



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Biologia

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal

DESENVOLVIMENTO DE ÓVULOS DE CARYOCARACEAE E SUA IMPORTÂNCIA NA SISTEMÁTICA E EVOLUÇÃO DE MALPIGHIALES

Maria Vitória Silva de Godoi

Orlando Cavalari de Paula

**UBERLÂNDIA – MG
2022**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Biologia

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal

DESENVOLVIMENTO DE ÓVULOS DE CARYOCARACEAE E SUA IMPORTÂNCIA NA SISTAMÁTICA E EVOLUÇÃO DE MALPIGHIALES

Maria Vitória Silva de Godoi

Orlando Cavallari de Paula

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Uberlândia como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Mestre em Biologia Vegetal.

**UBERLÂNDIA – MG
2022**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA



**Coordenação do Programa de
Pós-Graduação em Biologia
Vegetal**

Rua Ceará s/n, Bloco 2D, Sala 19A - Bairro
Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38405-320
Telefone: (34) 3225-8640 -
www.ppgbv.ib.ufu.br - bioveg@inbio.ufu.br

ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Biologia Vegetal				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico nº 85 / PPGBV				
Data:	Trinta de agosto de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	08:50	Hora de encerramento:	10:30
Matrícula do Discente:	12012BVE008				
Nome do Discente:	Maria Vitória Silva de Godoi				
Título do Trabalho:	Desenvolvimento de óvulos de Caryocaraceae e sua importância na sistemática e evolução de Malpighiales				
Área de concentração:	Biologia Vegetal				
Linha de pesquisa:	Padrões em Biologia Vegetal				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Estrutura floral e embriologia de Caryocaraceae (Malpighiales) e suas possíveis aplicações filogenéticas				

Reuniu-se na Sala 49 do Bloco 2D, 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: Denise Maria Trombert de Oliveira (UFMG); Stéphani Karoline de Vasconcelos Bonifácio (UEMS) e Orlando Cavallari de Paula (INBIO/UFU) orientador(a) do(a) candidato(a).

Ressalta-se que as Professoras Denise Maria Trombert de Oliveira e Stéphani Karoline de Vasconcelos Bonifácio participaram da defesa por meio de Webconferência na cidade de Belo Horizonte - MG e Maringá - PR e Coxim - MS, respectivamente. O Professor Orlando Cavallari de Paula, a candidata e demais convidados participaram in loco.

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Orlando Cavallari de Paula, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) 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 Cavaleri de Paula, Professor(a) do Magistério Superior**, em 30/08/2022, às 10:36, 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 **Denise Maria Trombert de Oliveira, Usuário Externo**, em 30/08/2022, às 10:41, 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 **Stéphani Karoline de Vasconcelos Bonifácio, Usuário Externo**, em 30/08/2022, às 10:41, 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_ace_sso_externo=0, informando o código verificador **3871973** e o código CRC **B9F24853**.

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

G588 2022	Godoi, Maria Vitória Silva de, 1997- DESENVOLVIMENTO DE ÓVULOS DE CARYOCARACEAE E SUA IMPORTÂNCIA NA SISTEMÁTICA E EVOLUÇÃO DE MALPIGHIALES [recurso eletrônico] / Maria Vitória Silva de Godoi. - 2022. 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.2022.455 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

Instituto de Biologia

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal

DESENVOLVIMENTO DE ÓVULOS DE CARYOCARACEAE E SUA IMPORTÂNCIA NA SISTAMÁTICA E EVOLUÇÃO DE MALPIGHIALES

Maria Vitória Silva de Godoi

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente (Orientador) _____ Examinadores:

Dissertação aprovada em ____/____/____

**UBERLÂNDIA – MG
2022**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a FAPEMIG pela bolsa concedida para a realização desse trabalho. Agradeço também ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal e a Universidade Federal de Uberlândia pela oportunidade e por fornecerem toda a estrutura necessária.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Prof. Dr. Orlando Cavalari de Paula, a quem admiro muito, por ter me acolhido no início da graduação quando eu ainda estava indecisa em qual área seguir, e por ter me apresentado todos os processos envolvidos nos estudos anatômicos, especialmente a embriologia, pela qual me apaixonei. Toda a sua atenção e paciência ao longo desses anos foram cruciais e sem seu apoio esse trabalho não teria sido possível.

Agradeço aos meus colegas de laboratório do LAMOV, com os quais compartilhei conversas, ideias, preocupações e assuntos aleatórios. Especialmente ao Rafael, que nesse último ano se tornou um amigo fiel de cafés e risadas.

Agradeço a todos os meus amigos que me acompanharam em todos esses anos, desde a graduação. Em especial ao Kassio, Rodolfo e Gabriel, com os quais compartilho o amor pela botânica e que estiveram do meu lado também no mestrado. Particularmente nos anos de pandemia, em que o isolamento e a solidão deixaram tudo mais difícil, o apoio e amor diário de vocês foram essenciais.

Agradeço as minhas amigas/colegas de apartamento, Jéssica e Rafaela por todos esses anos que vivemos juntas. Iniciamos nossas vidas na universidade juntas e é muito gratificante ver onde todas chegamos hoje. Ter grandes amigas ao meu lado, me apoiando, ajudou muito nos momentos de dificuldade e iluminou os momentos de alegria.

Agradeço também a minha família, que apesar das dificuldades me apoiaram e

acreditaram em mim desde o início. A vida traz dificuldades, mas ter vocês ao meu lado, me fortalecendo e me inspirando tornou as coisas mais fáceis e possíveis.

Por fim agradeço a todas as pessoas que tiveram participação nesse trabalho, seja me ajudando pessoalmente, me acolhendo nos momentos de dificuldade, me fazendo rir ou me apoiando. Vocês não cabem nessa página, mas estão presentes no meu coração.

SUMÁRIO

Resumo	1
Abstract	3
Introdução	5
Material e Métodos.....	11
Resultados	13
Discussão.....	15
Referências	23
Ilustrações.....	30
Figura 1.....	32
Figura 2.....	34
Figura 3.....	36
Tabela 1.....	37

RESUMO

A embriologia é uma área de estudo que se originou da curiosidade em compreender os processos envolvidos na reprodução sexual das plantas. Atualmente a engloba o estudo de características presentes na formação dos micro- e megasporângios, esporos, gametofitos e gametas, e de estruturas associadas. Dentre esses processos, é possível levantar uma grande quantidade de caracteres que possuem aplicações taxonômicas. Entretanto, o número de grupos cuja embriologia é conhecida é pequeno e podemos destacar dentre esses, a família Caryocaraceae Voigt. Caryocaraceae é composta por 26 espécies distribuídas em dois gêneros, *Caryocar* L. e *Anthodiscus* G. Mey. Atualmente está dentro de Malpighiales, onde seu posicionamento exato continua incerto. Dessa forma, nosso estudo pretende diminuir essas lacunas estudando os processos de megasporogênese e megagametogênese em *Caryocar brasiliense* Camb. Para isso, flores em pré-antese, antese, pós-antese e frutos em diferentes fases de desenvolvimento foram coletados. O material foi seccionado em micrótomo rotativo, as lâminas obtidas foram coradas e montadas com Entellan. *C. brasiliense* apresentou óvulo campilótropo, bitegumentado e crassinucelado. A vascularização é ramificada e não ultrapassou a calaza. Hipóstase e endotélio estão presentes, e ocorre modificação no nucelo para a formação da capa nucelar. Observou-se a presença de compostos fenólicos nos tegumentos. A micrópila é formada apenas pelo tegumento interno que se alonga, e o obturador é ausente. O desenvolvimento é do tipo *Polygonum*. Nossos resultados foram comparados com famílias próximas filogeneticamente. A ausência do obturador em Caryocaraceae ocorreu também em Elatinaceae, Balanopaceae, Chrysobalanaceae e Trigonaceae. A megasporogênese de Caryocaraceae apresentou características comumente encontradas para a maioria das famílias relacionadas. Em relação a Putranjivaceae, a semelhança mais relevante compartilhada foi a presença de endotélio. A presença da capa nucelar e a vascularização ramificada foram as únicas características exclusivas encontradas. Como perspectivas futuras, salientamos a

importância de estudos complementares que investiguem o desenvolvimento da semente e do embrião para Caryocaraceae, assim como o óvulo unitegumentar em *Anthodiscus*.

Palavras chaves: Ontogenia, óvulo, Caryocaraceae.

ABSTRACT

Embryology is an area of study that originated from the curiosity to understand the processes involved in the sexual reproduction of plants. It currently encompasses the study of characteristics present in the formation of micro- and megasporangia, spores, gametophytes and gametes, and associated structures. Among these processes, it is possible to raise a large number of characters that have taxonomic applications. However, the number of groups whose embryology is known is small and we can highlight, among these, the family Caryocaraceae Voigt. Caryocaraceae is composed of 26 species distributed in two genera, *Caryocar* L. and *Anthodiscus* G. Mey. It is currently inside Malpighiales, where its exact placement remains unclear. Thus, our study aims to reduce these gaps by studying the processes of megasporogenesis and megametogenesis in *Caryocar brasiliense* Camb. For this, flowering, anthesis, post-anthesis, at different stages of development, in pre-products and fruits. The material was sectioned in a microrotary, the slides were supplied with stained and mounted. *C. brasiliense* the campylotrope egg, bitegmic and crassinucellated. Vascularization is branched and has not gone beyond the chalaza. Hypostasis and endothelium are present, and modification of the nucellus to form the nucellar cap. The presence of phenolic compounds in the teguments is observed. Micropyle it is only the internal integument that is absent, and the obturator is absent. The development is of the *Polygonum* type. Our results were compared with phylogenetically related families. The absence of the obturator in Caryocaraceae also occurred in Elatinaceae, Balanopaceae, Chrysobalanaceae and Trigoniaceae. The megasporogenesis of relational families presented common characteristics for most families. In relation to Putranjivaceae, the most relevant similarity was the presence of endothelium. The presence of nucellar capacity and branched vascularization were unique features. As future perspectives, we highlight the importance of complementary studies that investigate the development of the seed and the embryo for Caryocaraceae, as well as the unitegumentary ovule in *Anthodiscus*.

Keywords: Ontogeny, ovule, Caryocaraceae.

INTRODUÇÃO

A embriologia é uma área de estudo que se originou da curiosidade em compreender os processos envolvidos na reprodução sexual das plantas (Maheshwari, 1950). Os primeiros relatos da interação humana com o tema remontam a rituais realizados com inflorescências estaminadas e carpeladas de tamareiras pelos povos Árabes e Assírios (Maheshwari, 1950). Após a invenção e o aprimoramento dos microscópios, tornou-se possível observar as células detalhadamente, permitindo que o estudo da embriologia das angiospermas surgisse e se desenvolvesse como ciência (Maheshwari, 1950).

Atualmente, a embriologia das angiospermas engloba o estudo de características presentes na formação dos micro- e megasporângios, esporos, gametofitos e gametas, e de estruturas associadas (Maheshwari, 1950; Johri *et al.*, 1992). Dentre esses processos, é possível levantar uma grande quantidade de caracteres que possuem implicações em diversos níveis taxonômicos (Palser, 1975; Tobe, 1989; Johri *et al.*, 1992). Cerca de 15 caracteres podem ser observados no desenvolvimento das anteras, 11 caracteres nos óvulos, quatro para megasporogênese, 11 para o megagametogênese, cinco para polinização, sete para fecundação, dez para o endosperma, seis para o embrião, cinco para poliembrionia, quatro para apomixia e nove para as sementes, totalizando mais de 80 caracteres (Johri *et al.*, 1992).

Os caracteres embriológicos podem ser aplicados em conjunto com outras áreas e auxiliar no agrupamento ou segregação de grupos (Palser, 1975; Tobe, 1989). Entretanto, dado o grande número de caracteres possível de se obter, é improvável que todas as características tenham igual importância, sendo sensato focar os estudos naqueles com características de maior valor (Stuessy, 2009). Ou seja, o valor taxonômico dos caracteres embriológicos pode variar de forma que, características que são observadas em uma família podem não ser consistentes em outra e o mesmo pode ocorrer em outros níveis taxonômicos (Tobe, 1989). Dessa forma, um dado conjunto de caracteres embriológicos consistentes permite estabelecer um perfil

característico para um táxon específico, testar sua homogeneidade e pode auxiliar na delimitação de um grupo mal posicionado (Tobe, 1989). Como a evolução não atuou no mesmo ritmo para todas as características embriológicas, os caracteres também podem ser utilizados em interpretações evolutivas, fornecendo dados que auxiliam na compreensão de como uma dada estrutura se desenvolveu em um grupo (Tobe, 1989). Apesar da notável importância e aplicações, o número de espécies de angiospermas cuja embriologia é conhecida no todo ou em parte ainda é muito pequeno quando comparado ao número total de suas espécies (Palser, 1975). Seguindo esse princípio, podemos destacar a família Caryocaraceae Voigt, cuja embriologia ainda é pouco conhecida (Johri *et al.*, 1992).

Os representantes de Caryocaraceae são exclusivamente neotropicais, ocorrendo da Costa Rica ao Paraguai e, no Brasil, ocorre desde o Paraná até a região oriental da Cordilheira dos Andes (Prance e Silva, 1973). A família é composta por 26 espécies distribuídas em dois gêneros, *Caryocar* L. com 16 espécies e *Anthodiscus* G. Mey com nove espécies (Prance, 2022). Os representantes da família podem ser reconhecidos por apresentar flores em racemos terminais, hermafroditas e actinomórficas, com cinco sépalas (Prance e Silva, 1973). Os estames são numerosos em ambos os gêneros e o ovário é súpero, usualmente com quatro lóculos, contendo um óvulo cada (Prance e Silva, 1973). Os óvulos são eretos, anátropos ou átropos (Prance e Silva, 1973). Os frutos são drupáceos, com mesocarpo indeiscente e carnoso e endocarpo duro com numerosos espinhos (Prance e Silva, 1973). As sementes são reniformes com endosperma escasso ou ausente (Prance e Silva, 1973).

Os indivíduos da família se destacam por apresentarem importante valor cultural e econômico, especialmente o fruto de *Caryocar* spp., popularmente conhecido como pequi, que produz uma polpa comestível e é amplamente utilizado na culinária popular, especialmente por populações indígenas (Prance e Silva, 1973). A importância do gênero foi reconhecido pela Lei nº 19.526/2016, assinada pela deputada Delegada Adriana Accorsi (PT), declarando a árvore

como símbolo do Cerrado e proibindo seu corte (Goiás, 2016). Além da utilização do fruto, outras aplicações da família estão na utilização da madeira na construção civil e em embarcações rústicas das comunidades em que o gênero ocorre (Prance e Silva, 1973). O óleo extraído da castanha ou do pirênio possui aplicações na medicina popular, e pode ser utilizado no tratamento de asma, bronquite, coqueluche e resfriados, e também pode ser utilizado como afrodisíaco e tônico (Rodrigues e Carvalho, 2001). Estudos recentes têm relatado outras aplicações inovadoras e reforçam o potencial infindável das espécies da família. O extrato da casca do pequi, por exemplo, pode aumentar os níveis de enzimas disponíveis, tendo um efeito protetor nas artérias humanas contra o estresse oxidativo (Braga, 2022). A casca do pequi também apresentou aspectos positivos quando utilizada como bioadsorvente para a remoção de íons Cu (II), quando descartado de forma inadequada (Menezes, 2021). Além disso, Monteiro (2021) investigou a utilização de biofilmes produzidos pelo mesocarpo de pequi e relatou um bom desempenho, podendo ser utilizado como alternativa para diminuir a alta quantidade de resíduos plásticos descartados no meio ambiente.

Caryocaraceae possui um histórico taxônomico complexo, Linnaeus (1771) realizou o primeiro registro válido ao descrever a espécie *Caryocar nuciferum* e classificá-la no grupo Polyandria Digynia. Trabalhos posteriores descreveram novas espécies que variaram em seu posicionamento dependendo do autor (Aublet, 1775; Schreber, 1789; Jussieu, 1789; Gaertner, 1790; Necker, 1790; Willdenow, 1799; Correa de Serra, 1806; Persoon, 1806; Koster, 1816). Meyer (1818) descreveu o outro gênero reconhecido da família, *Anthodiscus* G. Mey.. De Candolle (1824) posicionou *Caryocar* em uma família separada chamada Rhizoboleae. Alguns anos depois, Endlicher (1840) e Walpers (1842) incluíram *Anthodiscus* em Rhizoboleae. Szyszyłowicz (1895) foi o primeiro a utilizar Caryocaraceae como família, ele também forneceu descrições de ambos os gêneros e posicionou a família entre Ochnaceae e Marcgraviaceae. Após ser reconhecida como família, Caryocaraceae já esteve posicionada na

ordem Theales (Hutchinson, 1926), Guttiferales (Wettstein, 1935) e novamente em Theales (Gundersen, 1950; Cronquist, 1968; Takhtajan, 1969). Dickison (1990) realizou um estudo morfológico detalhado da família e apontou a semelhança do gineceu e frutos de Caryocaraceae com o gênero *Medusagyne*, (na época pertencente a família Medusagynaceae) e salientou características da família semelhantes com Theales. Entretanto, um estudo molecular realizado de *Medusagyne* por Fay *et al.* (1997) demonstrou que o gênero se aproxima mais de Ochnaceae e não de Caryocaraceae.

Atualmente a família está claramente inserida na ordem Malpighiales, com base em dados moleculares (Soltis *et al.*, 2007; Wurdack e Davis, 2009; Soltis *et al.*, 2011; Xi *et al.*, 2012; Cai *et al.*, 2021). Malpighiales é uma ordem bastante diversa, englobando em torno de 36 famílias, 716 gêneros e 16.065 espécies (Stevens, 2001 atualizado constantemente). O posicionamento de Caryocaraceae dentro da ordem já variou bastante e possivelmente, a dificuldade em estabelecer relações precisas dentro de Malpighiales está relacionada com a sua origem antiga e rápida durante o Cretáceo médio (Davis *et al.*, 2005). Segundo Soltis *et al.* (2007), Caryocaraceae estaria posicionada próxima de Linaceae + Irvingiaceae, formando o grupo irmão de Erythroxylaceae + Rhizophoraceae. Segundo Wurdack e Davis (2009), Caryocaraceae estaria em uma politomia juntamente com Linaceae, Humiriaceae, Ixonanthaceae, Pandaceae, Centroplacaceae, Irvingnaceae, Lophopyxidaceae e Putranjivaceae. Posteriormente, Matthews & Endress (2011), em um estudo de morfologia floral, concluíram que esse clado não era bem suportado, e que Caryocaraceae apresentava as características morfológicas mais divergentes entre as famílias. No mesmo ano, Soltis *et al.* (2011) realizaram um estudo genético detalhado que indicava Caryocaraceae como grupo irmão de Ochnaceae + Euphorbiaceae. Em 2012, Xi *et al.*, com base em uma abordagem filogenômica, identificaram 12 clados adicionais em Malpighiales, e aumentaram substancialmente a resolução ao longo da ordem. Nessa nova resolução, Caryocaraceae encontra-se posicionada juntamente com

“chrysobalanoides” (Chrysobalanaceae, Euphroniaceae, Dichapetalaceae, Trigoniaceae, Balanopaceae), “malpighioides” (Malpighiaceae, Elatinaceae, Centroplacaceae) e “putranjivoides” (Putranjivaceae e Lophopyxidaceae). No estudo mais recente de Cai *et al.* (2021), essa organização continua mantida, entretanto, a posição exata de Caryocaraceae em relação a esses grupos ainda não está resolvida, mantendo a politomia. No estudo de Nunes *et al.* (2020a), o sequenciamento completo do genoma do cloroplasto de *Caryocar brasiliense* Camb. apontou uma solução para essa problemática ao propor uma nova organização para os grupos. A nova filogenia, altamente suportada, reposicionou Caryocaraceae como clado irmão em relação às outras famílias de Malpighiales, diferindo significativamente da filogenia proposta por Cai *et al.* (2021). Nunes *et al.* (2020b) também revisaram os estudos realizados para Caryocaraceae no período de 1938 a 2019 e verificaram que os principais tópicos abordados para a família estão relacionados à caracterização física e bioquímica, principalmente em decorrência do valor econômico e alimentício de espécies de *Caryocar*, tendo pouquíssima produção científica para o gênero *Anthodiscus*. Quanto a estudos com enfoque embriológico, não há registros de trabalhos para Caryocaraceae, sendo que apenas o pólen maduro foi analisado por Barth (1966). Em Malpighiales, existem poucas informações a respeito da embriologia de outras famílias como Centroplacaceae, Euphroniaceae, Goupiaceae, Ixonanthaceae, Lacistemataceae, Lophopyxidaceae, Malesherbiaceae, Medusagynaceae, Pandaceae e Quiinaceae (Endress *et al.*, 2013; Franca e De-Paula, 2017).

Apesar da ocorrência de notáveis avanços e melhorias para a filogenia de Malpighiales, algumas relações entre suas famílias continuam dúbias. Sabemos que estudos embriológicos podem fornecer informações detalhadas e eficientes para a resolução de problemáticas na sistemática em diversos níveis hierárquicos (Palser, 1975; Tobe, 1989; Johri *et al.*, 1992; Franca e De-Paula, 2017). Endress *et al.* (2013) ressaltam que caracteres presentes nos óvulos apresentam dados interessantes e precisam ser estudados, comparado-os em toda a ordem. Além

disso, os caracteres levantados também podem indicar como a evolução ocorreu em grupos com grandes lacunas no conhecimento, como é o caso de Caryocaraceae. Sendo assim, o objetivo deste estudo é investigar a embriologia de Caryocaraceae buscando auxiliar na delimitação do seu posicionamento dentro da ordem Malpighiales. Pretende-se avaliar a homogeneidade dos processos de megasporogênese e megagametogênese de *Caryocar brasiliense* e comparar as informações obtidas com dados existentes de famílias próximas.

MATERIAL E MÉTODOS

Flores em pré-antese, antese, pós-antese e frutos em diferentes fases de desenvolvimento de *C. brasiliense* foram coletados em fragmentos de cerrado nas imediações do município de Uberlândia, Minas Gerais. Alguns ramos férteis provenientes da coleta foram separados e submetidos ao processo de herborização para inclusão como material testemunho na coleção do Herbário Uberlandense (HUFU), com o número de registro 79.568, no Instituto de Biologia (INBIO) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

Para a realização do estudo anatômico, botões florais e flores de diversos tamanhos foram medidos em papel milimetrado e separados por tamanho.. Após a separação, o material foi dissecado: retiraram-se as sépalas e a parte superior dos botões, e em algumas ocasiões separou-se apenas o ovário para facilitar a ação do fixador. Para garantir a eficácia do processo o material também foi submetido a passagem a vácuo. Após essa etapa, os materiais foram devidamente etiquetados e permaneceram no fixador FAA 50 (Johansen, 1940) por 48h. Logo após esse período, o material ficou armazenado em etanol 50%, (Berlyn e Miksche, 1976).

Para analisar a anatomia o primeiramente desidratou-se o material em série etílica até etanol 100%. Após esse processo, colocou-se em uma solução de etanol + resina por 48h. O material foi então transferido para resina histológica, onde ficou por uma semana. Ambos os processos também foram acompanhados pela passagem a vácuo. Posteriormente, realizou-se a etapa de inclusão em resina. Para otimizar o processo, em algumas ocasiões os óvulos foram separados dos ovários e incluídos. Essa mistura de material + endurecedor + resina era colocada em histomoldes para inclusão e após o endurecimento completo, os blocos formados eram lixados e colados com cola Araldite em pequenos blocos de madeira.

Os blocos foram seccionados em micrótomo rotativo Leica RM 2135 para obtenção de secções seriadas transversais e longitudinais; inicialmente as secções variaram de 4–6µm de espessura e, após análises iniciais dos cortes, verificou-se a necessidade de reduzir essa variação

para 3–4 μm . As secções foram distendidas sobre lâminas histológicas e aquecidas em placas aquecedoras com aproximadamente 50°C. Após esse processo, as lâminas obtidas foram coradas com Azul de Toluidina 0,05% (O'Brien *et al.*, 1964, modificado com tampão acetato e pH 4,7). As lâminas foram montadas com Entellan, cobertas com lamínula e analisadas em microscópio de luz. As secções foram seleccionadas e fotografadas com fotomicroscópio Olympus BX51. Para a organização das imagens obtidas utilizou-se o programa de edição de imagem não vetorial (Adobe Photoshop).

Também foram realizados testes histoquímicos com as secções obtidas. O material foi submetido a corantes e/ou reagentes para a detecção de substâncias específicas. Para a localização de substâncias lipídicas foi utilizado sudan IV e para a localização de amido foi utilizado lugol (Johansen, 1940).

RESULTADOS

O óvulo de *Caryocar brasiliense* é campilótropo, bitegumentado e apresenta hipóstase conspícua (Fig. 1a). A vascularização é dada pelo feixe rafeal que se ramifica na base, percorre toda rafe e termina na calaza (Fig. 1b–d). Os feixes rafeais mais distais aproximam-se da calaza e desorganizam-se (Fig. 1b).

A região da calaza é formada por células menores que as da rafe (Fig. 2a). A região de contato da calaza com o nucelo apresenta cerca de dez camadas de células que acumulam compostos fenólicos constituindo a hipóstase (Fig. 2a).

O tegumento externo varia de seis camadas de células na região calazal a três camadas de células na região micropilar. A epiderme do tegumento externo alonga-se longitudinalmente conforme aproxima-se da região micropilar. O tegumento interno é formado por células pequenas e cuboides, é mais delgado que o externo na região mediana do óvulo, e varia de cinco camadas de células na região calazal a oito camadas de células na região micropilar (Fig. 2b). Na região micropilar, as células da epiderme externa do tegumento interno são alongadas radialmente, de forma que, em espessura, o tegumento interno ultrapassa o externo. A epiderme externa do tegumento interno contorna toda a região micropilar e fica em contato com as células alongadas do tegumento externo, sendo possível notar nessa região a presença de compostos fenólicos (Fig. 2c). O endostômio do tegumento interno define a micrópila e o tegumento externo não se sobrepõe a ele. Nessa camada também ocorre acúmulo de compostos fenólicos próxima a região do megagametófito (Fig. 2d). O tegumento interno está justaposto ao nucelo, sendo que na região micropilar é formado por uma concentração de células pequenas, com compostos fenólicos, dispostas irregularmente e sem espaços intercelulares (Fig. 2e). O tegumento interno ultrapassa o externo sutilmente e a micrópila é formada apenas por este, de forma que a endóstoma e exóstoma não coincidem. Na abertura da micrópila ocorre a deposição

de compostos fenólicos (Fig. 2e). Na região micropilar, o tegumento externo apresenta mais estratos, com células maiores e concentração de compostos fenólicos (Fig. 2f).

O nucelo apresenta cerca de 28 camadas de células. A epiderme externa é formada por uma fileira de células com núcleo evidente e achatadas radialmente. As camadas mais internas são formadas por células um pouco maiores que as externas, também achatadas radialmente e com núcleo evidente. As camadas centrais são compostas por células mais volumosas, dispostas de forma oblíqua e alongadas longitudinalmente. Há acúmulo de amido em toda a sua extensão.(Fig 2g).

Próximo à região micropilar, as células da epiderme externa do nucelo dividem-se periclinalmente e alongam-se radialmente. Como resultado tem-se a formação de uma capa nucelar bisseriada ao redor da região micropilar do megagametófito. Essa capa é constituída por células volumosas, com núcleo evidente e acúmulo de compostos fenólicos (Fig. 2h). Essa diferenciação ocorre gradualmente, ao decorrer do desenvolvimento da megagametogênese. .

No primórdio de óvulo de *C. brasiliense*, é possível notar a célula arquesporial no tecido esporogênico (Fig. 3a). A célula arquesporial se diferencia, passando a apresentar citoplasma denso e núcleo evidente, caracterizando a célula-mãe de megásporo (Fig. 3a–b). Entre a célula-mãe de megásporo e a epiderme do nucelo existem cerca de três a quatro camadas de células, caracterizando o nucelo do tipo crassinucelado (Fig. 3a–i). Após a primeira divisão mitótica da célula mãe de megásporo, origina-se a díade e, após a segunda divisão ocorrer em cada uma das díades, é formada uma tétrade linear (Fig. 3c). Os três megásporos micropilares degeneram-se de forma que apenas o megásporo calazal permanece (Fig. 3c–d). O megásporo funcional passa por três cariocineses sucessivas dando origem a uma célula com oito núcleos (Fig. 3d–i). O megagametófito desenvolvido apresenta duas sinérgides com o aparato filiforme bem evidente e oosfera na região micropilar, célula central binucleada e três antípodas na região calazal, caracterizando o desenvolvimento do tipo *Polygonum* (Fig. 3 f–i).

DISCUSSÃO

Os dados embriológicos de Caryocaraceae foram comparados com os de Putranjivaceae, Lophopyxidaceae, Elatinaceae, Malpighiaceae e Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae, Balanopaceae, Euphroniaceae e Trigoniaceae, famílias próximas filogeneticamente (Tabela 1).

Há divergências quanto aos óvulos de *Caryocar brasiliense*, Dickison (1990) os descrevem como anátropos e Matthews e Endress (2011) como hemítropos. Nos óvulos hemítropos, a rafe e a pré-rafe possuem tamanhos semelhantes (ver Maheshwari, 1950, p. 55), assim como observados em nossos resultados e corroborando a classificação de Matthews e Endress (2011). Segundo Dickison (1990), a curvatura dos óvulos de *Caryocar* pode variar de anátropos a campilótropos. Entretanto, a imprecisão na descrição da curvatura de *C. brasiliense* gera dúvidas no padrão proposto para o gênero. Infelizmente, há no trabalho de Dickison (1990) somente uma figura (Fig. 13) com um corte longitudinal do óvulo de *C. gracile* Wittm. e este apresenta rafe e antirrafe com tamanhos similares, reafirmando a dúvida quanto a curvatura dos óvulos no gênero. A revisão da curvatura dos óvulos de Caryocaraceae é de grande importância para a sistemática de Malpighiales, pois óvulos anátropos são comuns para famílias próximas de Caryocaraceae, como Putranjivaceae (Singh, 1970; Tokuoka e Tobe, 1999), Lophopyxidaceae (Sleumer, 1972), Elatinaceae (Kajale, 1939; Raghavan e Srinivasan, 1940; Dathan e Singh, 1971), Balanopaceae (Sutter e Endress, 2003), Trigoniaceae (Mauritzon, 1936; Boesewinkel, 1987; Matthews e Endress, 2008), Dichapetalaceae (Boesewinkel e Bouman, 1980; Matthews e Endress, 2008), Euphroniaceae (Matthews e Endress, 2008) e Chrysobalanaceae (Tobe e Raven, 1984; Matthews e Endress, 2008). Óvulos campilótropos, assim como em *C. brasiliense*, não foram observados em nenhuma das famílias próximas.

O óvulo de *C. brasiliense* é bitegumentado, assim como em *C. costaricense* Donn. Sm., *C. glabrum* (Aubl.) Pers, *C. gracile* Wittmack, *C. microcarpum* Ducke, *C. montanum* Prance e *C. villosum* (Aubl.) Pers (Dickison, 1990). Óvulos bitegumentados são comuns em Malpighiales (Endress *et al.*, 2013) e ocorrem em famílias próximas à Caryocaraceae como Putranjivaceae (Singh, 1970; Tokuoka e Tobe, 1999), Lophopyxidaceae (Sleumer, 1972), Elatinaceae (Kajale, 1939; Raghavan e Srinivasan, 1940; Dathan e Singh, 1971), Balanopaceae (Sutter e Endress, 2003), Trigoniaceae (Mauritzon, 1936; Boesewinkel, 1987; Matthews e Endress, 2008), Dichapetalaceae (Boesewinkel e Bouman, 1980; Matthews e Endress, 2008), Euphroniaceae (Matthews e Endress, 2008), Chrysobalanaceae (Boesewinkel e Bouman, 1980; Tobe e Raven, 1984; Matthews e Endress, 2008) e Malpighiaceae (Stenar, 1937; Fotidar, 1939; Cortini, 1958; Souto e Oliveira, 2005; 2008). Em *Janusia guaranitica* (A. St. -Hil.) A. Juss (Lorenzo, 1981), *J. mediterranea* (Vell.) W. R. Anderson e *J. occhionii* W. R. Anderson (Souto e Oliveira, 2014), os óvulos são unitegumentados, assim como relatado para *Anthodiscus amazonicus* Gleason e A. C. Sm. (Dickison, 1990). A presença de óvulos unitegumentados não é exclusiva de grupos próximos Caryocaraceae e ocorre em outras famílias de Malpighiales como Salicaceae, Calophyllaceae e Ochnaceae (Johri *et al.*, 1992). Dickison (1990), descreveu que os tegumentos de *Caryocar* encontram-se unidos na parte inferior do óvulo e propôs que a condição de um tegumento em *Anthodiscus* teria se originado a partir da fusão dos dois tegumentos, ao invés da supressão de um deles.

Em *C. brasiliense*, observou-se que as células da camada externa do tegumento interno são maiores, alongadas radialmente e acumulam compostos fenólicos na região micropilar. Em Trigoniaceae, *Trigonia cipoensis* Fromm e E. Santos (Boesewinkel, 1987) também foi relatado acúmulo, porém ocorrendo na epiderme externa do tegumento externo. Em Malpighiaceae, em *Malpighia fucata* Ker Gawl (Cortini, 1958), *Janusia guaranitica* (Lorenzo, 1981), *J. mediterranea*, *J. occhionii* e *Mascagnia cordifolia* (A. Juss.) Griseb (Souto e Oliveira, 2014),

o acúmulo ocorre na epiderme externa do tegumento externo e no funículo; em *Byrsonima intermedia* A. Juss (Souto e Oliveira, 2005), *Malpighia coccifera* Sessé e Moc., e *Tristellateia australasiae* A. Rich (= *Tristellateia australis*), o acúmulo está presente em ambos os tegumentos (Subba Rao, 1941). Já em *Banisteriopsis campestris* (A. Juss) Little, *B. oxyclada* (A. Juss) B. Gates, *B. stellaris* (Griseb) B. Gates e *Dyplopterys pubipetala* (A. Juss) W.R. Anderson e C. Davis (Souto e Oliveira, 2008), a epiderme externa do tegumento externo possui compostos fenólicos, exceto na região próxima a micrópila.

O endotélio, diferenciado em *C. brasiliense*, também foi observado em Putranjivaceae (Singh, 1970; Tokuoka e Tobe, 1999), Euphroniaceae (Matthews e Endress, 2008), Trigoniaceae (Boesewinkel, 1987; Matthews e Endress, 2008), Chrysobalanaceae (Tobe e Raven, 1984), Balanopaceae, (Sutter e Endress, 2003) e Lophopyxidaceae (Matthews e Endress, 2013). A ausência da estrutura foi relatada para Elatinaceae (Kajale, 1939; Raghavan e Srinivasan, 1940; Dathan e Singh, 1971), Malpighiaceae (Stenar, 1937; Fotidar, 1939; Subba Rao, 1940; 1941; Cortini, 1958; Lorenzo, 1981; Souto e Oliveira, 2005; 2008; 2014) e Dichapetalaceae (Boesewinkel e Bouman, 1980).

Também foram encontradas divergências quanto à constituição da micrópila em *C. brasiliense*. Matthews e Endress (2011) afirmam que a micrópila de *C. brasiliense* é formada por ambos os tegumentos. Dickison (1990) observou que a micrópila é formada apenas pelo tegumento interno que ultrapassa o externo, assim como observado em nossos resultados. A composição da micrópila varia nas famílias relacionadas a Caryocaraceae. Em Dichapetalaceae, *Dichapetalum bangii* (Didr.) Engl., *D. cymulosum* (Hook) Engl., *D. madagascariense* Poir., *D. mombuttense* Engl., *D. pallidum* (Oliv.) Engl., *Tapura africana* Oliv., *T. amazonica* Poepp. e Endl e *T. bouquetiana* N.Hallé & Heine (Boesewinkel e Bouman, 1980), a micrópila é formada apenas pelo tegumento interno e, em *D. Papuanum* (Becc) Boerl. Engl (Matthews e Endress, 2008), é formada por ambos tegumentos. Já em *Tapura ivorensis* Breteler, a micrópila é

formada apenas pelo tegumento interno (Boesewinkel e Bouman, 1980). Em Lophopyxidaceae a micrópila é formada apenas pelo tegumento interno (Matthews e Endress, 2013). Em Putranjivaceae, *Putranjiva roxburghii* Wall (Singh, 1970) apresenta micrópila formada apenas pelo tegumento interno, e *Drypetes arguta* (Mull. Arg.) Hutch., *D. gerrardii* Hutch., *D. gerrardinoides* Radcl. Sm., *D. integerrima* (Koidz.) Hosok., *Putranjiva formosana* Kaneh. e Sasaki ex Shimada e *P. matsumurae* Koidz. pode ser formada pelo tegumento interno ou por ambos os tegumentos (Tokuoka e Tobe, 1999). A micrópila é formada por ambos os tegumentos em Elatinaceae (Kajale, 1939; Raghavan e Srinivasan, 1940; Dathan e Singh, 1971), Trigoniaceae, (Boesewinkel, 1987; Matthews e Endress, 2008), Balanopaceae (Sutter e Endress, 2003), Euphroniaceae (Matthews e Endress, 2008) e Chrysobalanaceae (Tobe e Raven, 1984, Matthews e Endress, 2008). Em Malpighiaceae, a micrópila pode ser formada apenas pelo tegumento externo como em *Malpighia urens* L. (Stenar, 1937), *M. fucata* Ker Gawl. (Cortini, 1958), *Banisteriopsis campestris*, *B. oxyclada*, *B. stellaris*, *Dyplopterys pubipetala* (Souto e Oliveira, 2008), *Mascagnia cordifolia* e *Tetrapteryx chamaecerasifolia* A. Juss (Souto e Oliveira, 2014), *Malpighia coccifera* (Subba Rao, 1941) ou apenas pelo tegumento interno como em *Tristellateia australasiase* (= *T. australasie*) A. Rich. (Subba Rao, 1941).

O obturador é ausente em *C. brasiliense*, porém a camada externa do tegumento externo se diferencia na região micropilar e apresenta células alongadas periclinalmente, com compostos fenólicos. Matthews e Endress (2011) também não observaram obturador para a espécie, porém relataram a ocorrência de margens ventrais papilosas nos carpelos, característica que não observamos. Em Balanopaceae (Sutter e Endress, 2003), o obturador também é ausente, assim como em Elatinaceae (Kajale, 1939; Raghavan e Srinivasan, 1940; Dathan e Singh, 1971), Trigoniaceae, *Trigonia cipoensis* (Boesewinkel, 1987) e Chrysobalanaceae, *Chrysobalanus icaco* L. (Matthews e Endress, 2008), sendo que, nessas espécies, as células do

funículo e da epiderme interna do carpelo, respectivamente, se modificam e atuam como um obturador. A presença de obturador ocorre para Putranjivaceae (Singh, 1970; Tokuoka e Tobe, 1999), Lophopyxidaceae (Sleumer, 1972), Dichapetalaceae (Boesewinkel e Bouman, 1980) e Malpighiaceae (Souto e Oliveira, 2008; 2014).

Os óvulos de angiospermas são geralmente vascularizados por um feixe que percorre a rafe e termina na calaza (Maheshwari, 1950). Matthews e Endress (2011) relataram vascularização pós-calazal para *C. brasiliense*, com o tegumento externo sendo vascularizado. Entretanto, nossos resultados mostraram que o feixe rafeal de *C. brasiliense* ramifica-se na rafe, sem ultrapassar a calaza e sem vascularizar os tegumentos. Em Putranjivaceae, o feixe vascular ramifica-se na região calazal e apenas o tegumento externo é vascularizado (Singh, 1970; Tokuoka e Tobe, 1999). Em Chrysobalanaceae, ocorre ramificação pós-calazal apenas em *Chrysobalanus icaco*, onde o tegumento externo é irregularmente vascularizado, em *Geobalanus oblongifolius* (Michx.) Small (= *Licania michauxii*) a vascularização não ramifica e não ultrapassa a calaza (Tobe e Raven, 1984). Em Elatinaceae (Dathan e Singh, 1971), Malpighiaceae (Lorenzo, 1981; Souto e Oliveira, 2005; 2008; 2014), Dichapetalaceae (Boesewinkel e Bouman, 1980) e Trigonaceae (Boesewinkel, 1987), o feixe rafeal não ramifica e termina na calaza.

Em *C. brasiliense*, a hipóstase é diferenciada. Tal estrutura também está presente em Malpighiaceae (Souto e Oliveira, 2005; 2008; 2014), Putranjivaceae (Tokuoka e Tobe, 1999) e em Chrysobalanaceae está restrita à *Chrysobalanus icaco* (Tobe e Raven, 1984).

O óvulo é crassinucelado em *C. brasiliense*, assim como em Putranjivaceae (Tokuoka e Tobe, 1999), Elatinaceae (Dathan e Singh, 1971), Malpighiaceae (Lorenzo, 1981; Souto e Oliveira, 2005; 2008; 2014), Lophopyxidaceae (Sleumer, 1972) e Balanopaceae (Sutter e Endress, 2003). Óvulos tenuinucelados estão presentes em Chrysobalanaceae (Tobe e Raven, 1984, Matthews e Endress, 2008), Dichapetalaceae (Boesewinkel e Bouman, 1980, Matthews

e Endress, 2008) e Euphroniaceae (Matthews e Endress, 2008). Em Trigoniaceae, os óvulos podem ser tanto crassinucelados como em *Trigonia nivea* Cambess. (Mauritzon, 1936), como tenuinucelados em *T. cipoensis* (Boesewinkel, 1987) e *T. rugosa* (Matthews e Endress, 2008). O nucelo de *C. brasiliense* acumula amido em toda a sua extensão. A presença de amido no nucelo não foi relatado em nenhuma outra família relacionada, porém Chrysobalanaceae, em *Chrysobalanus icaco*, apresenta acúmulo de amido em todas as células do tegumento interno, incluindo o endotélio e nas espécies *Geobalanus oblongifolius* e *Leptobalanus apetalus* (= *Licania apetalus*) (E. Mey.) Sother e Prance, apenas nas células do endotélio (Tobe e Raven, 1984). Em Dichapetalaceae, também ocorre acúmulo de amido no tegumento interno (Boesewinkel e Bouman, 1980).

A epiderme interna na região micropilar é bisseriada e secretora, constituindo a capa nucelar em *C. brasiliense*. O desenvolvimento da capa nucelar provavelmente deve se relacionar com o direcionamento do tubo polínico, Briggs (1989) relatou que em *Swainsona greyana* Lindl., Fabaceae, após a fertilização, o tubo polínico forma uma bolha dentro das células da capa nucelar e, posteriormente, uma via de nutrientes. Essa estrutura não foi relatada para nenhuma outra família relacionada, em Putranjivaceae (Tokuoka e Tobe, 1999) e Elatinaceae (Kajale, 1939) os autores salientam que não ocorre a formação de capa nucelar ou qualquer diferenciação no nucelo. Em Malpighiaceae, não ocorre formação de capa nucelar, mas em *Malpighia fucata* (Cortini, 1958), *Janusia guaranitica* (Lorenzo, 1981), *J. guaranitica*, *J. mediterranea*, *J. occhionii*, *Mascagnia cordifolia*, *Tetrapterys chamaecerasifolia* (Souto e Oliveira, 2014), *M. urens* (Stenar, 1937), *M. coccifera* e em *Tristellateia australasiae* (Subba Rao, 1941) o nucelo diferencia-se ao se alongar, ultrapassando os tegumentos.

Em *C. brasiliense*, a tétrade é linear, assim como Putranjivaceae (Tokuoka e Tobe, 1999), Chrysobalanaceae, (Tobe e Raven, 1984) e Dichapetalaceae (Boesewinkel e Bouman, 1980). Em Elatinaceae, a tétrade é linear em *Bergia suffruticosa* (Delile) Fenzl, B.

ammannoides (Dathan e Singh, 1971) e *B. capensis* (Raghavan e Srinivasan, 1940), e em *B. ammannioides*, é predominante a tétrade em forma de T (Kajale, 1939). O megásporo funcional é o calazal e os megásporos micropilares se degeneram em *C. brasiliense*, assim como em Putranjivaceae, (Tokuoka e Tobe, 1999), Elatinaceae (Kajale, 1939; Raghavan e Srinivasan, 1940; Dathan e Singh, 1971), Chrysobalanaceae (Tobe e Raven, 1984) e Dichapetalaceae (Boesewinkel e Bouman, 1980). Em *C. brasiliense*, o desenvolvimento do megagametofito é do tipo *Polygonum*, o mesmo relatado para Putranjivaceae (Tokuoka e Tobe, 1999), Elatinaceae (Kajale, 1939; Raghavan e Srinivasan, 1940; Dathan e Singh, 1971) e Chrysobalanaceae (Tobe e Raven, 1984). Em Malpighiaceae, *Malpighia fucata* (Cortini, 1958), *Janusia guaranitica* (Lorenzo, 1981), *M. coccifera* e *Tristellateia australasiase* (Subba Rao, 1941) apresentam desenvolvimento do tipo *Penaea*; *M. urens* segue o tipo *Peperomia* e *Galphimia gracilis* o padrão *Allium* (*Scilla*) (Stenar, 1937); *Hiptage benghalensis* var. *benghalensis* (= *H. madablota*) (L.) Kurz apresenta desenvolvimento do tipo *Fritillaria* (*Lilium*) (Subba Rao, 1937); *H. benghalensis* var. *benghalensis*, *Heteropterys laurifolia* (= *Banisteria laurifolia*) (L.) A. Juss. e *Stigmaphyllon auriculatum* (= *Stigmaphyllon aristatum*) (Cav.) A. Juss. segue o tipo *Peperomia* (Subba Rao, 1940); e em *Malpighia glabra* L. (= *M. puniceifolia*) o desenvolvimento é descrito como sendo do tipo *Lilium* (*Adoxa*) (Narasimhachar, 1938).

Considerações finais

Os dados obtidos neste estudo acrescentaram novas informações sobre o óvulo de *C. brasiliense* que possibilitaram avaliar as semelhanças e diferenças com outras famílias da ordem Malpighiales. Em *C. brasiliense* o óvulo é campilótropo, diferenciando das demais famílias. A vascularização em Caryocaraceae, Malpighiaceae, Elatinaceae, Dichapetalaceae e Trigoniaceae não ultrapassou a calaza, sendo que Caryocaraceae foi a única família entre essas que apresentou ramificação nos feixes. A presença da capa nucelar não foi encontrada em

nenhuma outra família relacionada. O acúmulo de compostos fenólicos nos tegumentos, foi uma característica compartilhada de Caryocaraceae com Malpighiaceae e Trigoniaceae. A ausência do obturador em Caryocaraceae ocorreu também em Elatinaceae, Balanopaceae, Chrysobalanaceae e Trigoniaceae e está presente em Putranjivaceae, Lophopyxidaceae, Dichapetalaceae e Malpighiaceae. Quanto a megasporogênese, Caryocaraceae apresentou características comumente encontradas em Putranjivaceae, Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae e Elatinaceae, salvo Malpighiaceae, que apresentou grande variação. Com base nas comparações relatadas, Caryocaraceae apresentou poucas características em comum, sendo a mais relevante a ausência de obturador, com as famílias mais distantes como Chrysobalanaceae, Euphorinaceae, Dichapetalaceae, Trigoniaceae e Balanopaceae. Em relação a Putranjivaceae, a semelhança mais relevante é a presença de endotélio, que não é relato para as outras famílias próximas, Malpighiaceae e Elatinaceae. A diferenciação na epiderme externa do nucelo (capa nuclear) e a ramificação do feixe rafeal foram as únicas características observadas exclusivamente para família. Como perspectivas futuras, salientamos a importância de estudar a embriologia das famílias relacionadas, especialmente em Lophopyxidaceae, Euphorinaceae e Centroplacaceae, onde existe carência de informações. Para Caryocaraceae, destacamos como pontos de interesse o desenvolvimento da semente e do embrião. Além do outro gênero da família, *Anthodiscus*, que também é pouco conhecido e traria uma discussão interessante, principalmente a respeito do desenvolvimento do óvulo unitegumentar, que é pouco relatado para Malpighiales.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUBLET, J. B. C. F. **Histoire des plantes de la Guiane francaise**. London, Paris: Pierre François Didot Jeune, 1775.

B. M.; AMBEGAOKAR, K. B.; SRIVASTAVA, P. S. **Comparative embriology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1992.

BARTH, O. M. **Estudos morfológicos dos pólenes em Caryocaraceae**. Rio de Janeiro. Rodriguesia, v.25, n. 37, p. 351- 439, 1966.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University Press, 3 ed, 1976.

BOESEWINKEL, F. D. **Ovules and seeds of Trigonaceae**. Acta Botanica Neerlandica, v. 36, n. 1, p. 81-91, 1987.

BOESEWINKEL, F. D., BOUMAN, F. **Development of ovule and seed-coat of *Dichapetalum mombuttense* Engl. with notes on other species**. Acta Botanica Neerlandica, v. 29, p. 103-115, 1980.

BRAGA, K. M.; *et al.* **Pequi fruit extract increases antioxidant enzymes and reduces oxidants in human coronary artery endothelial cells**. Antioxidants, v. 11, n.3, p. 474, 2022.

BRIGGS, C. L. **Early post-fertilization development in *Swainsona greyana* (Fabaceae): relationship of the persisting synergid and pollen tube to the developing embryo. Some**

aspects and actual orientations in plant embryology. Eds: Paré J. and Bugnicourt M. Univ. de Picardie, Faculte des Sciences, Picardie, p. 60- 75, 1989.

CAI, L.; *et al.* **The perfect storm: gene tree estimation error, incomplete lineage sorting, and ancient gene flow explain the most recalcitrant ancient angiosperm clade, Malpighiales.** Systematic Biology, v. 70, n. 3, p. 491-507, 2021.

CORREA DE SERRA, M. **Rhizobolus in Suite des observations carpologiques.** Paris: Ann. Muss. 1806.

CORTINI, C. **Sviluppo del gametofito femminile in *Malpighia fucata* Ker-Gawl. (Malpighiaceae).** Caryologia, v. 11, n. 1, p. 42-56, 1958.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants.** Boston: Houghton Mifflin, 1968.

DATHAN, A. S. R., SINGH, D. **Embryology and seed development in *Bergia* L. J.** Indian Bot. Soc., v. 50, p. 362-370, 1971.

DAVIS, C. C.; *et al.* **Explosive radiation of Malpighiales supports a mid-Cretaceous origin of modern tropical rain forests.** The American Naturalist, v.165, n. 3, p. 36-65, 2005.

DE CANDOLLE, A. P. **Rhizoboleae.** Paris: Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis, 1824.

DICKISON, W. C. **A study of the floral morphology and anatomy of the Caryocaraceae.** Bulletin of the Torrey Botanical Club, v. 117, n. 2, p. 123–137, 1990.

ENDLICHER, S. L. **Rhizoboleae.** Genera plantarum 1075, 1840.

ENDRESS, P.K.; DAVIS C. C.; MATTHEWS, M. L. **Advances in the floral structural characterization of the major subclades of Malpighiales, one of the largest orders of flowering plants.** Annals of Botany, v. 111, n. 5, p. 969–985, 2013.

FAY, M. F., SWENSEN, S. M. e CHASE, M. W. **Taxonomic affinities of *Medusagyne oppositifolia* (Medusagynaceae).** Kew Bulletin, v. 52, n. 1, p. 111-120, 1997.

- FOTIDAR, A. N. **An example of a naked ovule in *Galphimia gracilis***. 1939.
- FRANCA, R. O.; DE-PAULA, O. C.; **Embryology of Pera (Peraceae, Malpighiales): systematics and evolutionary implications**. Journal of Plant Research, v. 130, p. 709-721, 2017.
- GAERTNER, J. **De fructibus et seminibus plantarum**. Richter, 1790.
- GOIÁS. **Lei nº 19.526, de 13 de dezembro de 2016**. Declara o pequizeiro árvore símbolo do cerrado no Estado de Goiás e dá outras providências. Goiânia: Governo do Estado de Goiás, [2016]. Disponível em: Lei Ordinária nº 19.526 / 2016 (casacivil.go.gov.br). Acesso em 09 ago. 2022.
- GUNDERSEN, A. **Families of Dicotyledons**. Waltham: Chronica Botanica, 1950.
- HUTCHINSON, J. **Families of flowering plants**. London: Oxford Clarendon Press, 1926.
- JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. London: McGraw-Hill Book Company, 1940.
- JOHRI, B.M.; AMBEGAOKAR, K.B.; SRIVASTAVA, P.S. **Comparative embriology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1992.
- JUSSIEU, A. L. **Genera Plantarum**. Paris: Herissant, 1789.
- KAJALE, L. B. **A contribution to the life-history of *Bergia ammanioides* Roxb**, J. Indian Bot. Soc., v. 18, p. 157-167, 1939.
- KOSTER, H. **Travels in Brazil**. London, 1816.
- LINNAEUS, C. **Mantissa Plantarum**. Stockholm, 1771.
- LORENZO, E. **Sobre la inflorescencia, morfologia floral y embriologia de *Janusia guaranitica* (Malpighiaceae)**. Kurtziana, v.14, p. 101-124, 1981.
- MAHESHWARI, P. **An introduction to the embryology of angiosperms**. London: McGraw-Hill Book Company, 1950.
- MATTHEWS, M. L., e ENDRESS, P. K. **Comparative floral structure and systematics of the clade of Lophopyxidaceae and Putranjivaceae (Malpighiales)**. Botanical Journal of the

Linnean Society, v.172, n. 4, p. 404-448, 2013.

MATTHEWS, M. L., ENDRESS, P. K. **Comparative floral structure and systematics in chrysobalanaceae sl (Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae, Euphroniaceae, Trigonaceae; malpighiales)**. Botanical Journal of the Linnean Society, v. 157, n. 2, p. 249-309, 2008.

MATTHEWS, M. L., ENDRESS, P. K. **Comparative floral structure and systematics in Rhizophoraceae, Erythroxylaceae and the potentially related Ctenolophonaceae, Linaceae, Irvingiaceae and Caryocaraceae (Malpighiales)**. Botanical Journal of the Linnean Society, v. 166, n. 4, p. 331- 416, 2011.

MAURITZON, J. M. **Zur Embryologie und systematischen Abgrenzung der Reihen Terebinthales und Celastrales**. Botaniska Notiser, 1936.

MENEZES, J. M. C.; *et al.* **Kinetic and thermodynamic study of copper (II) IONS biosorption by *Caryocar Coriaceum* Wittm bark**. Sustainable Chemistry and Pharmacy, v. 19, 2021.

MEYER, G. F. W. **Primitiae florae essequiboensis**. Gottingen: Sumptibus H. Dieterich, 1818.

MONTEIRO, L. B. **Filme com potencial ativo elaborado com mesocarpo de pequi e incorporado com extrato de própolis, 2021**. Dissertação (Mestre em Tecnologia e Processamento de Alimentos) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, 2021.

NARASIMHACHAR, S. G. **Megasporogenesis and female gametophyte in *Malpighia punicifolia* Linn**. Current Science, v. 6, p. 507-509, 1938.

NECKER, N. J. **Elementa botânica**. Neuwied, 1790.

NUNES, R.; *et al.* **Caryocaraceae Voigt (Malpighiales): a synthesis based on science mapping and systematic review**. The Botanical Review, v. 86, n. 3, p. 338-358, 2020b.

NUNES, R.; *et al.* **Complete chloroplast genome sequence of *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) and comparative analysis brings new insights into the plastome evolution**

of Malpighiales. Genetics and molecular biology, v. 43, n. 2, 2020a.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. **Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue.** O. Protoplasma, v. 59, n. 2, p. 368–373, 1964.

PALSER, B. F. **The bases of angiosperm phylogeny: embryology.** Annals of the Missouri Botanical Garden, v. 62, n. 3, p. 621-646, 1975.

PERSOON, C. H. **Synopsis Plantarum.** Paris e Tubingen, 1806.

PRANCE, G. T. **A synopsis of the Caryocaraceae.** Rodriguésia 73, 2022.

PRANCE, G. T.; SILVA, M. F. **Caryocaraceae.** Flora Neotropica, v. 12, p. 1–75, 1973.

RAGHAVAN, T. S., SRINIVASAN, V. K. **A contribution to the life-history of *Bergia capensis*** Linn, J. Indian Bot. Soc., v. 19, p. 283-291, 1940.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande–Minas Gerais.** Ciência e Agrotecnologia, v. 25, n. 1, p. 102-123, 2001.

SCHREBER, J. C. D. VON. **In: Linnaeus, Genera Plantarum.** Frankfurt, 1789.

SINGH, R. P. **Structure and development of seeds in *Putranjiva Roxburghii* Wall.** National Botanic Gardens, 1970.

SLEUMER, H. **Lophopyxidaceae.** Flora Malesiana-Series 1, Spermatophyta, v. 7, n. 1, p. 89-91, 1972.

SOLTIS, D. E., GITZENDANNER, M. A., SOLTIS, P. S. **A 567-taxon data set for angiosperms: the challenges posed by Bayesian analyses of large data sets.** International Journal of Plant Sciences, v. 168, n. 2, p. 137-157, 2007.

SOLTIS, D. E.; *et al.* **Angiosperm phylogeny: 17 genes, 640taxa.** American journal of botany, v. 98, n. 4, p. 704-730, 2011.

SOUTO, L. S., OLIVEIRA, D. M. T. **Morfoanatomia e ontogênese das sementes de espécies**

de *Banisteriopsis* CB Robinson e *Diplopterys* A. Juss. (Malpighiaceae). Acta Botanica Brasilica, v. 22, p. 733-740, 2008.

SOUTO, L. S., OLIVEIRA, D. M. T. Seed development in Malpighiaceae species with an emphasis on the relationships between nutritive tissues. Comptes Rendus Biologies, v. 337, n. 1, p. 62-70, 2014.

SOUTO, L. S.; OLIVEIRA, D. M. T. Morfoanatomia e ontogênese do fruto e semente de *Byrsonima intermedia* A. Juss. (Malpighiaceae). Brazilian Journal of Botany, v. 28, p. 697-712, 2005.

STENAR, H. Zur embryosackentwicklung einiger Malpighiazeen. Botaniska Notiser, p. 110- 118, 1937.

STEVENS, P. F. (2001 atualizado constantemente). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em: 01 ago. 2022.

STUESSY, T. F. Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press, 2009.

SUBBA RAO, A. M. A note on the development of the female gametophyte of some Malpighiaceae and polyembryony in *Hiptage madablota*. Currente Science, v. 6, p. 280-282, 1937.

SUBBA RAO, A. M. Studies in the Malpighiaceae I. embryo-sac development and embryogeny in the genera *Hiptage*, *Banisteria* and *Stigmatophyllum*. J Indian Bot. Soc., v. 18, p. 145- 156, 1940.

SUBBA RAO, A. M. Studies in the Malpighiaceae: structure and development of the ovules and embryo-sacs of *Malpighia Coccifera* Linn. and *Tristellateia Australis* Linn. Proceedings of the National Institute of Sciences of India, v. 7, p. 393-404, 1941.

SUTTER, D. M., ENDRESS, P. K. **Female flower and cupule structure in Balanopaceae, an enigmatic rosid family**. *Annals of Botany*, v. 92, n. 3, p. 459-469, 2003.

SZYSZYLOWICZ, I. **Caryocaraceae**. In: Engler, H. G. A. & Prantl, K. A. E. *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. v. 3, n. 6, p. 153-157, 1895.

TAKHTAJAN, A. **Flowering plants origin and dispersal**. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press, 1969.

TOBE, H. **The embryology of angiosperms: its broad application to the systematic and evolutionary study**. *The botanical magazine: Shokubutsu-gaku-zasshi*, v. 102, n. 2, p. 351-367, 1989.

TOBE, H.; RAVEN, P. H. **An embryological contribution to systematics of the Chrysobalanaceae I. Tribe Chrysobalanaceae**. *The botanical magazine= Shokubutsu-gakuzasshi*, v. 97, n. 3, p. 397- 411, 1984.

TOKUOKA, T.; TOBE, H. **Embryology of tribe Drypeteeae, an enigmatic taxon of Euphorbiaceae**. *Plant Systematics and Evolution*, v. 215, n. 1-4, p. 189-208, 1999.

WALPERS, W. G. **Rhizoboleae**. *Repertorium botanices systematicae*. Leipzig, 1842.

WETTSTEIN, R. **Caryocaraceae**. In: *Handbuch der systematischen Botanik*. Leipzig, 1935.

WILLDENOW, C. L. In: **Linnaeus. Species plantarum**. Berlin, 1799.

WURDACK, K. J., DAVIS, C. C. **Malpighiales phylogenetics: gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life**. *American Journal of Botany*, v. 96, n. 8, p. 1551-1570, 2009.

Xi, Z.; *et al.* **Phylogenomics and a posteriori data partitioning resolve the Cretaceous angiosperm radiation Malpighiales**. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 109, n. 43, p. 17519-17524, 2012.

ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Óvulo desenvolvido de *Caryocar brasiliense* em secção longitudinal (a) e secções transversais (b,c,d). **a.** Visão geral, evidenciando o óvulo campilótropo, bitegumentado com vascularização e hipóstase bem desenvolvidos. **b-d.** Cortes transversais evidenciando a distribuição geral dos feixes vasculares. **b.** Corte da região inicial do óvulo, notar o início das ramificações. **c.** Corte mediano, notar que não ultrapassam a calaza. **d.** Corte final evidenciando o feixe proveniente do ovário. ca: calaza; fr: feixe rafeal; hi: hipóstase; mg: megagametófito; nu: nucelo; ra: rafe; seta: ramificações iniciais e feixes na calaza; te: tegumento externo; ti: tegumento interno.

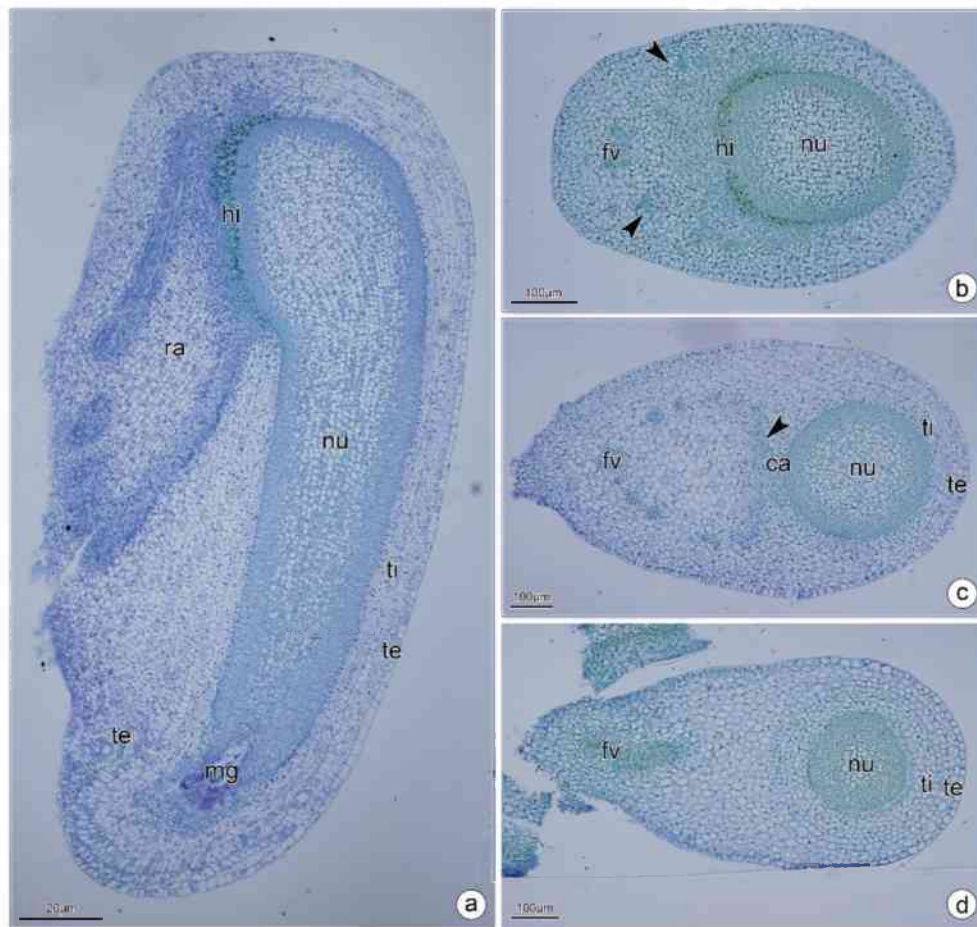


Figura 2. Detalhes do óvulo desenvolvido de *Caryocar brasiliense* em secções longitudinais. **a.** Região calazal, evidenciando a hipóstase. **b.** Região mediana do óvulo evidenciando o tegumento externo com seis camadas e o interno com cinco. **c, d.** Detalhes do tegumento interno, notar o acúmulo de compostos fenólicos no endotélio em d (flecha). **e.** Micrópila, notar deposição de compostos fenólicos em sua extensão. **f.** Tegumento externo, notar o acúmulo de compostos fenólicos. **g.** Nucelo, detalhe evidenciando o acúmulo de amido. **h.** Detalhe do nucelo evidenciando a diferenciação celular na região micropilar. ca: calaza; en: endotélio; hi: hipóstase; mg: megagametófito; mi: micrópila; nu: nucelo; te: tegumento externo; ti: tegumento interno; tp: tubo polínico; flecha: acúmulo de compostos fenólicos; seta dupla: acúmulo de amido.

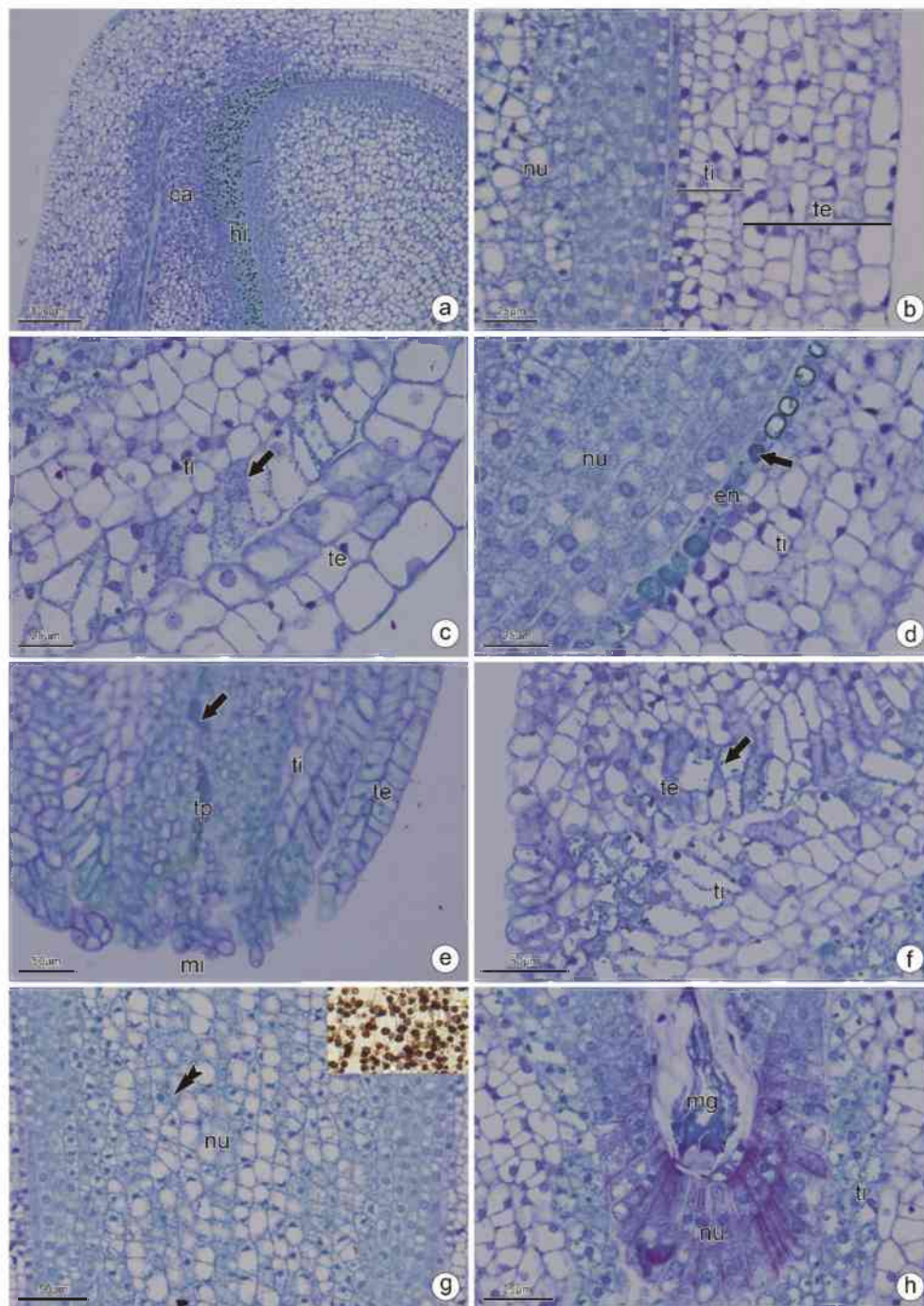


Figura 3. Óvulo de *Caryocar brasiliense* em secções longitudinais (a-i), mostrando o desenvolvimento dos megásporos e megametófito. **a.** Primórdio do óvulo com célula arquesporial. **b.** Célula mãe de megásporo. **c.** Megásporo calazal funcional e ostrês megásporos micropilares degenerando. **d.** Primeira cariocinese do megásporo funcional, note os resquícios megásporos micropilares. **e.** Núcleos migrando para os polos calazal e micropilar. **f-i.** Megagametófito monospórico com sete células e oito núcleos (*Polygonum*). **f.** Detalhe das antípodas. **g.** Detalhe da célula central binucleada. **h, i.** Detalhe do aparato oosférico, notar as sinérgides com aparato filiforme evidente. af: aparato filiforme; an: antípodas; ca: célula arquesporial; cc: célula central; cm: célula mãe de megásporo; di: díade; md: megásporos degenerando; mf: megásporo funcional; nu: nucelo; oo: oosfera; sn: sinérgides.

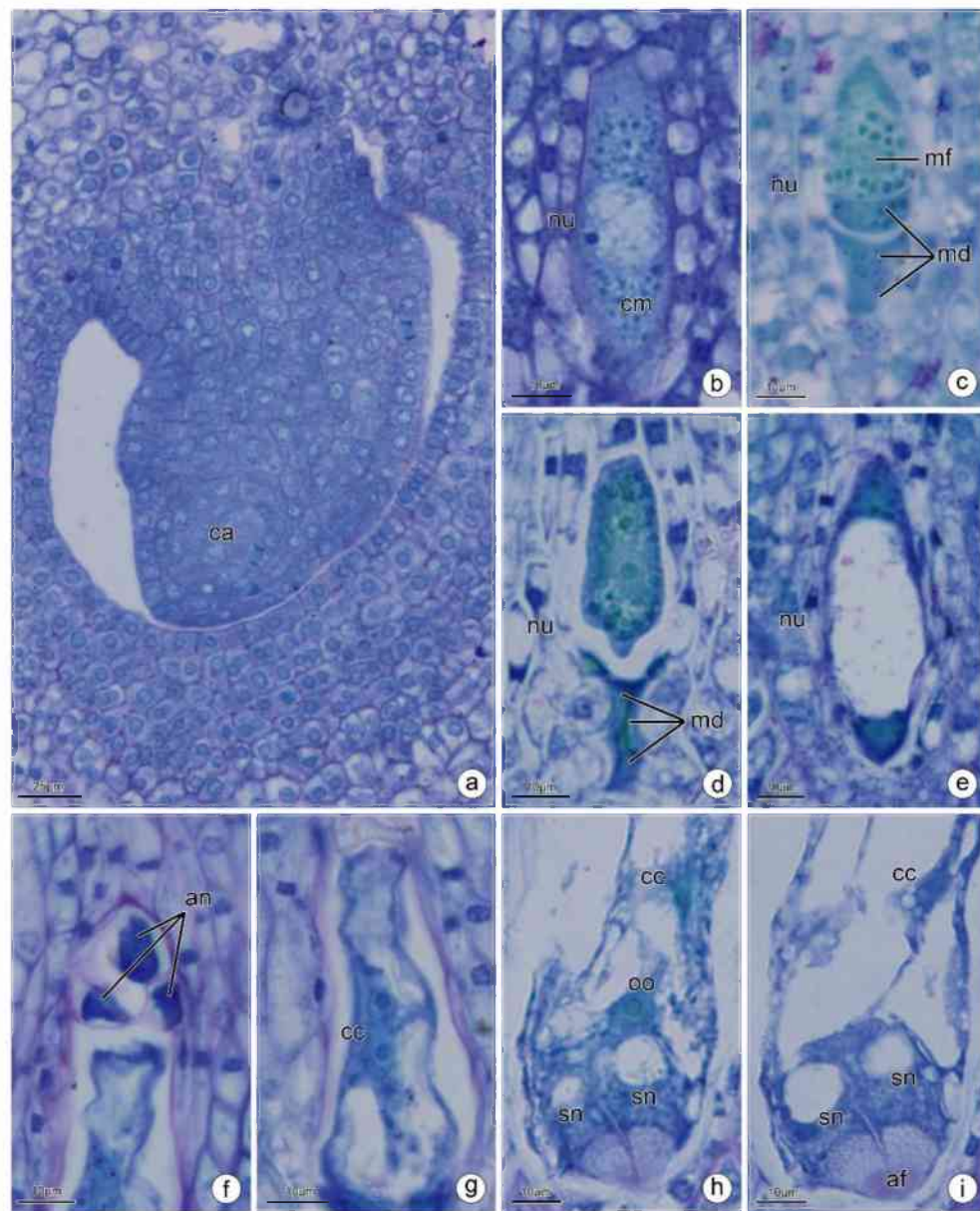


Tabela 1. Dados comparativos da embriologia de Caryocaraceae com as demais famílias.

Órulo	Caryocaraceae	putranjivoids		malpighioids		chrysobalanoids				
		Putranjivaceae	Lophopyxidaceae	Elatinaceae	Malpighiaceae	Chrysobalanaceae	Dichapetalaceae	Balanopaceae	Euphorbiaceae	Trigoniacae
	estado de caráter	estado de caráter	estado de caráter	estado de caráter	estado de caráter	estado de caráter	estado de caráter	estado de caráter	estado de caráter	estado de caráter
curvatura	campilótropo	anátropo	anátropo	anátropo	anátropo, semianátropo, subcampilótropo	anátropo	anátropo	anátropo	anátropo	anátropo
tegumentos	dois	dois	dois	dois	dois, um	dois	dois	dois	dois	dois
vascularização	calazal ramificada	pós-calazal		calazal	calazal	pós-calazal e calazal	calazal			calazal
endotélio	presente	presente	presente			presente		presente	presente	presente
núcelo	crassinucelado	crassinucelado	crassinucelado	crassinucelado	crassinucelado	tenuinucelado	tenuinucelado	crassinucelado	tenuinucelado	crassinucelado, tenuinucelado
diferenciação do núcelo	capa nucelar	não ocorre			protusão do núcelo					
micrópila	tegumento interno	ambos/teg interno	teg interno	ambos	apenas teg externo/ interno	ambos	teg interno	ambos	ambos	ambos
hipóstase	bem desenvolvida	diferenciada			pouco desenvolvida, distinta	diferenciada em <i>C. toxica</i>				
exostoma e endostoma	não coincidem			zig zag		zigzag	zigzag			zigzag
obturador	ausente	presente	presente		presente	ausente	presente	não foi encontrado		ausente
tetrade de megasporos	linear	linear		linear ou T		linear	linear			
megasporo funcional	calazal	calazal		calazal	calazal	calazal	calazal			
megagametofito	<i>Polygonum</i>	<i>Polygonum</i>		<i>Polygonum</i>	<i>Peperomia</i> , <i>Peperomia</i> , <i>Allium</i> , <i>Frillaria</i> , <i>Lilium</i>	<i>Polygonum</i>				<i>Polygonum</i>