

O desenvolvimento das anteras e do gametofito masculino em *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae)

João de Deus Medeiros¹
Sandra Cristina Müller²

¹Professor Adjunto do Departamento de Botânica da UFSC.

²Acadêmica de Biologia – ICB, Departamento de Biologia.

Universidade de Passo Fundo, RS.

Resumo

As anteras são tetrasporangiadas e providas de uma parede constituída por cinco camadas – epiderme, endotécio, dois estratos de camada média e o tapete. O padrão de formação da parede da antera é do tipo *básico*. Nos estágios finais de seu desenvolvimento as células do tapete glandular (secretor) tornam-se binucleadas, e por fim degeneram. Na progressão da microsporogênese a camada média é comprimida e absorvida, sendo que na antera madura persistem apenas a epiderme e o endotécio. Tétrades tetraédricas são formadas através de citocinese simultânea, seguindo-se a dissolução da parede de calose e a liberação dos micrósporos. Após a divisão mitótica nos micrósporos o grão de pólen, no seu estágio bicelular, é liberado. As células do endotécio, quando maduras, são alongadas periclinalmente, e apresentam moderado espessamento fibroso. *C. brasiliense* mostra duas das três tendências evolutivas do tapete em espermatófita: 1. a intrusão das células do tapete no lóculo, e 2. o contato direto com os esporos em virtude do aspecto estreito da antera, o que melhora as condições de nutrição dos micrósporos.

Unitermos: Clusiaceae, *Calophyllum brasiliense*, microsporogênese, antera.

Summary

The anthers are tetrasporangiate and the anther wall comprises five layers – epidermis, endothecium, two middle layers and tapetum. Anther wall formation is of the *basic* type. At late stage the glandular (secretory) tapetum cells become binucleate and ultimately degenerated. As microsporogenesis progresses, middle layers become crushed and absorbed so that in the mature anther only the epidermis and endothecium remain intact. Tetrahedral tetrads are formed by simultaneous cytokinesis, followed by dissolution of callose and release of microspores. After microspore mitosis, pollen is shed at the two-celled stage. Mature endothelial cells are periclinally elongate, and moderate wall thickenings are present. *C. brasiliense* show two of the three evolutionary trends of the tapetum in Spermatophyta: 1. an intrusion of tapetum cells into the loculus, and 2. a better nutrition through direct contact with the spores in narrow anthers.

Key words: Clusiaceae, *Calophyllum brasiliense*, microsporogenesis, anther.

Introdução

Calophyllum L. é um gênero arbóreo de distribuição pantropical, contando com mais de 150 espécies, e muito abundante na Ásia Tropical (Dassanayake e Fosberg, 1980). Quatro espécies ocorrem no Novo Mundo (Carvalho, 1994).

O gênero apresenta flores perfeitas, agrupadas em racemos axilares ou pseudoterminais; folhas opostas, inteiras, sem estípulas, com numerosas nervuras laterais adensadas paralelamente.

Calophyllum brasiliense Camb. é uma árvore perenifolia de tronco reto e cilíndrico que, segundo Carvalho (1994), ocorre desde Porto Rico (18° N) até o sul do Brasil, mais precisamente até a costa centro-sul do Estado de Santa Catarina (28°10'S); neste Estado a espécie é conhecida popularmente como Olandi, guanandi ou olandim (Klein, 1969).

É uma espécie clímax que ocorre em florestas permanentemente inundadas ou inundáveis periodicamente e em terra firme (Carvalho, 1994). Em Santa Catarina é encontrada nas planícies quaternárias do litoral e mais

raramente nas florestas de encostas suaves (Klein, 1969). *C. brasiliense*, juntamente com *Tapirira guianensis* (cupiúva), *Ocotea pretiosa* (canela-sassafrás), *O. aciphylla* (canela-amarela), *Nectandra rigida* (canela-garuva) e a *Alchornea triplinervea*, compõem o mais importante agrupamento fisiômico da floresta tropical das planícies quaternárias setentrionais no Estado de Santa Catarina, emprestando a este conjunto um aspecto homogêneo e bastante característico (Klein, 1978).

A época de floração de *C. brasiliense* é bastante variável, em virtude de sua ampla área de dispersão. Em Santa Catarina a floração inicia no final de setembro e se estende até fevereiro.

Klein (1969) cita que *C. brasiliense* esta praticamente extinta das florestas da Ilha de Santa Catarina, e Carvalho (1994) refere-se ao olandi como uma das espécies florestais tropicais amazônicas que devem ser consideradas em programas de conservação de recursos genéticos *in situ* e *ex situ*; lembra ainda que a espécie está ameaçada de extinção no Paraguai, pela perda permanente de seu habitat natural.

Davis (1966) registra que o padrão de desenvolvimento da antera e do grão de pólen persiste desconhecido para toda a família Clusiaceae; outros dados embriológicos de Clusiaceae são igualmente escassos. Na literatura especializada não se encontra qualquer informação embriológica relativa ao gênero *Calophyllum*.

Material e Métodos

O material botânico utilizado no presente trabalho foi coletado nos anos de 1994 e 1995, a partir de árvores localizadas no campus da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, município de Florianópolis, SC (27°35'S – 48°29'W).

A fixação do material botânico processou-se através de F.A.A. 50° GL (Johansen, 1940). Os cortes histológicos, com espessura de 8 a 10 µm, foram obtidos com micrótomo rotativo, a partir de material previamente desidratado em série etílica, infiltrado e incluído com parafina (Sass, 1951).

A coloração foi processada com o emprego de safranina e verde-rápido (Sass, 1951), ou fucsina básica e azul de astra (Roeser, 1972).

As ilustrações foram realizadas com o auxílio de câmara clara, e as escalas que as acompanham foram projetadas nas mesmas condições óticas.

Resultados

Androceu

C. brasiliense apresenta androceu polistêmone nas flores estaminadas; nas flores perfeitas o número de estames é reduzido. Os estames apresentam filetes livres ou levemente adnatos na base, e a antera é oblonga, diteca e tetrasporangiada com deiscência longitudinal.

Microsporângio

As células arquesporais subepidérmicas, através de divisões periclinais, originam os estratos parietais primário e secundário. Os dois estratos formados sofrem nova divisão periclinal, constituindo uma série de quatro estratos celulares subjacentes à epiderme, ficando o endotécio e o tapete entremeados por uma camada média dupla (Figura 1). A parede da antera assim constituída, revela na sua formação, um comportamento dos estratos parietais secundários caracteristicamente associado ao *Tipo Básico*.

As células epidérmicas da antera, já no início da diferenciação desta, experimentam um alongamento periclinal e mostram uma densa impregnação citoplasmática, o que também se observa nas células epidérmicas das demais peças florais. A epiderme é persistente e apresenta estratos cuticulares estriados.

O endotécio apresenta uma diferenciação pouco acentuada, traduzida por um alongamento tangencial, semelhante ao observado nas células epidérmicas, e um discreto e tardio espessamento parietal (Figura 2).

A camada média, formada por dois estratos celulares, é observada somente nas fases iniciais da diferenciação da parede da antera. O pronunciado incremento no volume das células do tapete produz uma compressão tangencial que logo elimina a camada média.

O tapete é do tipo glandular ou secretor, mantendo-se organizado até os estágios finais de maturação da antera. Nos seus estágios iniciais mostra-se como uma conspícua camada de células com citoplasma denso, com um único núcleo central, e um pronunciado alongamento do eixo anticlinal (Figura 1). Nas fases em que os grãos de pólen já estão separados, o alongamento anticlinal das células do tapete deixa de ser pronunciado e a granulação do citoplasma, ao contrário, se acentua.

Durante o processo de formação dos grãos de pólen é possível se observar os corpúsculos de Ubisch, com o característico formato esférico, contudo sem mostrar sinais de fusão.

Nas fases finais as células do tapete tornam-se binucleadas (Figura 3) e estes núcleos logo começam a mostrar sinais de degeneração.

Na antera madura persiste apenas a epiderme e o endotécio (Figura 2).

A região do conectivo é essencialmente parenquimática com um reduzido feixe vascular central. As células nesta região também mostram uma densa impregnação citoplasmática. Idioblastos cristalíferos contendo drusas (Figura 4) são encontrados nas várias porções da antera.

Microsporogênese e gametofito masculino

As células mãe-de-pólen (Figura 5) apresentam núcleo grande com nucléolo bem evidente, citoplasma denso e finamente granular. As paredes são delgadas e o contorno poligonal.

A primeira divisão observada é cariocinética, não ocorrendo a respectiva citocinese. Logo em seguida ocorre uma nova cariocinese e a subsequente formação das paredes, originando-se as tétrades tetraédricas de micrósporos (Figura 6).

O grão de pólen é de tamanho médio, simétrico, prolato-esferoidal e tricolporado. O mesmo é disperso na fase bicelular.

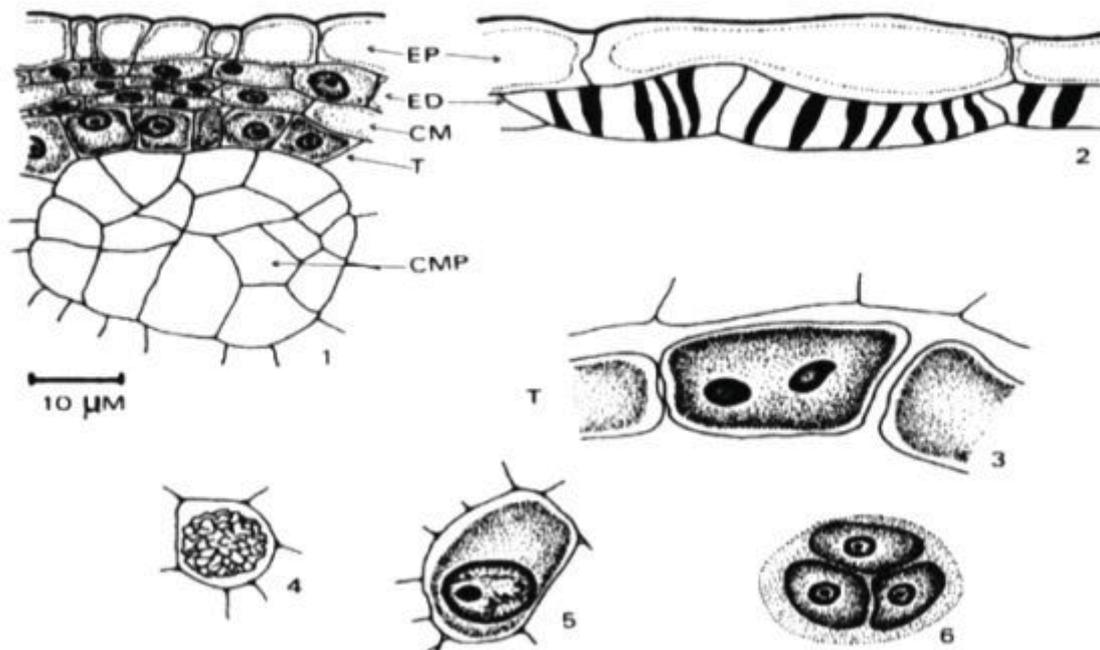


Figura 1: 1: Antera jovem em corte transversal; 2: Parede da antera jovem, mostrando a epiderme persistente e o endotécio fibroso; 3: célula binucleada do tapete; 4: Idioblasto com drusa; 5: Célula mãe-de-pólen; 6: Tétrade tetraédrica de micrósporos (EP: epiderme; ED: endotécio; CM: camada média; T: tapete; CMP: célula mãe-de-pólen).

Discussão

A Ordem Theales abrange 18 famílias, comportando cerca de 3500 espécies (Cronquist, 1981). Clusiaceae com 1200 espécies, Theaceae e Dipterocarpaceae, cada uma com 600 espécies, compreendem dois terços da Ordem.

Dados embriológicos referentes a representantes da Ordem são ainda escassos, e nenhuma informação acerca da microsporogênese e do desenvolvimento do microsporângio em Clusiaceae é encontrada na literatura. Dados específicos destes processos em outras famílias da Ordem revelam uma relativa uniformidade, o que possibilita a indicação dos mesmos como caracteres taxonômicos úteis na definição da Ordem e na caracterização e delimitação das suas diferentes famílias.

C. brasiliense apresenta diferenciação da parede da antera conforme o “tipo básico”. Segundo Davis (1966) o padrão de formação da parede da

antera constitui um caráter taxonômico importante ao nível de família. Das famílias da Ordem Theales, encontra-se referência ao padrão de desenvolvimento da parede da antera apenas para Elatinaceae, que como *C. brasiliense*, exhibe o padrão do tipo básico, e para Dipterocarpaceae, que apresenta diferenciação do tipo dicotiledôneo. Como o tipo dicotiledôneo é interpretado como uma derivação do tipo básico, pela supressão da divisão periclinal na camada parietal secundária interna, a ocorrência destes dois padrões em Theales pode contribuir na interpretação do relacionamento filogenético entre as diferentes famílias componentes da Ordem, e assim a ocorrência do tipo básico em Clusiaceae e Elatinaceae seria um indicativo do posicionamento ancestral destas famílias. Variações no padrão de formação da parede da antera, por outro lado, não conferem, aparentemente, maiores distinções relativas à vantagens adaptativas.

A citocinese é do tipo "Simultâneo" em *C. brasiliense*, e este mostra-se como um caráter bastante homogêneo na Ordem Theales, não havendo referência a variação neste padrão nas famílias já estudadas: Theaceae, Dipterocarpaceae, Ochnaceae, Marcgraviaceae e Elatinaceae (Davis, 1966). A citocinese do tipo simultâneo é um caráter interpretado como derivado, e amplamente difundido entre as angiospermas dicotiledôneas. A tétrade resultante é tetraédrica, como também se observa nas demais famílias, ainda que em Theaceae e Dipterocarpaceae se diferenciem também tétrades isobilaterais e decussadas, e isobilaterais em Elatinaceae.

A camada média em *C. brasiliense* é formada por dois estratos celulares e é efêmera, como nas demais famílias de Theales, cuja variação neste caráter fica apenas por conta do número de estratos celulares, que situa-se entre um e quatro.

Antera tetrasporangiada, como observado em *C. brasiliense*, é um caráter homogêneo na Ordem Theales. Davis (1966) comenta que o padrão de antera tetrasporangiada se constitui num caráter amplamente difundido entre as famílias de dicotiledôneas.

C. brasiliense apresenta tapete do tipo glandular ou secretor com células binucleadas, o que também constitui caráter generalizado na Ordem Theales, com um desvio em Marcgraviaceae que exhibe tapete glandular porém com células uninucleadas. Salientamos que na espécie em estudo o padrão de células uninucleadas no tapete é característico nas fases iniciais do desenvolvimento, porém nas fases finais as mesmas tornam-se

binucleadas. Salienta-se que o tapete do tipo glandular ou secretor é amplamente difundido entre as angiospermas dicotiledôneas, e foi significativamente melhor estudado do que o tapete ameboidal (Bhojwani e Bhatnagar, 1981); contudo a origem e função dos corpúsculos de Ubisch persistem ainda obscuras, ainda que sua ocorrência esteja sempre associada com o tapete do tipo glandular. Os corpúsculos de Ubisch são pequenas estruturas esféricas, que com frequência fundem-se formando agregados maiores, o que, ressalta-se, não foi observado em *C. brasiliense*. A citação da ocorrência destes corpúsculos de Ubisch em representantes de Theales é ainda inédita, provavelmente em decorrência da escassez de estudos mais acurados do processo de microsporogênese neste grupo de plantas. Pacini e Franchi (1982; 1991) e Pacini et al. (1985) afirmam que existem algumas tendências filogenéticas gerais no desenvolvimento do tapete em espermatofita, relacionadas com a promoção de um contato mais íntimo entre o tapete e os grãos de pólen, o que pode se estabelecer pela intrusão das células do tapete entre os micrósporos; pelo movimento das células do tapete e pela correspondente rotação dos micrósporos nos lóculos, e pelo desenvolvimento de lóculos estreitos, onde o contato direto dos micrósporos com o tapete é intensificado. Em *C. brasiliense* duas destas tendências são bem evidenciadas: intrusão das células do tapete entre os micrósporos e o desenvolvimento de lóculos estreitos. Apesar das considerações de Hesse e Hess (1993), alertando que análises filogenéticas e interpretações funcionais das tendências evolutivas do tapete em Embryophyta não podem ser baseadas somente em caracteres tipológicos, acreditamos que os mesmos possam ser valiosos no estudo da Ordem Theales.

A epiderme persistente e o endotécio fibroso são características encontradas em *C. brasiliense* e também típicas da Ordem Theales. A exceção registrada é Dipterocarpaceae que não apresenta diferenciação de endotécio fibroso.

O grão de pólen bicelular quando disperso é outro caráter típico da Ordem, destacando-se o registro de grãos de pólen tricolulares em Elatinaceae (Davis, 1966). O grão de pólen bicelular e tricolporado, como observado em *C. brasiliense* é, segundo Cronquist (1981), o padrão mais comum em Theales.

Referências Bibliográficas

- Bhojwani, S.S.; Bhatnagar, S.P. 1981. **The Embryology of Angiosperms**. 3^o ed. Vikas Publ. House, Delhi, 280 pp.
- Carvalho, P.E.R. 1994. **Espécies Florestais Brasileiras: Recomendações Silviculturais, Potencialidades e Uso da Madeira**. Embrapa-CNPQ/SPI, Brasília, 640 pp.
- Cronquist, A. 1981. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**. Columbia University Press, New York, 1262 pp.
- Dassanayake, M.D.; Fosberg, F.R. 1980. **A Revised Handbook to the Flora of Ceylon**. Vol. I. Amerind Publ. Co. Pvt. Ltd., New Delhi, 508 pp.
- Davis, G.L. 1966. **Systematic Embryology of the Angiosperms**. John Wiley & Sons, New York, 528 pp.
- Hesse, M.; Hess, M.W. 1993. Recent trends in tapetum research. A cytological and methodological review. **Pl. Syst. Evol.**, 7[supl.]: 127 – 145.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant Microtechnique**. McGraw-Hill, New York, 523 pp.
- Klein, R.M. 1969. Árvores nativas da ilha de Santa Catarina. **Insula**, 3: 3 – 93.
- Klein, R.M. 1978. **Mapa Fitogeográfico do Estado de Santa Catarina**. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 24 pp.
- Pacini, E.; Franchi, G.G. 1982. Hypothetical phylogenetic trends of the tapetum in sporangia and anthers. **Giornale Botanico Italiano**, 116 [supl.]: 17 – 18.
- Pacini, E.; Franchi, G.G. 1991. Diversification and evolution of the tapetum. *In*: Blackmore, S. e Barnes, S.H. (ed). **Polen and Spores. Systematics Association Special**. Vol. 44. Clarendon Press, Oxford, p. 301-316.
- Pacini, E.; Franchi, G.G.; Hesse, M. 1985. The tapetum: its form, function, and possible phylogeny in embryophyta. **Pl. Syst. Evol.**, 149: 155 – 185.
- Roeser, K.R. 1972. Die Nadel der Schwarzkiefer massem Produkt und kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, 61(2): 33 – 36.
- Sass, J.E. 1951. **Botanical Microtechnique**. The Iowa State College, Iowa, 228 pp.