verlag, Berlin, 1984. p.124-157.
- BULLOCK, S.H. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest. **Biotropica**, v.17, p.287-301. 1985.
- BUCHMANN, S.L. **Buzz pollination in Angiosperm**. *In*: Handbook of experimental pollination biology (C.E. Jones; R.J. Little, eds.). Van Nostrand Reinhold, New York, 1983. p.294-309.
- CARMAN, J.G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperm may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.61, p.51-94. 1997.

- CASTRO, N.M. **Desenvolvimento do óvulo e aspectos da biologia da reprodução de espécies de Velloziaceae da Serra do Cipó-MG**, 1998. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade de São Paulo.
- CLAUSING, G.; RENNER, S.S. Molecular phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: implications for character evolution. **American Journal of Botany**, v.88, n.3, p.486-498. 2001.
- CORNER, E.J.H. **The seed of dicotyledons**. Cambridge: Cambridge University Press, 1976.
- CUNHA, W.R.; SILVA, M.L.A.; TURATTI, I.C.C.; FERREIRA, D.S.; BETARELLO, H.L. Avaliação da atividade analgésica de *Miconia ligustroides* (Melastomataceae) utilizando o teste de contorção abdominal em camundongos. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 84, n.2, p.47-49. 2003.
- DAHLGREN, R.; THORNE, R.F. The order Myrtales: circumscription, variation, and relationships. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.71, p.633-699. 1984.
- DAVIS, G.L. **Systematic embryology of the angiosperms**. New York: John Wiley, 1966. 528p.
- DENT-ACOSTA, S.R.; BRECKON, G.J. **Reproductive biology of six species of Melastomataceae in western Puerto Rico**. In: First International Melastomataceae Symposium, Smithsonian Institution, Washington, 1991.
- FAEGRI, K.; PIJL, L. VAN DER. **The principles of pollination ecology**. Oxford: Pergamon Press. 1979.
- FEDER, N.; O'BRIEN, T.P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, n.55, v.1, p.123-142. 1968.
- FRACASSO, C.M.; SAZIMA, M. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo *versus* diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas. **Revista Brasileira de Botânica**, v.27, n.4, p.797-804. 2004.

- GOLDENBERG, R. **Apomixia como alternativa à reprodução sexuada em Melastomataceae.** *In:* Tópicos Atuais em Botânica (CAVALCANTI, T.B.; WALTER, M.T. eds). Brasília: SBB/EMBRAPA, 2000. p. 225-230.
- GOLDENBERG, R. O gênero *Miconia* (Melastomataceae) no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, n.4, p.927-947. 2004.
- GOLDENBERG, R.; SHEPHERD, G.J. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in "cerrado" vegetation. **Plant Systematics and Evolution**, v.211, p.13-29. 1998.
- GOLDENBERG, R.; TEIXEIRA, S.P.; MARTINS, A.B. Anther dehiscence and circumscription of *Miconia* sect. *Hypoxanthus* (Melastomataceae). **Kew Bulletin**, v.58, p.195-203. 2003.
- GOLDENBERG, R.; VARASSIN, I.G. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiaí, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.3. p.283-288. 2001.
- GOLDENBERG, R.; WERPACHOWSKI, J.S. **Estudo comparativo da ocorrência de apomixia em Melastomataceae e Asteraceae.** *In:* Clonagem de plantas por sementes: estratégias de estudo da apomixia (CARNEIRO,V.T.C.; DUSI, D.M.A. eds.). Brasília: Embrapa, 2004. p.19-34.
- GOODLAND, R.; FERRI, M.G. **Ecologia do Cerrado.** São Paulo: Edusp, 1979.
- JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant microtechnique.** McGraw-Hill Book Company, New York. 523p.
- JOLY, A.B. **Botânica.** Introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1991. 777 p.

- JOHRI, B.M.; AMBEGAOKAR, K.B.; SRIVASTAVA, P.S. 1992. **Comparative embryology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1992. 1221p.
- KAPIL, R.N.; TIWARI, S.C. Plant embryological investigations and fluorescence microscopy: an assessment of integration. **International Review Cytology**, v.53, p.291-331. 1978.
- KOLTUNOW, A.M. Apomixis: embryo sacs and embryo formed without meiosis or fertilization in ovules. **Plant Cell**, v.5, p.1425-1437. 1993.
- KOLTUNOW, A.M. Apomixis: molecular strategies for the generation of genetically identical seeds without fertilization. **Plant Physiology**, v.108, p.1345-1352. 1995.
- KRAUS, J.; ARDUIN, M. **Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997.
- LERSTEN, N.R.; CURTIS, J.D. Secretory reservoirs (ducts) of two kinds in giant ragweed (*Ambrosia trifida*, Asteraceae). **American Journal of Botany**, v.75, p.1313-1323. 1988.
- MARTIN, F.N. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain Technology**, v.34, p.125-128. 1959.
- MCDOWELL, E.M.; TRUMP, B. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v.100, p.405-414. 1976.
- MEDEIROS, J.D.; MORRETES, B.L. The embryology of *Miconia cabucu* (Melastomataceae). **Cytologia**, v.61, p. 83-91. 1996.
- MEDEIROS, J.D.; ROOS, A.L. Aspectos do microsporângio, da microsporogênese e do gametófito masculino de *Tibouchina cerastifolia* (Naud.) Cogn. (Melastomataceae). **Biotemas**, v. 9, n.2, p.5-14. 1996.
- NIJS, H.C.M. den; MENKEN, S.B.J. **Relations between breeding system, ploidy level, and taxonomy in some advanced sections of *Taraxacum***. In: *Compositae: Systematics* (H.D.N. Hind; H.J. Beentje, eds.). Royal Botanic Gardens, Kew, 1996. p.665-677

- NIMER, E.; BRANDÃO, A.M.P.M. **Balanço hídrico e clima da região dos cerrados**. IBGE, Rio de Janeiro. 1989.
- NOGLER, G. A. **Gametophytic apomixis**. *In*: Embryology of Angiosperms (B.M. Johri, ed.). Springer-Verlag, Berlin, 1984. p.475-518.
- RENNER, S.S. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.76, p.496-518. 1989.
- RENNER, S. S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic Journal of Botany**, v.13, p.519-540. 1993.
- RODKIEWICZ, B. Callose in cell walls during megasporogenesis in Angiosperms. **Planta**, v.93, p.30-47. 1970.
- ROMERO, R.; MARTINS, A.B. Melastomataceae no Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, n.1, p.19-24. 2002.
- RUTISHAUSER, A. **Introducción a la embriología y biología de la reproducción de las Angiospermas**. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, 1982.
- SANTOS, M.L. **Florística e Biologia Reprodutiva de espécies de Melastomataceae no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas e Parque Estadual dos Pireneus, Goiás**. 2003. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília.
- SIMÃO, D.G.; OLIVEIRA, P.E. **Embriologia e aspectos do sistema reprodutivo em *Miconia e Tococa* (*Miconieae*, *Melastomataceae*)**. *In*: Resumos do 56º Congresso Nacional de Botânica, Curitiba. 2005.
- SIMÃO, D.G.; CAETANO, A.P.S.; OLIVEIRA, P.E.A.M.; CARMO-OLIVEIRA, R. Embriologia em espécies apomíticas e sexuadas em *Miconia Ruiz & Pav.* e *Tococa Aubl.* (*Miconieae*, *Melastomataceae*): desenvolvimento da antera e do grão de pólen. *In*: Resumos do 57º Congresso Nacional de Botânica, Gramado. 2005.
- SNIEZKO, R.; HARTE, C. Callose pattern and pollarization phenomena in the ovules in the

- F2-hybrids between *Oenothera hookeri* and *Oe. suaveolens*. **Plant Systematics and Evolution**, v.147, p.79-90. 1984.
- SNOW, D.W. Tropical frugivorous birds and their food plants: a world survey. **Biotropica**, v.13, n.1, p.1-14. 1981.
- SOLT, M.L.; WURDACK, J.J. Chromosome number in *Melastomataceae*. **Phytologia**, v.47, p.199-220. 1980.
- SOUZA-SILVA, S.C.S. **Aspectos da Biologia Reprodutiva em Melastomataceae no Parque do Sabiá, Município de Uberlândia**, 1997. Monografia (Curso de Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Uberlândia.
- SOUZA-SILVA, S.C.S. **Biologia Reprodutiva e Polinização de Melastomataceae no Parque do Sabiá, Município de Uberlândia, MG**. 2000. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de Brasília.
- SOUZA, C.V.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, SP. 2005. p.269-276.
- SUBRAMANYAM, K. Gametogenesis and embryogeny in a few members of the *Melastomaceae*. **Journal of the Indian Botanical Society**, v.21, p.69-85. 1942.
- STEBBINS, G.L. Polyploidy, hybridization and the invasion of new habitats. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.72, p.824-832. 1985.
- TOBE, H. The embryology of angiosperms: broad application to the systematic and evolutionary study. **Botanical Magazine**, v.102, p.51-367. 1989.
- TOBE, H.; RAVEN, P.H. An embryological analysis of Myrtales: its definition and characteristics. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.70, p.71-94. 1983.
- ZIEGLER, A. Beiträge zur Kenntnis des Androeceums und der Samenentwicklung einiger Melastomaceen. **Botanischer Archiv**, v.9, p.398-467. 1925.