

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL - MESTRADO

**Anatomia floral de *Hevea brasiliensis* e *Manihot tripartita*
(Euphorbiaceae, Malpighiales) com ênfase na homologia do nectário e perianto**

Andressa Bárbara Vasconcelos Zardini

Uberlândia, Minas Gerais
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL - MESTRADO

**Anatomia floral de *Hevea brasiliensis* e *Manihot tripartita*
(Euphorbiaceae, Malpighiales) com ênfase na homologia do nectário e perianto**

Andressa Bárbara Vasconcelos Zardini

Orientador: Prof. Dr. Orlando Cavallari de Paula

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas, área de Botânica.

Uberlândia, Minas Gerais
2019

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Z36
2019 Zardini, Andressa Barbara Vasconcelos, 1992-
Anatomia floral de *Hevea brasiliensis* e *Manihot tripartita*
(Euphorbiaceae, Malpighiales) com ênfase na homologia do
nectário e perianto [recurso eletrônico] / Andressa Barbara
Vasconcelos Zardini. - 2019.

Orientador: Orlando Cavallari de Paula.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pós-graduação em Biologia Vegetal.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2019.2559>
Inclui bibliografia.

1. Botânica. I. Paula, Orlando Cavallari de, 1980-, (Orient.). II.
Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Biologia
Vegetal. III. Título.

CDU: 581

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

ATA DE DEFESA

Programa de Pós-Graduação em:	Biologia Vegetal				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico nº 062/PPGBV				
Data:	28 de fevereiro de 2019	Hora de início:	09:05	Hora de encerramento:	12:05
Matrícula do Discente:	11712BVE003				
Nome do Discente:	ANDRESSA BÁRBARA VASCONCELOS ZARDINI				
Título do Trabalho:	Anatomia floral de <i>Hevea brasiliensis</i> e <i>Manihot tripartita</i> (Euphorbiaceae, Malpighiales) com ênfase na homologia do nectário e perianto				
Área de concentração:	Biologia Vegetal				
Linha de pesquisa:	Padrões em Biologia Vegetal				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Evolution of flowers and inflorescences in Euphorbiaceae				

Reuniu-se no Bloco 8C sala 108, Campus Umuarama, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, assim composta: Professores Doutores: João Donizete Denardi - UEMS; Rosana Romero INBIO/UFU e Orlando Cavallari de Paula - INBIO/UFU, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Orlando Cavallari de Paula, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a

presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Orlando Cavallari de Paula, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/02/2019, às 14:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rosana Romero, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/02/2019, às 14:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Donizete Denardi, Usuário Externo**, em 14/03/2019, às 15:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1054710** e o código CRC **B4E387BD**.

Referência: Processo nº 23117.007478/2019-77

SEI nº 1054710

AGRADECIMENTOS

Agradeço e sou humilde a Deus pelo dom da vida e, ao Espírito Santo que protegeu-me e cobriu-me de bênçãos a vida inteira.

O maior agradecimento terreno é para os meus pais, que doam cuidados e amor imensuráveis. Vocês são a minha maior alegria, vocês fazem do nosso lar um lugar mais calmo e iluminado por Deus.

Agradeço aos meus familiares pela alegria e amor. Mais pensamentos positivos, respeito ao próximo e união.

Agradeço aos amigos Ana Paula, Danilo, Evelise, Karine, Larissa, Marco Túlio, Matheus e Ruan, que fizeram os nossos dias de trabalho muito mais tranquilos no LAMOV. A pós-graduação é trabalho sim e nós trabalhadores que realizam pesquisa.

Agradeço aos amigos de turma Ana Flávia, André, Larissa, Luiza, Renata, pois compartilhamos momentos de pesquisa e de amizade e alimentamos com esperanças as expectativas um dos outros.

Agradeço ao professor Dr. Orlando Cavalari de Paula, pela orientação acadêmica e dedicação em ensinar os métodos e estudos nas áreas de Morfologia e Anatomia Vegetal.

Agradeço aos professores e técnicos do INBIO, que realizam os serviços nos laboratórios e sala de aula, colaborando para que a nossa formação acadêmica seja mais significativa, repleta de aprendizagem e valores éticos, profissionais.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal e aos professores que fazem parte desse programa e ministram as disciplinas com dedicação e muito carinho.

Agradeço a Nívia, que me recebeu com carinho e respeito e eu pude compartilhar alguns dos meus momentos de medo e dúvida.

Agradeço aos membros da banca avaliadora, Dra. Rosana Romero e Dr. João Donizete Denardi.

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

Sumário

Resumo.....	6
Abstract	7
Introdução	8
Euphorbiaceae Juss.	8
Uso da anatomia floral para resolução de problemas morfológicos	12
Objetivos	14
Geral	14
Específicos	14
Material e métodos	15
Resultados	16
<i>Hevea brasiliensis</i>	16
<i>Manihot tripartita</i>	17
Discussão.....	19
Considerações Finais.....	26
Referências bibliográficas	27
Figuras.....	36

Resumo

As flores pistiladas e estaminadas de *Manihot tripartita* e *Hevea brasiliensis* foram estudadas, para o esclarecimento de semelhanças e diferenças sobre a origem das características florais. Os métodos aplicados garantiram a montagem de laminário histológico e análise de imagens através da microscopia óptica. Os resultados mostraram que as estruturas filamentosas são semelhantes anatomicamente, contudo não compartilham a mesma origem. Em *H. brasiliensis*, somente a flor pistilada tem nectários, que são vascularizados por traços alternos e opostos às sépalas, sugerindo uma origem estaminal para estes. Em *M. tripartita*, flores pistiladas e estaminadas têm nectários de origem receptacular. Entretanto, nessa espécie, apenas a flor pistilada apresenta estaminódios vascularizados por um feixe cada que emerge direto do eustelo. A posição e a quantidade dos traços de estaminódios é a mesma que os dois verticilos ocupam nas flores estaminadas. Portanto, os nectários e os estaminódios nas flores pistiladas de ambas as espécies compartilham a mesma origem, ou seja, provavelmente são resultantes da modificação dos verticilos de estames presentes em flores perfeitas nos ancestrais. A formação de pseudantos em algumas subfamílias de Euphorbiaceae esteve relacionada à perda de pétalas e à presença vestigial desse órgão floral, mas a combinação dessas características não parece ser obrigatória para esse tipo de inflorescência, pois *H. brasiliensis* e *M. tripartita* tem inflorescência paniculada.

Palavras-chave: Morfologia floral, anatomia vascular, nectários, estaminódios, homologia.

Abstract

The pistillate and staminate flowers of *Manihot tripartita* and *Hevea brasiliensis* were studied to elucidate similarities and differences on the origin and development of floral characteristics. The applied methods ensure the assembly of histological lamina and image analysis through light microscopy. The results showed that the filamentous structures are similar anatomically, however do not share the same origin. In *H. brasiliensis*, only the pistillate flower has nectaries, which are vascularized by alternating and opposite traces to the sepals, suggesting a stem origin for these. In *M. tripartita*, pistillate and staminate flowers have nectaries of receptacular origin. However, in this specie, only the pistillate flower has vascularized staminodes by one bunch each that emerges directly from the eustelo. The position and amount of staminodes traces is the same as the two whorls occupy the staminate flowers. Therefore, nectaries and staminodes in pistillate flowers of both species share the same origin, that is, they are probably the result of the modification of the whorls of stamens present in perfect flowers in the ancestors. The formation of pseudanthias in some subfamilies of Euphorbiaceae was related to the loss of petals and the vestigial presence of this floral organ, but the combination of these characteristics does not seem to be obligatory for this type of inflorescence, because *H. brasiliensis* e *M. tripartita* presents paniculate inflorescences.

Key-words: Floral morphology, vascular anatomy, nectaries, staminodes, homology.

Introdução

Euphorbiaceae Juss.

Euphorbiaceae era conhecida como Tricoccae, mas foi na classificação *Genera Plantarum* feita por Antonii Laurenti de Jussieu, em 1789. A família foi assim nomeada, sendo reconhecida em dois grupos que compartilhavam flores unissexuais e obturadores placentários, e se diferenciavam quanto ao estilete, bífido em um grupo e inteiro no outro. Novas contribuições de classificação para a família Euphorbiaceae foram propostas à partir do Sistema Mülleriano, no qual pela primeira vez esta família foi organizada em subfamílias, tribos e subtribos (MÜLLER, 1866).

Alguns pesquisadores faziam a proposta de separar os grupos de Euphorbiaceae em outras famílias, como Airy Shaw (1965, 1966) que fez a segregação desta em Androstachydeae, Bischofiaceae, Hymenocardiaceae, Peraceae, Picrodendraceae, Stilaginaceae e Uapacaceae. Por outro lado, Grady Linder Webster, de 1975 até 1994, dedicou-se aos estudos para descrever os taxa em Euphorbiaceae *sensu lato* (s.l.), e baseou-se em caracteres morfológicos tais como número de óvulos por lóculo, a presença de laticíferos e a morfologia do pólen, para fazer a organização de um grupo monofilético com 317 gêneros e cinco subfamílias: Phyllanthoideae, Oldfieldioideae, Acalyphoideae, Crotonoideae e Euphorbioideae. Assim, manter o monofiletismo seria possível se as subfamílias Phyllanthoideae e Oldfieldioideae, que apresentavam carpelos biovulados fossem excluídas (MEEUSE, 1990; HUBER, 1991).

Para tanto, as análises filogenéticas permitiram mostrar que Euphorbiaceae s.l. era polifilética (CHASE et al., 1993), sugerindo sua separação em seis famílias: Phyllanthaceae, Picrodendraceae, Pandaceae, Euphorbiaceae *sensu stricto* (s.s.), Putranjivaceae, e Peraceae, sendo estas duas últimas famílias sem relação filogenética estreita com Euphorbiaceae s.l. (STEVENS, 2001).

O estudo da filogenia baseado em dados moleculares, permitiu mudanças relacionadas à circunscrição dos grupos que compunham Euphorbiaceae *s.l.* Neste caso, a família Euphorbiaceae *s.s.* incluía apenas as subfamílias que possuem um óvulo por lóculo- Acalyphoideae, Crotonoideae e Euphorbioideae, enquanto as famílias Phyllanthaceae, Picrodendraceae e Putranjivaceae incluem as subfamílias com dois óvulos por lóculo- Phyllanthoideae e Oldfieldioideae (APG II, 2003; WURDACK *et al.*, 2005).

Essa classificação filogenética que agrupa Euphorbiaceae *s.l.* é a mais recente (APG IV, 2016), também, para Euphorbiaceae *s.s.*, cuja a divisão atual baseada em características morfológicas e moleculares está em quatro subfamílias: Cheilosoideae, Crotonoideae, Acalyphoideae e Euphorbioideae (GOLDBERG, 1986; TOKUOKA; TOBE 1998; TOKUOKA; TOBE, 2006; TOKUOKA, 2007; DAVIS *et al.*, 2007; WURDACK; DAVIS, 2009), sendo assim, Euphorbiaceae *s.s.*, tem uma riqueza de espécies com cerca de 245 gêneros e 6.300 espécies, de distribuição mundial, principalmente pantropical, maior do que outras famílias da ordem Malpighiales (GOVAERTS *et al.*, 2000; WURDACK *et al.*, 2005).

Euphorbiaceae apresenta uma diversa morfologia a contar pelas suas flores solitárias ou inflorescências que podem estar organizadas em pseudantos do tipo ciátio, ambas unissexuais, diminutas, variando em aclamídea, monoclamídea e diclamídea. O ovário é gamocarpelar, frequentemente, trilocular, em flores pistiladas que podem apresentar nectário. As espécies que podem ser díclinas ou monoclíneas desta família diferenciam-se em hábitos que vão de erva à árvore. Esta família é conhecida pela produção de látex tóxico (HURBATH *et al.*, 2016), substância secretada por pelo menos 12 mil espécies de plantas (HARBORNE, 1993) e que, nas famílias Apocynaceae, Euphorbiaceae, Moraceae e Urticaceae, a secreção ocorre por laticíferos não-articulados (KHAN, 2001), que podem estar distribuídos nas partes vegetativas e reprodutivas dessas plantas (MAUSETH, 1988).

Euphorbiaceae apresenta inflorescências reduzidas do tipo pseudanto e funcionalmente semelhantes à uma flor solitária (STEVENS, 2001). Contrapondo à redução

do número ou mesmo a perda total de alguns verticilos, tais como pétalas e sépalas, é possível observar que no percurso evolutivo da família, algumas estruturas se originaram e já são funcionais para a atração e proteção, como são as brácteas, laticíferos e nectários (PRENNER E RUDALL, 2007). Dessa forma, estas estruturas recebem destaque na polinização e garantem o desenvolvimento completo das inflorescências e suas flores, mesmo que as inflorescências e os verticilos florais estejam diminuindo de tamanho e em número (GAGLIARDI *et al.*, 2016).

A família Euphorbiaceae está bem representada na flora brasileira, com aproximadamente 1.000 espécies de 70 gêneros que ocupam diversos tipos de vegetações, como são os casos de gêneros com ampla distribuição, *Croton* L., *Acalypha* L., *Cnidoscolus* Pohl., *Dalechampia* L., *Jatropha* L. e *Manihot* Müll., e o gênero amazônico *Hevea* Aubl. (SOUZA; LORENZI, 2005).

A subfamília Crotonoideae *s.l.* abrange 12 tribos e 74 gêneros (WEBSTER, 1994a, RADCLIFFE-SMITH, 2001), dividida em quatro clados: crotonoides articulados, crotonoides inaperturados, representantes da tribo Gelonieae, e o que seria o quarto clado, formado pela tribo Adenoclineae, está mais relacionado com a subfamília Acalypheae. Este fato confirma que as sinapomorfias, como a presença da laticíferos e de pólen crotonoide, não são suportadas por estudos moleculares (WURDACK *et al.*, 2005).

A tribo Manihoteae pertence ao clado de crotonoide articulado e apresenta características como laticíferos articulados e grãos de pólen 3-nucleados (WURDACK *et al.*, 2005). A flor da mandioca foi descrita por Toledo que estudou a anatomia das flores de *Manihot utilissima* Pohl. e o resultado desse trabalho foi a primeira descrição anatômica da parte reprodutiva para a espécie e para o gênero *Manihot*. De acordo com as observações de Toledo (1963), foram descritas plantas monóicas, flores pistiladas e estaminadas apétalas e em panículas terminais ou axilares. As flores pistiladas de 1 cm de comprimento são maiores que as estaminadas e possuem 5 sépalas livres, ovário cônico glabro tricarpelar

triovulado, disco grosso quase lobulado. As flores estaminadas tem 7 ou 8 mm com cálice campanulado 5-partido, disco 10-lobulado glabro, estames alternos aos lobos do disco, filamentos estaminais glabros 5 mais grossos e altos e 5 mais finos baixos, rudimento do ovário ausente (TOLEDO, 1963).

O gênero *Manihot* Müll. é representado pela espécie da mandioca, pertencente à subfamília Crotonoideae, são subarbustos, arbustos ou lianas monóicas, raramente dióicas. Este táxon é sustentado pela morfologia da flor, de inflorescências terminais ou axilares do tipo panícula ou racemo, sendo as flores pistiladas e estaminadas monoclamídeas com sépalas livres ou parcialmente conatas, respectivamente. Mais características da flor díclina ainda são definidas para *Manihot*, que apresentam o disco nectarífero geralmente inteiro, ovário trilocular e estames-10 em dois ciclos (HURBATH *et al.*, 2016). Portanto, ambos os estudos que distam mais de 50 anos um do outro, de forma geral, apresentaram as mesmas descrições morfológicas para as flores do gênero *Manihot*.

Outro estudo importante também foi desenvolvido no mesmo trabalho de Toledo (1963), que além de descrever as características morfológicas de *Manihot*, fez a descrição do desenvolvimento das flores de *Manihot utilissima* Pohl. Para tanto, foi necessário analisar a anatomia floral sob os aspectos da origem, diferenciação celular e disposição do sistema vascular dos órgãos reprodutivos e de outros filamentos desde a fase dos botões florais.

Os estudos anatômicos e ontogenéticos sobre os órgãos reprodutivos de Euphorbiaceae são escassos, sobretudo, importantes para o esclarecimento e confirmação de resultados morfológicos, que usualmente estão fundamentados em observações (OLIVEIRA E OLIVEIRA, 2009).

Manihot tripartita (Euphorbiaceae, Crotonoideae), conhecida popularmente como mandioca-brava, é uma espécie arbustiva com ocorrência em fisionomias do cerrado *sensu lato* (DURIGAN *et al.*, 2004). Esta espécie apresenta ovário trilocular e fruto do tipo cápsula septi-loculicida, com laticíferos ramificados (OLIVEIRA E OLIVEIRA, 2009).

M. tripartita será foco deste atual trabalho para que a anatomia e a ontogenia das suas flores sejam analisadas e descritas. A partir desses novos estudos para esta espécie, será possível fazer a investigação das características que *M. tripartita* compartilha com o grupo taxonômico ao qual pertence. Assim, a relação filogenética dessa espécie com a família Euphorbiaceae e a filogenia da própria família serão discutidas e definidas baseando-se em atributos anatômicos e ontogênicos.

A tribo Micrandreae pertence ao clado de crotonoide articulado e apresenta características como laticíferos articulados e grãos de pólen 3-nucleados (WURDACK *et al.*, 2005). O gênero *Hevea* Aubl. também pertence à subfamília Crotonoideae (RADCLIFFE-SMITH, 2001) está representado pela seringueira *Hevea brasiliensis*, produtora do látex (44,3%) de maior concentração de borracha seca (Dry Rubber Concentration- DRC), quando comparado com o látex produzido por outras famílias, como em Apocynaceae (15,5%) e Moraceae (15–30%) (MOOIBROEK; CORNISH, 2000). E pela qualidade da matéria prima superior à borracha sintética, é que a borracha natural tem grande importância econômica (GOUVÊA, 2009). As espécies desse gênero têm hábito arbóreo, sendo as inflorescências monóicas, com flores monoclamídeas com cálice de 5 sépalas e, díclinas, a estaminada com 5–10 estames unidos em coluna, 1–2 seriados alternando com as sépalas, anteras sésseis, disco glandular 5, e a pistilada com 3(4) estiletes, um óvulo por lóculo 3(4), disco glandular diminuto ou ausente (RADCLIFFE-SMITH, 2001).

Uso da anatomia floral para resolução de problemas morfológicos

A observação de formas externas da flor sugere a descrição de suas características morfológicas, as quais podem ser reconhecidas ao olho nu ou com auxílio de lentes. Sobretudo, é por meio deste estudo de morfologia floral e suas técnicas que as partes da flor podem ser identificadas quanto à sua forma, tamanho e número. Entretanto, apenas com a morfologia não é possível saber sobre a origem semelhante ou diferente destes verticilos, ou

seja, se há similaridades entre as estruturas florais. Para tanto, o estudo de anatomia floral é usado para resolver algumas questões morfológicas e sobre a origem das estruturas das flores (PURI, 1951).

A complexidade morfológica provocada pela fusão, adnação e conação de órgãos, podem ser esclarecidas pelo estudo anatômico (EAMES, 1931). Um ramo desse estudo é a anatomia vascular, pois os feixes vasculares são características mais conservadas que a morfologia externa, e por isso, tem valor na ancestralidade da flor (HENSLOW, 1888; ARBER, 1931).

As modificações no plano vascular e na forma da flor são eventos que podem acontecer durante a evolução das espécies. A transformação da forma desses órgãos florais pode afetar mais ou menos a vascularização, que pode ser reduzida ou ampliada para acompanhar o tamanho do órgão floral modificado. O tecido vascular pode ser distinto nos diferentes verticilos da flor, sendo que essas diferenças em tamanho e número são causadas pelo próprio funcionamento fisiológico desse tecido. A vascularização pode ter um plano vascular típico e fundamental e, a partir desse, se diferenciar em numerosas modificações (PURI, 1951). Por exemplo, para a família Fumariaceae foi constatado que os nectários formavam-se a partir da base dos estames e que feixes vasculares irrigavam ambas as estruturas, demonstrando que a origem pode ser a mesma (ARBER, 1933; FELDHOFFEN, 1933; NORRIS, 1941).

As glândulas e nectários em Euphorbiaceae já foram interpretados como sépalas, pétalas e estípulas, antes de receberem a descrição como tal. Entretanto, os estudos em anatomia vascular demonstraram que essas estruturas são diferenciadas e não foram originalmente formadas para fazer a secreção de substâncias (HABER, 1925). A presença de pétalas em um tipo floral, estaminado ou pistilado, é apontada como uma característica compartilhada entre alguns representantes dos crotonoides inaperturados das Crotonoideae (WURDACK *et al.*, 2005). Os gêneros *Croton* e *Astraea*, por exemplo, apresentaram

características semelhantes no desenvolvimento dos seus tipos florais. Nas flores estaminadas há a presença de cálice e corola. Já nas flores pistiladas foram observados o cálice e um verticilo com cinco estruturas filamentosas, na posição correspondente às pétalas. Essas estruturas filamentosas foram interpretadas como pétalas reduzidas e modificadas (DE-PAULA *et al.*, 2010).

Os gêneros *Hevea* e *Manihot* possuem apenas o cálice, o que é a exceção entre as Crotonoideae, as quais, em geral, apresentam os dois verticilos. Apesar de não apresentarem pétalas, as flores pistiladas de *Hevea* possuem estruturas filamentosas, que neste caso foram consideradas estaminódios, semelhantes às identificadas em *Croton* e *Astraea* (NAIR E ABRAHAM, 1962; VENKATA-RAO E RAMALAKSHMI, 1968). Recentemente, as flores de *Manihot tripartita* e de *H. brasiliensis* foram analisadas com microscopia de luz, mostrando a presença de estruturas alongadas posicionadas internamente ao cálice. Estas observações motivaram ao prosseguimento dos estudos com as flores pistiladas e estaminadas para o esclarecimento sobre a origem e desenvolvimento dessas estruturas.

Objetivos

Geral

Estudar a morfologia das flores pistiladas e estaminadas de *Manihot tripartita* e *Hevea brasiliensis*.

Específicos

Estudar a morfologia dos verticilos florais e de estruturas filamentosas nas flores pistiladas e estaminadas de *M. tripartita* e *H. brasiliensis*, para responder algumas questões:

1. Qual é o padrão de vascularização dos verticilos florais nas flores pistiladas e estaminadas?
2. Qual o grau de redução do perianto nessas espécies?

3. Qual o grau de redução dos estames nas flores pistiladas?
4. Qual o grau de redução do gineceu das flores estaminadas?
5. É possível determinar qual a origem das estruturas filamentosas presentes em ambos as espécies?

Material e métodos

Foram utilizados métodos de análise da anatomia floral através de microscopia óptica para fazer a observação da estrutura e vascularização das flores pistiladas e estaminadas das espécies *Manihot tripartita* e *Hevea brasiliensis*, ambas da subfamília Crotonoideae (Euphorbiaceae s.s.).

As inflorescências coletadas no período de floração das espécies, principalmente aquelas que estavam ainda com os botões florais, receberam diferentes preparações, seguindo desde métodos para armazenagem até análises de imagens.

Após a coleta, todo o material vegetal para estudos anatômicos foi fixado em solução de FAA 50 (JOHANSEN, 1940) e conservado em álcool 70% (JENSEN, 1962). A etapa seguinte foi selecionar as flores em estágios de botão, para passarem por desidratação em série etílica e de inclusão em metacrilato Histo-resina Leica®, segundo as normas do fabricante. Esta última correspondeu à infiltração da mistura resina mais polimerizador nas amostras vegetais para o posterior emblocamento em moldes plásticos.

As secções com espessura de 6 µm foram obtidas através de um micrótomo rotativo Leica® e dispostas na sequência seccionada sobre as lâminas histológicas. Depois que os cortes foram distendidos e secos sobre as lâminas, passaram pela etapa de coloração utilizando-se o corante azul de toluidina a 0,05% em tampão acetato, pH 4,7 (O'BRIEN *et al.*, 1964 modificado). Para finalizar a montagem das lâminas permanentes, aplicou-se Entellan para cobrir a área dos cortes já corados, e por último, a lamínula foi sobreposta. A análise, investigação e interpretação da anatomia floral em geral, e para as estruturas

anatômicas peculiares ao estudo, foram realizadas através da microscopia óptica, utilizando o microscópio Olympus BX51. As fotomicrografias dos cortes histológicos foram registradas por uma câmera Olympus DP70 acoplada ao microscópio óptico. Algumas destas foram selecionadas para edição pelo programa Adobe Photoshop CC e organizadas para compor as pranchas de ilustração.

Resultados

Hevea brasiliensis

Flor pistilada (Fig. 1)

As flores pistiladas de *Hevea brasiliensis* são pediceladas (Fig. 1a–b). O perianto é composto somente pelas cinco sépalas conatas (Fig. 1e–k). O nectário é inconspícuo e restrito à base das sépalas (Fig. 1e–f). O gineceu é composto por três carpelos conatos no ovário e estilete, e livres no estigma (Fig. 1i–k). Cada carpelo possui somente um óvulo anátropo com placentação apical (Fig. 1g–h). O estilete é curto e o estigma ramificado (Fig. 1j–k).

O pedicelo é vascularizado por um eustelo (Fig. 1b). Na base do receptáculo, três traços migram para cada sépala. Os traços laterais são compartilhados pela sépalas vizinhas (Fig. 1c–e). Para o nectário, são emitidos dez traços, cinco alternos e cinco opostos aos traços de sépalas (Fig. 1d–f). Para o gineceu, foram observados três traços (Fig. 1e–f). Cada um destes traços divide-se em três resultando em carpelo vascularizados por um traço dorsal e dois ventrais (Fig. 1f–h). Cada feixe ventral funde-se à outro ventral do carpelo vizinho (Fig. 1f–i). No nível da placenta, os feixes ventrais separam-se e fundem-se com outro ventral, agora, do mesmo carpelo e divergem em direção ao óvulo (Fig. 1h). O estigma é vascularizado somente pelo feixe dorsal (Fig. 1j–k).

Flor estaminada (Fig. 2)

As flores estaminadas de *Hevea brasiliensis* são pediceladas (Fig. 2a–b) e seu perianto é, também, composto somente pelas cinco sépalas conatas (Fig. 2e–k). O nectário está ausente (Fig. 2a–k). O androceu e gineceu são unidos (adnatos) ao androginóforo (Fig. 2a,g–k). O androceu é composto por dois verticilos de cinco estames cada (Fig. 2h–i). As anteras são tetraesporangiadas com abertura longitudinal (Fig. 2j). O pistilódio é longo, não possui lóculos nem diferenciação em estilete e estigma (Fig. 2j–k).

O pedicelo é vascularizado por um eustelo (Fig. 2b). Na base do receptáculo, três traços migram para cada sépala e também os traços laterais são compartilhados pelas sépalas vizinhas (Fig. 2c–f). Para o androceu, são emitidos dois verticilos de cinco traços cada (Fig. 2g–h). O primeiro é alterno às sépalas e o segundo é oposto a elas e alternos ao primeiro (Fig. 2g–h). Cada estame recebe somente um traço (Fig. 1h–i). O pistilódio recebe dois traços que permanecem como feixes até o ápice (Fig. 2h–k).

Manihot tripartita

Flor pistilada (Fig. 3)

As flores pistiladas de *Manihot tripartita* são pediceladas (Fig. 3a–b) com perianto composto por somente cinco sépalas (Fig. 3d–g). O androceu possui dez estaminódios, cinco alternos e cinco opostos às sépalas (Fig. 3d–g). O nectário é conspicuo e lobado. Seus lobos são alternos e internos aos estaminódios (Fig. 3a–d). O gineceu é composto por três carpelos conatos ao longo do ovário e estilete e livres na altura do estigma (Fig. 3a, g–j). Cada lóculo possui somente um óvulo (Fig. 3g–i). O estilete é curto e o estigma ramificado (Fig. 3a–k).

O pedicelo é vascularizado por um sifonostelo (Fig. 3b). Na base do receptáculo, três traços migram para cada sépala e, assim como em *Hevea brasiliensis*, os laterais são compartilhados pelas sépalas vizinhas (Fig. 3c). Para os estaminódios, são emitidos dez traços, cinco alternos e cinco opostos aos traços de sépalas (Fig. 3d–f). Em direção ao

nectário, partem ramificações dos traços de estaminódios que se ramificam novamente dentro do tecido secretor (Fig. 3d–f). Para o gineceu, são emitidos três traços que se ramificam em três gerando seis traços (Fig. 3g–k). Cada carpelo recebe um traço dorsal e dois ventrais (Fig. 3g–h). Cada feixe ventral funde-se à outro ventral do carpelo vizinho (Fig. 3h). Na região apical do ovário, os feixes ventrais separam-se e fundem-se com outro ventral, agora, do mesmo carpelo e divergem em direção ao óvulo (Fig. 3i). O estigma é vascularizado somente pelo feixe dorsal que se bifurca na região apical do estilete (Fig. 3g–h).

Flor estaminada (Fig. 4)

As flores estaminadas de *Manihot tripartita* também são pediceladas (Fig. 4a–b). O perianto é composto somente pelas cinco sépalas conatas na base (Fig. 4e–i) e livres no ápice (4j–k). O nectário possui dez lobos assim como na flor pistilada (Fig. 4e–f). O androceu é composto por dois verticilos de cinco estames cada, o primeiro alterno e o segundo oposto às sépalas (Fig. 4e–k). As anteras são tetraesporangiadas com abertura longitudinal (Fig. 4g–k). O pistilódio não possui lóculos nem diferenciação em estilete e estigma (Fig. 4j–k).

O pedicelo é vascularizado por um sifonostelo (Fig. 4b). Na base do receptáculo, três traços migram para cada sépala e, assim como em *Hevea* e na flor pistilada de *Manihot*, os traços laterais são compartilhados entre as sépalas vizinhas (Fig. 4c–f). Para o androceu, são emitidos dois verticilos de cinco traços cada, um alterno e outro oposto às sépalas (Fig. 4d–h). Cada estame recebe um traço (Fig. 4h–i). O nectário recebe ramificações dos traços de estame que ainda se ramificam novamente dentro do tecido secretor e o vascularizam. O pistilódio recebe dois traços que permanecem como feixes até o ápice (Fig. 4g–h).

Discussão

O monofiletismo em Euphorbiaceae *s.l.* não se sustentou porque considerava em todos seus representantes a presença de um óvulo por lóculo (CHASE *et al.*, 2002). Dessa forma, a família foi desmembrada e os indivíduos uniovulados permaneceram em Euphorbiaceae *s.s.*, enquanto aqueles que são biovulados passaram a fazer parte de Phyllanthaceae e Picrodendraceae, todas essas famílias pertencentes à Malpighiales (APG IV, 2016). Ambas as espécies do nosso estudo *Hevea brasiliensis* e *Manihot tripartita* são uniovuladas, garantindo sua permanência no grupo das Euphorbiaceae *s.s.*

Como resultados dessas modificações na filogenia da ordem Malpighiales e o surgimento de outros clados, os estudos do desenvolvimento floral são necessários para esclarecer sobre suas estruturas, biologia e evolução (ENDRESS, 2011; ENDRESS *et al.*, 2013).

A tribo Pereae de Euphorbiaceae *s.l.* tinha um posicionamento basal dentro da família devido às flores unissexuadas e inflorescências em glomérulos (WEBSTER, 1994a, 1994b). Atualmente, essa tribo foi elevada à família Peraceae, sendo conhecida por conter pseudanto (DAVIS *et al.*, 2007; WURDACK E DAVIS, 2009). O estabelecimento de Peraceae como família foi considerado para reconhecer o monofiletismo em Euphorbiaceae (STEVENS, 2014).

Em Euphorbiaceae, as flores ocorrem solitárias ou em inflorescências e são geralmente unissexuais, ocupando posição terminal, axilar ou lateral. As inflorescências variam quanto à disposição de suas flores em cimosa, tirsiforme, paniculada, racemosa ou pseudanto com duas brácteas involucrais como em *Dalechampia* ou pseudanto do tipo ciático com brácteas conatas, em *Euphorbia* (HURBATH *et al.*, 2016). Nesse último caso, o pseudanto é o conjunto de flores estaminadas reduzidas em estames e somente uma flor pistilada no centro da inflorescência, representando a sinapomorfia que sustenta o

monofiletismo do gênero *Euphorbia* (HORN *et al.* 2012; DORSEY *et al.* 2013; HURBATH *et al.*, 2016).

Nas subfamílias de Euphorbiaceae s.s., o pseudanto ocorre em *Dalechampia* (Acalyphoideae) e *Euphorbia* (Euphorbioideae), mas não ocorre em *Joannesia* (Crotonoideae) e *Cheilosa* (Cheilosoideae) (WURDACK *et al.*, 2005; HURBATH *et al.*, 2016). O estudo da filogenia mostra as relações entre as subfamílias em que Acalyphoideae e Cheilosoideae são mais basais, enquanto Crotonoideae é intermediária e Euphorbioideae é a mais derivada (WURDACK *et al.*, 2005). Na evolução da ordem Malpighiales é possível que a redução floral tenha acontecido pelo menos uma vez em Euphorbiaceae e outra em Peraceae (WURDACK *et al.*, 2005; PRENNER E RUDALL, 2007; WURDACK E DAVIS, 2009). A complexidade da redução floral em *M. tripartita* e *H. brasiliensis* não resultou na formação de pseudantos do tipo ciático. Apesar do perianto ser incompleto nas flores estaminadas e pistiladas, nenhum dos morfos florais está reduzido apenas ao seu órgão reprodutivo e também não se apresentam circundados por um involúcro (PRENNER *et al.*, 2011). As inflorescências de ambas as espécies são panículas determinadas, em que a flor pistilada monoclamídea ocupa o ápice do eixo principal.

Crotonoideae é composta por mais de 2000 espécies, divididas em 12 tribos e 68 gêneros, dos quais os mais representativos são *Croton*, *Jatropha* e *Manihot* (STEVENS, 2014). A presença do pólen crotonoide e de laticíferos eram consideradas sinapomorfias, o que não se confirmou por meio de estudos moleculares (WURDACK *et al.*, 2005). Entretanto, a presença de vascularização no tegumento interno do óvulo é considerada uma sinapomorfia dos crotonoides (TOKUOKA E TOBE, 1998; WURDACK *et al.*, 2005; TOKUOKA, 2007). Em *H. brasiliensis* e *M. tripartita*, o tegumento interno do óvulo é vascularizado pelo feixe ovular, que é uma ramificação do feixe vascular ventral do carpelo.

A maioria das angiospermas apresenta o perianto composto por dois verticilos com posições definidas e geralmente, diferenciados pela cor, morfologia, funções, padrões de

desenvolvimento (ENDRESS, 1994) e vascularização (PURI, 1951; ENDRESS, 1994; BACHELIER E ENDRESS, 2009). Em Euphorbiaceae, geralmente as flores são unissexuadas, mas podem ser bissexuadas e, em ambas as pétalas são os órgãos que mais estão ausentes ou reduzidos (RADCLIFFE-SMITH, 2001).

Nas Euphorbiaceae, em geral, o perianto pode ser completo ou não (DE-PAULA *et al.*, 2010), e no caso de *H. brasiliensis* e *M. tripartita*, apenas o cálice está presente e não há vestígio da formação de pétalas. Mesmo que mudanças ocorram na morfologia externa de uma flor, os feixes vasculares são caracteres muito mais conservados durante a evolução das flores (HENSLOW, 1888; ARBER, 1931). Entretanto, no caso dessas espécies, os traços de pétalas também não foram conservados.

As Malpighiales tem inflorescências que podem ter morfologia bastante diversificada, sendo grande e elaborada como as flores em Passifloraceae, ou reduzida como é o pseudanto em Euphorbiaceae (STEVENS, 2001). Em estudos sobre pseudanto, observa-se a condição do perianto ser ausente ou ter presença vestigial nas flores que compõem essa inflorescência (PRENNER *et al.*, 2011; PRENNER E RUDALL, 2007).

CUCO (1997) observou que *H. brasiliensis* possui uma flor bissexuada no ápice da panícula determinada. DORNELAS E RODRIGUEZ (2005) confirmaram a presença de flores bissexuadas e estudando as flores de clones dessa espécie, analisaram que a diferenciação dos meristemas florais ocorre de forma centrípeta e que dois primórdios de tépalas marcavam o início da diferenciação.

Não verificamos a formação de tépalas em *H. brasiliensis* e *M. tripartita*, entretanto, observamos que as cinco sépalas são vascularizadas por três feixes e que os traços de sépalas foram os primeiros a se diferenciarem no sifonostelo. Diferente das sépalas que são irrigadas por três feixes vasculares, as pétalas apresentam apenas um feixe que pode se bifurcar mais de uma vez em todo o comprimento da lâmina (PURI, 1951; ENDRESS, 1994). Portanto, a análise da morfologia externa de sépalas e pétalas não seria suficiente

para a identificação desses órgãos florais (ENDRESS, 1994). O surgimento tardio das pétalas pode explicar a sua variabilidade morfológica e sua origem a partir de outros elementos florais, tais como de estames com os quais as pétalas compartilham semelhanças ontogenéticas e anatômicas (KOSUGE, 1994).

O gênero *Hevea* possui inflorescências pseudopaniculadas ou cimosas, sendo a maioria das flores estaminadas com 5-10 estames adnatos ao pistilódio, e que a uma única flor feminina ocupa posição central no ápice do eixo principal (RADCLIFFE-SMITH, 2001). Nossos resultados confirmam essa descrição, em que *H. brasiliensis* tem inflorescência do tipo panícula, uma flor pistilada, monoclamídea com sépalas conatas na base e ápice imbricado, tricarpelar e carpelos que são vascularizados por feixes ventral e dorsal.

O gênero *Manihot* apresenta inflorescências do tipo racemo ou panícula, geralmente monóicas e díclinas, com flores apétalas e uma flor feminina basal (RADCLIFFE-SMITH, 2001). Em *Manihot utilissima*, a flor feminina é vascularizada: 5-sépalas por três feixes cada, 3- carpelos por três feixes, disco nectarífero 10- lobulado por ramificações dos feixes de estaminódios e 10- estaminódios com um feixe cada. A flor masculina não possui estaminódios, assim, o disco nectarífero é vascularizado por ramificações dos 10-feixes dos estames que se originam direto do eustelo (TOLEDO, 1963). O padrão de vascularização dos órgãos florais foi o mesmo em *M. tripartita*, o que se confirmou quanto à vascularização das sépalas, estames, carpelos, estaminódios e disco nectarífero.

O padrão de vascularização no cálice, androceu e gineceu apresentado por ambas as espécies estudadas neste trabalho, segue o plano fundamental proposto por Puri (1951), baseado em uma flor pentacíclica, considerando os verticilos: 1-sépala, 1-pétala, 2-estames e 1-carpelo. Esse modelo de anatomia vascular em que sépalas, pétalas, estames e carpelo,

possuem 3, 1, 1 e 3 traços vasculares, respectivamente, é adotado para as Angiospermas (PURI, 1951; ENDRESS, 1994; BACHELIER E ENDRESS, 2009).

Ao contrário dessas estruturas florais que tem uma posição conservada no grupo das Angiospermas, os nectários podem ocupar diferentes posições na planta e se desenvolver na superfície ou internamente aos outros órgãos florais (FAHN, 1979; SIMPSON E NEFF, 1983). Quanto à origem de nectários florais, pode ser carpelar (WOODSON & MOORE, 1938; FAHN, 1979), receptacular (MARTINS, 2008), petalar (NARAYANA *et al.*, 1986) e estaminal (CREPET E NIXON, 1996). Os nectários podem derivar de brácteas, que são estruturas anatomicamente semelhantes e exercem a proteção das flores e inflorescências, principalmente quando o perianto está ausente ou reduzido (GAGLIARDI *et al.*, 2016). A origem de nectários a partir de pétalas foi sugerida em *Croton triqueter* e *Croton fuscescens*, onde os traços de sépalas são alternos aos traços dos lobos dos nectários (DE-PAULA *et al.*, 2010).

A presença de nectários já foi descrita para as flores estaminadas de *H. brasiliensis*, mas essas estruturas não foram identificadas nas flores pistiladas (RADCLIFFE-SMITH, 2001; GOUVÊA, 2009). Ao contrário disso, observou-se na flor pistilada, a existência de nectários, cujos traços vasculares são alternos e opostos aos traços das sépalas, sugerindo que os nectários estão ocupando a posição de estames. Essa alternância entre os traços de sépalas e dos dois verticilos de estames está apresentada no modelo de vascularização (PURI, 1951). Em *Croton sarcopetalus*, além dos nectários vascularizados com origem a partir do verticilo interno de estames, há outro verticilo secretor, formado por estruturas filamentosas, cuja a origem é petalar (DE-PAULA *et al.*, 2010). Entretanto, como a flor estaminada de *H. brasiliensis* não apresentou nectário, permite a interpretação que os nectários presentes somente na flor pistilada são estruturas homólogas aos verticilos de estames.

NAIR E ABRAHAM (1962) identificaram em flores pistiladas do gênero *Hevea*, algumas estruturas filamentosas que são vascularizadas, classificando-as como estaminódios. Normalmente, os nectários são vascularizados por proeminente sistema vascular para condução de néctar (ENDRESS, 1994; GAGLIARDI *et al.*, 2016), o que reforça que as estruturas vascularizadas apresentadas pela flor pistilada de *H. brasiliensis* são nectários.

A presença de disco nectarífero inteiro e lobado é uma característica do gênero *Manihot*, embora *M. sparsifolia* tenha um nectário composto por glândulas livres derivadas de pétalas (HURBATH *et al.*, 2016). Em outros gêneros de Euphorbiaceae, os nectários já receberam classificações como sendo estaminódios (MICHAELIS, 1924) ou discos nectaríferos (CARUZO E CORDEIRO, 2007), antes mesmo de ter uma origem definida (DE-PAULA *et al.*, 2010). Nas análises de anatomia vascular floral de *M. tripartita*, constatou-se a ausência de pétalas e a presença de disco nectarífero em ambos os morfos, enquanto, os estaminódios estão presentes somente nas flores pistiladas. Por meio dessa interpretação, sugere-se que os estaminódios não tenham origem petalar.

RADCLIFFE-SMITH (2001) descreveu para a flor estaminada de *Manihot*, a inserção de estames entre os lobos do disco nectarífero, sendo a mesma posição identificada para os estames de *M. tripartita*. Tanto estaminódios como estames dos morfos diferentes são vascularizados por um feixe cada, sendo os traços vasculares dessas estruturas que ramificam-se para vascularizar os nectários, assim como foi descrito para as flores de *M. utilisima* (TOLEDO, 1963).

Nas Crotonoideae, a posição alterna é a mais frequente entre o ciclo externo de estames e sépalas (DE-PAULA *et al.*, 2010). Em *M. tripartita*, os estames ocorrem em dois ciclos que alternam entre si, sendo o primeiro alterno às sépalas. Já os estaminódios estão distribuídos no mesmo plano transversal, mas em relação às sépalas, alguns estão alternados e outros opostos. Foi possível observar que os traços de estaminódios não emergem

simultaneamente, sendo que aqueles alternos às sépalas foram os primeiros a se desenvolverem e vascularizar os órgãos. Portanto, sugere-se que todos esses estaminódios tenham a origem estaminal, formando um verticilo completo de estaminódios a partir de estames que tornaram-se estéreis (RONSE DECRAENE E SMETS, 2001), tanto no caso de *H. brasiliensis* quanto em *M. tripartita*.

Nos nectários da flor de *M. utillissima*, existe uma grande quantidade de laticíferos associados principalmente aos feixes vasculares que se ramificam até o nectário (TOLEDO, 1963). Os laticíferos também estão distribuídos por outros órgãos, como brácteas, pétalas e sépalas (GAGLIARDI *et al.*, 2016). A presença ou ausência e os tipos de laticíferos foram características importantes para a organização das subfamílias de Euphorbiaceae (RUDALL, 1987; WEBSTER, 1994a; GAMA *et al.*, 2016).

Os laticíferos são estruturas simples ou compostas que secretam látex, classificados como inarticulados e articulados, respectivamente (EVERT, 2006; ALDHEBIANI E JURY, 2013). Nas subfamílias de Euphorbiaceae, podem ocorrer os laticíferos articulados e/ou inarticulados. A ocorrência dos laticíferos inarticulados é a mais comum em espécies das famílias Apocynaceae, Euphorbiaceae, Moraceae e Urticaceae (KHAN, 2001), caracterizados como um conjunto ramificado de células longas (DUSSOURD E DENNO, 1991; KHAN, 2001; PICKARD, 2008).

Nas flores de *H. brasiliensis* e *M. tripartita*, foram identificadas duas estruturas morfológicamente diferentes, os laticíferos e os nectários, porém relacionadas quanto à anatomia glandular. Geralmente, são conhecidas como estruturas secretoras e tem funções de proteção e atração, o que pode significar a garantia do desenvolvimento de flores e inflorescências e o sucesso na polinização (GAGLIARDI *et al.*, 2016). Contudo, há outros casos, em que o nectário na base do ovário não tem atividade secretora (LIN E BERNARDELLO, 1999).

Os nectários florais podem produzir néctar que serve de recompensa aos polinizadores (BEATTIE E HUGHES, 2002; VARASSIN *et al.*, 2012). Em *Croton suberosus*, há uma interação inseto-planta, em que as vespas polinizam e defendem as flores contra a herbivoria (NARBONA E DIRZO, 2010). Nas flores pistiladas de *C. sarcopetalus*, o nectário floral continua produzindo néctar durante o amadurecimento do fruto (FREITAS *et al.*, 2008).

Os nectários em *H. brasiliensis* e os estaminódios em *M. tripartita* de flores pistiladas, compartilham a mesma origem, posição e vascularização dos verticilos de estames da flor estaminada. Entretanto, esses novos órgãos florais não assumem a mesma morfologia externa de estames, porque podem realizar funções diferentes destes. A formação de estaminódios podem ser entendida como a modificação de estames em formas especializadas ou como a regressão de estames em órgãos vestigiais (RONSE DECRAENE E SMETS, 2001). O próprio estaminódio pode estar em diferentes estágios de redução ou já assumir a condição de estaminódio vestigial (PENNINGTON, 1991), retendo a vascularização do órgão de origem, ou não, nesse caso, porque o feixe não atinge o órgão ou já foi perdido (ARBER, 1933; RAGHAVAN, 1939).

Considerações Finais

Este trabalho contribuiu para o esclarecimento das investigações sobre a homologia, disposição e vascularização dos verticilos florais. Entretanto, ainda são necessários mais estudos baseados na morfologia e anatomia vascular para que toda esta família seja contemplada.

As evidências morfológicas, as modificações estruturais e a manutenção de características do sistema vascular revelam a história evolutiva dessas espécies de Euphorbiaceae, colaborando para a solução e descobertas de padrões que essa família está assumindo ao longo da evolução.

O desenvolvimento floral estudado por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) poderá explicar e confirmar a posição e organização que surgem os verticilos florais nas flores de *M. tripartita* e *H. brasiliensis*. Por meio do MEV, a morfologia externa pode ser o foco de um estudo para evidenciar e caracterizar esses verticilos.

Referências bibliográficas

- AIRY SHAW, H. K. **Diagnoses of new families, new names etc., for the seventh edition of Willis's Dictionary**. Kew Bulletin, 1965. 18: 249–273. <https://doi.org/10.2307/4109246>
- _____. **Notes on Malaysian Euphorbiaceae**. Kew Bulletin, 1966. 20: 38–45.
- ALDHEBIANI, A.; JURY, S. **Anatomical studies on the genus *Euphorbia* L. Saudi Arabia (Subgenera: Triucalli, Ermophyton, Esula and Chamaesyce)**. International Journal of Plant Sciences, 2013. 6: 168–191.
- APG II. **An update of the Angiosperms Phylogenetic Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II**. Botanical Journal of the Linnean Society, 2003. 141: 399–436. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2003.t01-1-00158.x>
- APG IV. **An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV**. Botanical Journal of the Linnean Society, 2016. 181: 1–20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- ARBER, A. **On the structure of the androecium in *Parnassia***. Annals of Botany, 1933. 27: 491–510. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a089471>

_____. **Studies in floral morphology III.** On the Fumarioideae with special reference to the androecium. *New Phytologist*, 1931. 30: 317–354. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1931.tb07426.x>

BACHELIER, J. B.; ENDRESS, P. K. **Comparative floral morphology and anatomy of Anacardiaceae and Burseraceae (Sapindales), with a special focus on gynoecium structure and evolution.** *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2009. 159: 499–571. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00959.x>

BEATTIE, A. J.; HUGHES, L. **Ant-plant interactions.** In: Herrera, C. M. and Pellmyr, O. (eds.) *Plant-animal interaction: an evolutionary approach.* Blackwell Sciences Ltd. Great Britain, 2002. 8: 211–235.

CARUZO, M. B. R.; CORDEIRO, I. **Sinopse da tribo *Crotoneae* Dumort. (Euphorbiaceae s.s.) no Estado de São Paulo, Brasil.** *Hoehnea*, 2007. 34: 571–585. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062007000400011>

CHASE, M. W. et al. **Phylogenetics of seed plants:** An analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 1993. 80: 528 – 580. <https://doi.org/10.2307/2399848>

_____. **When in doubt, put in Flacourtiaceae:** a molecular phylogenetic analyses based on plastid *rbcL* DNA sequences. *Kew Bulletin*, 2002. 57: 141–181. <https://doi.org/10.2307/4110825>

CUCO, S. M. **Caracterização citomorfológica da seringueira *Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell Arg.** Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997. pp.137.

DAVIS, C. C. et al. **Floral gigantism in *Rafflesiaceae*.** *Science*, 2007. 315: 1812. <https://doi.org/10.1126/science.1135260>

DE-JUSSIEU A. L. **Kingdom Plantae organized according to the order of the natural arrangements.** Heissant and Barrois, Paris, France, 1789.

- DE-PAULA O. C. et al. **Morphology, development and homologies of the perianth and floral nectaries in Croton and Astraea (Euphorbiaceae-Malpighiales).** Plant Systematics and Evolution, 2010. 292: 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00606-010-0388-9>
- DORNELAS, M. C; RODRIGUEZ, A. P. M. **The rubber tree (*Hevea brasiliensis* Mull. Arg.) homologue of the *LEAFY/FLORICAULA* gene is preferentially expressed in both male and female floral meristems.** Journal Experimental Botany, 2005. 56: 1965–1974. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri194>
- DORSEY, B. L. et al. **Phylogenetics, morphological evolution and classification of *Euphorbia* subgenus *Euphorbia*.** Taxon, 2013. 62: 291–315. <https://doi.org/10.12705/622.1>
- DURIGAN, G.; BAITELLO, J. B.; FRANCO, G. A. D. C.; SIQUEIRA, M. F. **Plantas do cerrado paulista: imagens de uma paisagem ameaçada.** Páginas & Letras Editora e Gráfica, São Paulo. 2004.
- EAMES, A. J. **The vascular anatomy of the flower with refutation of the theory of carpel polymorphism.** American Journal Botany, 1931. 18: 147–188. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1931.tb09580.x>
- ENDRESS, P. K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers.** 1994, Cambridge University Press, Cambridge.
- _____. **Evolutionary diversification of the flowers in angiosperms.** American Journal Botany, 2011. 98: 370–396. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000299>
- ENDRESS, P. K. et al. **Advances in the floral structural characterization of the major subclades of Malpighiales, one of the largest orders of flowering plants.** Annals of Botany, 2013. 111: 969–985. <https://doi.org/10.1093/aob/mct056>
- EVERT, R. F. **Esau's Plant Anatomy, Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: their Structure, Function and Development.** 3rd ed, 2006. <https://doi.org/10.1002/0470047380>

- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London, Academic Press, 1979.
- _____. **Plant anatomy**. Oxford, Pergamon Press. 4th ed, 1990.
- FELDHOFEN, E. **Contribution to the physiological anatomy of the nuptial nectaries from the series of dicots**. Booklets Botanical Central, 1933. 50: 459-634.
- FREITAS, L. et al. **Nectaries and reproductive biology of *Croton sarcopetalus* (Euphorbiaceae)**. Botanical Journal of the Linnean Society, 2008. 136: 267–277.
<https://doi.org/10.1006/bojl.2000.0437>
- GAGLIARDI, K. B.; CORDEIRO, I.; DEMARCO, D. **Protection and attraction: bracts and secretory structures in reduced inflorescences of Malpighiales**. Flora, 2016. 220: 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.02.003>
- GAMA, T. S. S.; CORDEIRO, I.; DEMARCO, D. **Floral Structure and Development Reveal Presence of Petals in *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae)**. International Journal of Plant Science, 2016. 177: 749–759. <https://doi.org/10.1086/688639>
- GOLDBERG, A. **Classification, Evolution and Phylogeny of the Families of Dicotyledons**. Washington: Smithsonian Institution Press, 1986. pp. 314.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.122566>
- GOUVÊA, L. R. L. **Divergência genética em seringueira estimada através de técnicas multivariadas e marcadores moleculares microsatélites**. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético Vegetal) – Pós-Graduação – IAC, 2009. pp.89.
- GOVAERTS, R. et al. **World checklist of Euphorbiaceae (and Pandaceae)**. Kew: Royal Botanic Gardens, 2000. pp.1661.
- HABER, J. M. **The anatomy and the morphology of the flower of *Euphorbia***. Annals of Botany, 1925. 89: 657–707. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a089972>
- HARBORNE, J. B. **Introduction to Ecological Biochemistry**. Academic Press, London, 4th ed, 1993.

- HENSLOW, G. **The origin of floral structures through insect and other agencies**. 1888. pp.347. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.24161>
- HORN, J.W. et al. **Phylogenetics and the evolution of major structural characters in the giant genus *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae)**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2012. 63: 305–326. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.12.022>
- HUBER, H. **Angiospermas: Guia através das ordens e famílias**. Fischer, Stuttgart, 1991.
- HURBATH, F. P. B.; CARNEIRO-TORRES, D. S.; ROQUE N. **Euphorbiaceae na Serra Geral de Licínio de Almeida, Bahia, Brasil**. *Rodriguésia*, 2016. 67: 489–531. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201667217>
- JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry: principles and practice**. W.H. Freeman, San Francisco, 1962.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. McGraw Hill Book, New York, 1940.
- KHAN, A. **Plant anatomy and physiology**. Gyan Publishing House, 2001.
- KOSUGE, K. **Petal evolution in Ranunculaceae**. *Plant Systematics and Evolution Supplement*, 1994. 8: 185–191. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6910-0_11
- LIN, S.; BERNARDELLO, G. **Flower structure and reproductive biology in *Aspidorperma quebracho-blanco* (Apocynaceae), a tree pollinated by deceit**. *International Journal of Plant Science*, 1999. 160: 869-878. <https://doi.org/10.1086/314187>
- MARTINS, F. M. **Glândulas foliares e florais em espécies de Apocynaceae de cerrado**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, 2008.
- MAUSETH, J. D. **Plant anatomy**. Benjamin, Cummings Publishing Company, U.S.A., 1998.
- MEEUSE, A. D. J. **The Euphorbiaceae auct.** An unnatural taxon. Eburon, 1990.

- MICHAELIS, P. **Estudos morfológicos de flores sobre as Euphorbiaceae, com especial atenção para a filogenia da flor das Angiospermas**. Botanische Abhandlungen, 1924. 3:1–150.
- MOOIBROEK, H.; CORNISH, K. **Alternative sources of natural rubber**. Applied Microbiology and Biotechnology, 2000. v.53, p.355–365. <https://doi.org/10.1007/s002530051627>
- MÜLLER, J. **Euphorbiaceae**. History of the system of natural vegetable kingdom, 1866. pp.1286.
- NAIR, N. C.; ABRAHAM, V. **Floral morphology of a few species of Euphorbiaceae**. Proceedings Indian Academy Science, 1962. 56: 1–12.
- NARAYANA, L. L., et al. **The floral anatomy of *Corynocarpus laevigatus* (Corynocarpaceae)**. Phytomorphology, 1986. 36:325–329.
- NARBONA, E.; DIRZO, R. **A reassessment of the function of floral nectar in *Croton suberosus* (Euphorbiaceae): a reward for plant defenders and pollinators**. American Journal of Botany, 2010. 97: 672–679. <https://doi.org/10.3732/ajb.0900259>
- NORRIS, T. **Torus anatomy and nectary characteristics as phylogenetic criteria in the Rhoeadales**. American Journal of Botany, 1941. 28: 101–113. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1941.tb07949.x>
- O'BRIEN, T. P. ; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. **Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O**. Protoplasma, 1964. 59: 368–373. <https://doi.org/10.1007/BF01248568>
- OLIVEIRA, J. H. G.; OLIVEIRA, D. M. T. **Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo de *Manihot caerulescens* Pohl e *M. tripartita* Mull. Arg. (Euphorbiaceae)**. Revista Brasileira de Botânica, 2009. 32: 117–129. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042009000100012>
- PENNINGTON, T. D. **Morphology of the genera Sapotaceae**. Royal Botanical Gardens, Kew England and New York Botanical Gardens, 1991. pp.75–85.

- PRENNER, G.; RUDALL, P. J. **Comparative ontogeny of the cyathium in Euphorbia (Euphorbiaceae) and its allies**: Exploring the organ-flower-inflorescence boundary. *American Journal of Botany*, 2007. 94:1612–1629. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.10.1612>
- PRENNER, G. et al. **Is LEAFY a useful marker gene for the flower-inflorescence boundary in the *Euphorbia* cyathium?** *Journal of Experimental Botany*, 2011. 62: 345–350. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq275>
- PURI, V. **The role of floral anatomy in the solution of morphological problems**. *The Botanical Review*, 1951. 17:471–553. <https://doi.org/10.1007/BF02882536>
- RADCLIFFE-SMITH, A. **Genera Euphorbiacearum**. Royal Botanic Garden, Kew, UK, 2001.
- RAGHAVAN, T. S. **Studies in the Capridaceae: Floral anatomy and some structural features of the Capridaceous flower**. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1939. 52:239–257. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1939.tb01603.x>
- RONSE DECRAENE, L. P.; SMETS, E. **Staminodes: their morphological and evolutionary significance**. *Botanical Review*, 2001, 67:351–402. <https://doi.org/10.1007/BF02858099>
- SIMPSON, B. B.; NEFF, J. L. **Evolution and diversity of floral rewards**. In: C.E. Jones, & R.J. Little (Eds.), *Handbook of experimental pollination biology*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983. pp.142–159.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Editora Plantarum, Nova Odessa, 2005.
- SPECIESLINK. **Sistema de Informação Distribuído para Coleções Biológicas: a Integração do Species Analyst e do SinBiota (FAPESP)**. Acesso em: 11 de julho de 2017.
- STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website**. 2001.
- _____. **Angiosperm Phylogeny Website**. 2014.

- TOLEDO, A. P. **Anatomia e desenvolvimento ontogenético do fruto e da semente de mandioca.** Bragantia, 1963. 22:521–526. <https://doi.org/10.1590/S0006-87051963000100082>
- TOKUOKA, T. **Molecular phylogenetic analysis of Euphorbiaceae *sensu stricto* based on plastid and nuclear DNA sequences and ovule and seed character evolution.** Journal of Plant Research, 2007. 120:511–522. <https://doi.org/10.1007/s10265-007-0090-3>
- TOKUOKA, T.; TOBE, H. **Ovules and seeds in Crotonoideae (Euphorbiaceae): structure and systematic implications.** Botanical Books for Systematics, Plant History and Plant Geography, 1998. 120:165–186.
- _____. **Phylogenetic analyses of Malpighiales using plastid and nuclear DNA sequences, with particular reference to the embryology of Euphorbiaceae s.s.** Journal of Plant Research, 2006. 119:599–616. <https://doi.org/10.1007/s10265-006-0025-4>
- VARASSIN, I. G. et al. **Produção de néctar e visitas por abelhas em duas espécies cultivadas de *Passiflora* L. (Passifloraceae).** Acta Botanica Brasilica, 2012. pp. 251. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000100024>
- VENKATA-RAO, C.; RAMALAKSHMI, T. **Floral anatomy of the Euphorbiaceae - I. Some non-cyathium taxa.** Journal of the Indian Botanical Society, 1968. 47:278–300.
- WEBSTER, G. L. **Classification of the Euphorbiaceae.** Annals of the Missouri Botanical Garden, 1994a. 81: 11– 44. <https://doi.org/10.2307/2399908>
- _____. **Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae.** Annals of the Missouri Botanical Gardens, 1994b. 81:33–144.
- WOODSON, R. E.; MOORE, J. A. **The vascular anatomy and comparative morphology of apocynaceous flowers.** Bulletin of the Torrey Botanical Club, 1938. 65:135-165. <https://doi.org/10.2307/2481100>

- WURDACK, K. J.; DAVIS, C. C. **Malpighiales phylogenetics**: Gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm. *American Journal of Botany*, 2009. 96: 1551–1570. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800207>
- WURDACK, K. J.; HOFFMANN, P.; CHASE, M. W. **Molecular phylogenetic analysis of uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae *sensu stricto*) using plastid *rbcl* and *trnL-trnF* sequences**. *American Journal of Botany*, 2005. 92:1397–1420. <https://doi.org/10.3732/ajb.92.8.1397>

Figuras

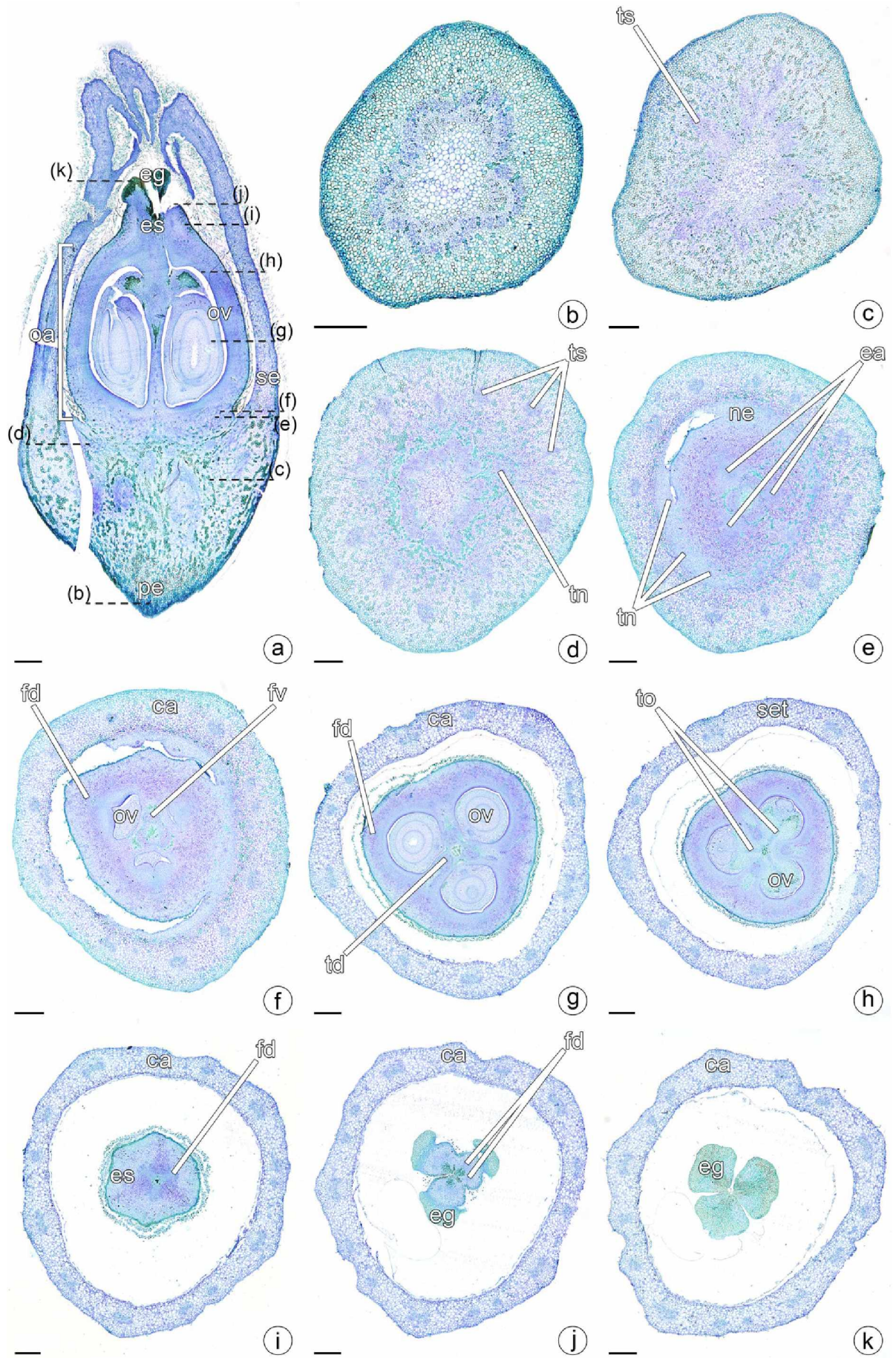


Figura 1. Flor pistilada de *Hevea brasiliensis* em seções longitudinal (**a**) e transversais (**b–k**). **a.** Aspecto geral, mostrando as regiões em que as seções transversais foram realizadas. **b.** Pedicelo vascularizado por um sifonostelo. **c–f.** Receptáculo. **c–e.** Note a divergência dos traços vasculares que suprem o cálice, os nectários e o gineceu. **e.** Região apical mostrando a divergência dos traços para os nectários e para o gineceu. **f.** Nectário com dez lobos, note que cada lobo recebe um traço vascular. **g.** Região mediana do ovário, onde se observam os feixes ventrais fundidos. **h.** Região apical do ovário, mostrando a divergência dos traços ovulares. **i.** Estilete, que é irrigado somente pelo feixe dorsal. **j.** Base do estigma, ilustrando a divisão dos feixes dorsais. **k.** Região mediana do estigma. **eg**, estigma; **es**, estilete; **fd**, feixe dorsal; **fn**, feixe de nectário; **fv**, feixe ventral; **ne**, nectário; **oa**, ovário; **ov**, óvulo; **pe**, pedicelo; **tc**, traço carpelar; **tn**, traço de nectário; **to**, traço ovular; **tc**, traços do cálice; **ca**, cálice. Barras de escala: 300µm.

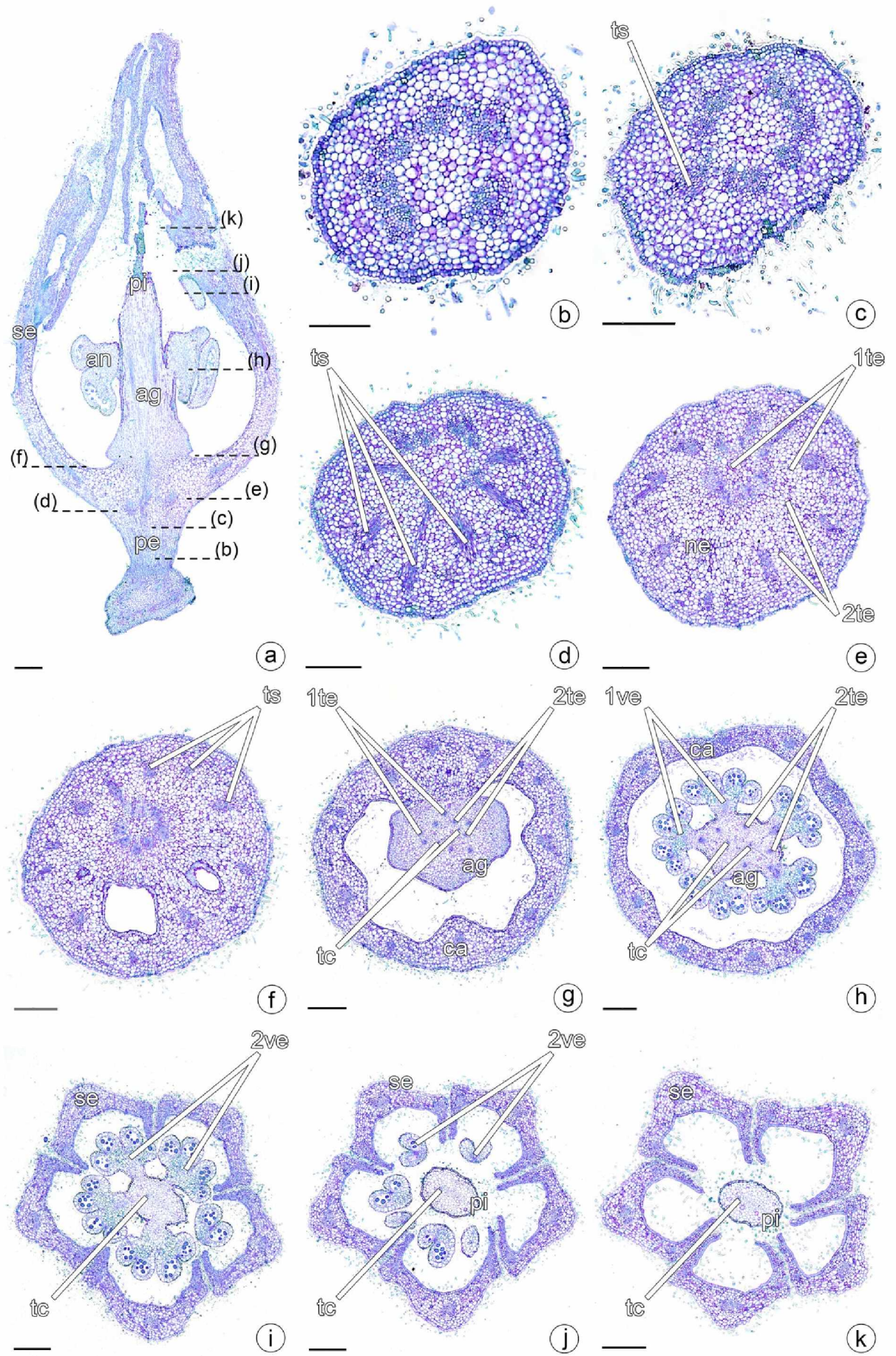


Figura 2. Flor estaminada de *Hevea brasiliensis*, em seções longitudinal (**a**) e transversais (**b–k**). **a.** Aspecto geral, mostrando a região em que as seções transversais foram realizadas. **b.** Pedicelo vascularizado por um eustelo. **c–f.** Receptáculo. **g.** Base do androginóforo, mostrando a divergência de dois verticilos de traços para os estames e um para o pistilódio. **h.** Primeiro verticilo de estames que são alternos às sépalas. **i.** Segundo verticilo de estames que são alternos ao primeiro e opostos às sépalas. **j.** Região livre do androginóforo. **k.** Região apical do androginóforo. **1te**, traço para o primeiro verticilo de estames; **1ve**, primeiro verticilo de estames; **2te**, traço para o segundo verticilo de estames; **2ve**, segundo verticilo de estames; **ag**, androginóforo; **an**, antera; **ca**, cálice; **pe**, pedicelo; **pi**, pistilódio; **se**, sépala; **tc**, traço carpelar; **ts**, traço de sépala. Barras de escala: 300µm.

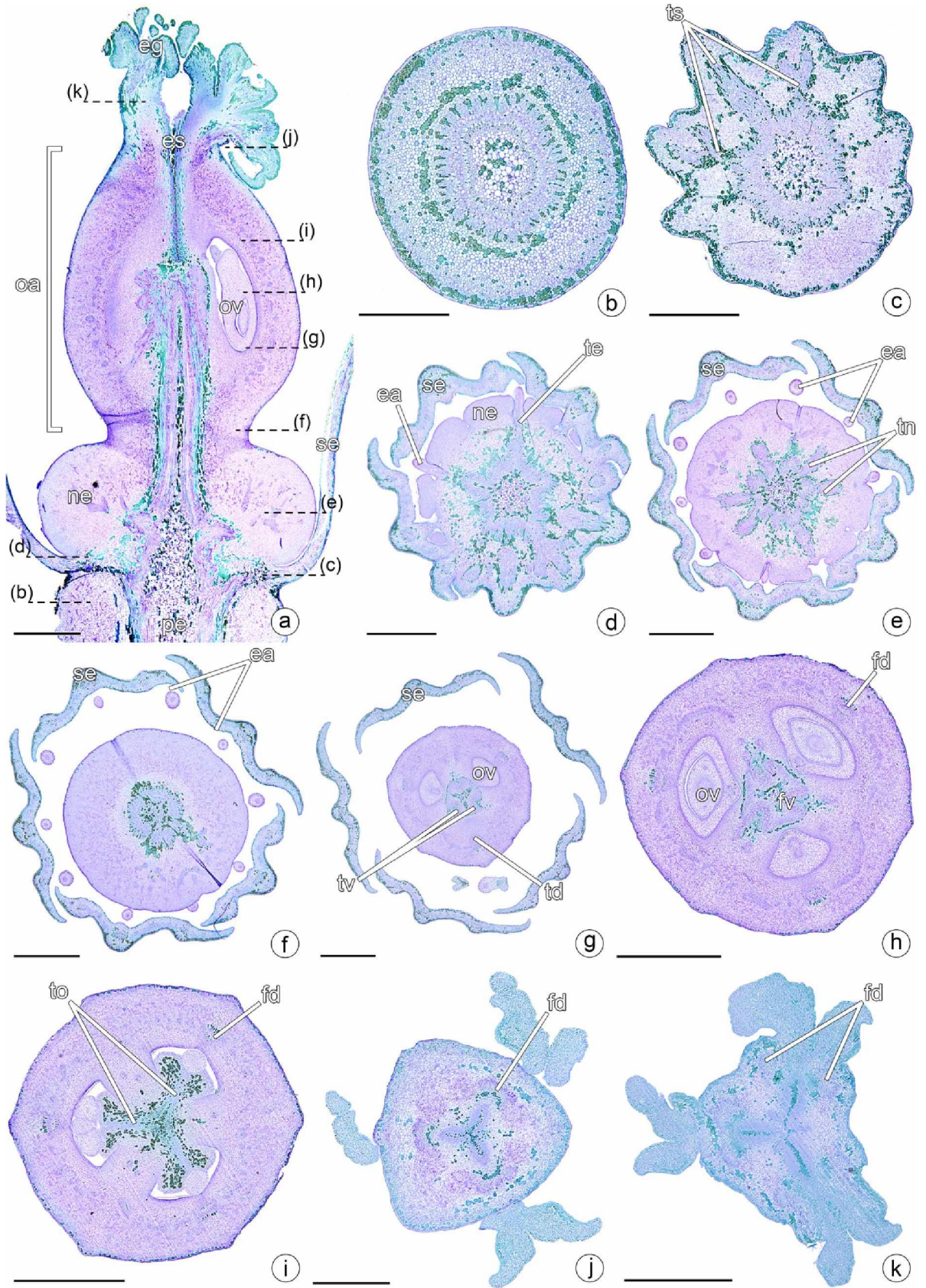


Figura 3. Flor pistilada de *Manihot tripartita* em secções longitudinal (**a**) e transversais (**b–k**). **a.** Aspecto geral, mostrando a região em que as secções transversais foram realizadas. **b.** Pedicelo vascularizado por um sifonostelo. **c–d.** Receptáculo. **c.** Região basal, note a divergência dos traços medianos e laterais de sépalas. **d.** Região mediana, mostrando a divergência dos traços dos estaminódios. **e.** Androginóforo, note que os traços dos nectários são internos e opostos aos traços dos estaminódios. **f.** Região apical, note que os traços dos nectários são ramificados. **g–i.** Ovário. **g.** Região basal, mostrando os traços dorsal e ventrais dos carpelos. **h.** Região mediana. **i.** Região apical, note a divergência dos traços ovulares. **j.** Estilete. **k.** Estigma, mostrando a bifurcação do feixe dorsal. **ea**, estaminódio; **eg**, estigma; **es**, estilete; **fd**, feixe dorsal; **fv**, feixe ventral; **ne**, nectário; **oa**, ovário; **ov**, óvulo; **pe**, pedicelo; **se**, sépala; **te**, traço de estaminódio; **tn**, traço de nectário; **to**, traço de óvulo; **ts**, traço de sépala. Barras de escala: 1mm a–i, 600µm j, 300µm k.

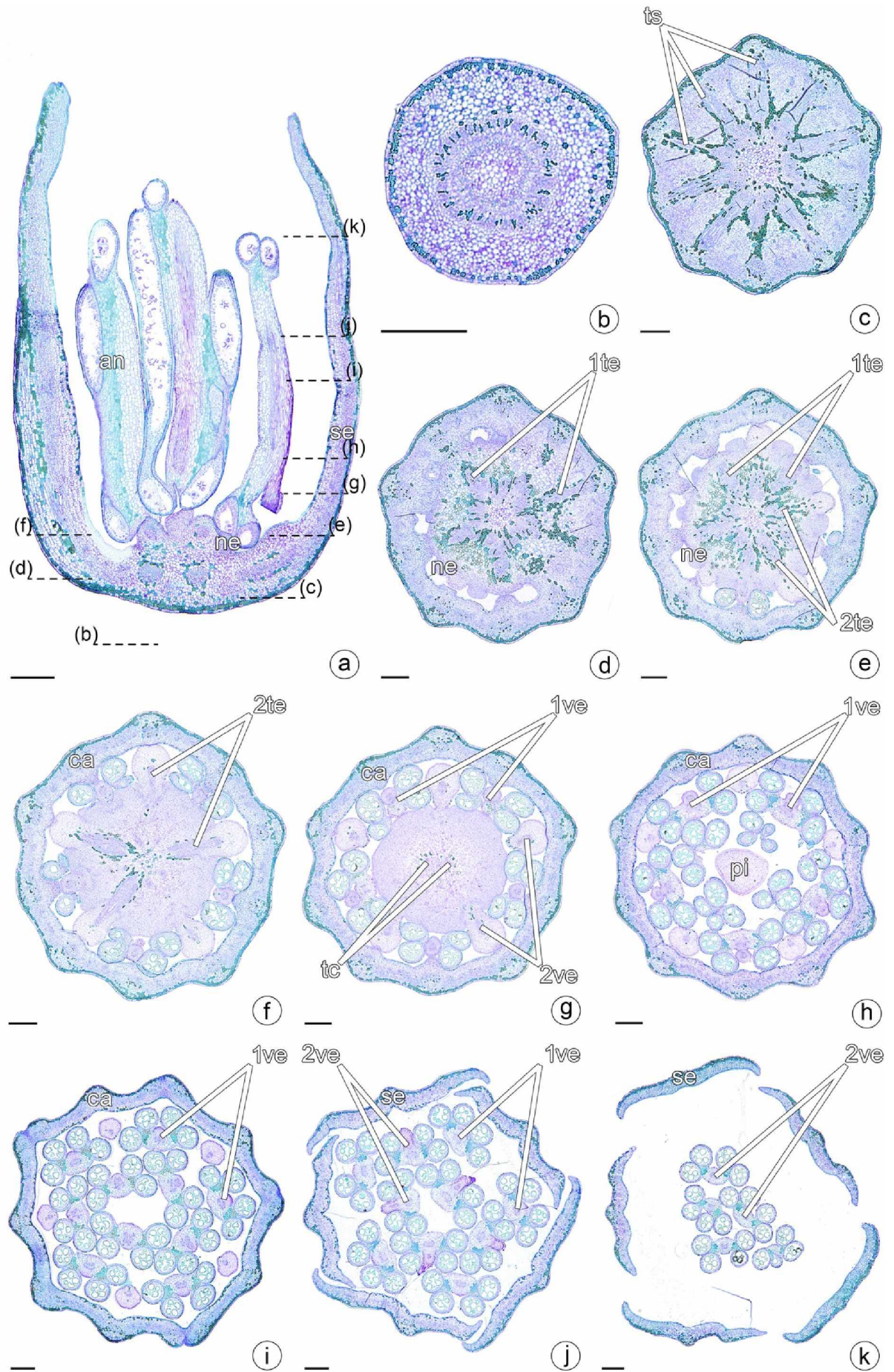


Figura 4. Flor estaminada de *Manihot tripartita* em secções longitudinal **(a)** e transversais **(b–k)**. **a.** Aspecto geral, mostrando a região em que as secções transversais foram realizadas. **b.** Pedicelo vascularizado por um sifonostelo. **b–d.** Receptáculo. **c.** Base do receptáculo, mostrando a divergência dos traços do cálice, três para cada sépala. **d.** Região apical, note a presença de nectários não vascularizados e a divergência dos traços do primeiro verticilo de estames que são alternos às sépalas **e–f.** Região basal do androceu, mostrando os nectários e a divergência do segundo verticilo de estames. **g.** Região basal do pistilódio, note a divergência dos traços carpelares. **h.** Região apical do pistilódio. **i–k.** Região mediana da flor mostrando a organização do androceu, note que o primeiro verticilo de estames é curvo no botão floral. **ca**, cálice; **1te**, traço para o primeiro verticilo de estames, **1ve**, primeiro verticilo de estames; **2te**, traço para o segundo verticilo de estames; **2ve**, segundo verticilo de estames; **an**, antera; **ne**, nectário; **pi**, pistilódio; **se**, sépala; **tc**, traço carpelar; **ts**, traços de sépala. Barras de escala: 300µm.