

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA

Roberta Maidana da Silva

**ONTOGÊNESE DA ANTERA, MICROSPOROGÊNESE E
MICROGAMETOGÊNESE DE *DYCKIA STREHLIANA* H. BÜNEKER &
R. PONTES (BROMELIACEAE)**

Santa Maria, RS
2021

Roberta Maidana da Silva

**ONTOGÊNESE DA ANTERA, MICROSPOROGÊNESE E
MICROGAMETOGÊNESE DE *Dyckia strehliana* H. BÜNEKER & R. PONTES
(BROMELIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de concentração Caracterização de espécies vegetais em ambiente natural e/ou modificado, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**.

Orientador: Prof. Dr. João Marcelo Santos de Oliveira

Santa Maria, RS
2021

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Silva, Roberta Maidana

ONTOGÊNESE DA ANTERA, MICROSPOROGENESE E
MICROGAMETOGÊNESE DE DYCKIA STREHLIANA H. BÜNEKER & R.

PONTES (BROMELIACEAE) / Roberta Maidana Silva.- 2021.

79 p.; 30 cm

Orientador: João Marcelo Santos de Oliveira
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa

Maria, Centro de Educação, Programa de Pós-Graduação em
Agrobiologia, RS, 2021

1. amido 2. desenvolvimento 3. endêmica 4. grão de
pólen 5. reófito I. Santos de Oliveira, João Marcelo II.
Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados
fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de
Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável
Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

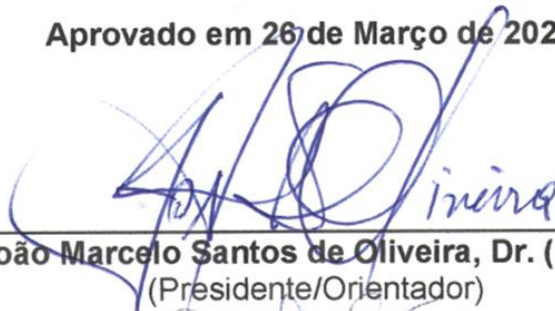
Declaro, ROBERTA MAIDANA SILVA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Roberta Maidana da Silva

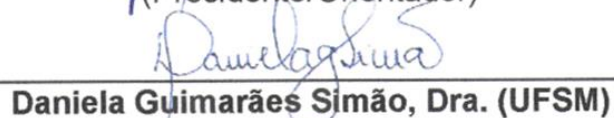
**ONTOGÊNESE DA ANTERA, MICROSPOROGÊNESE E
MICROGAMETOGÊNESE DE *Dyckia strehliana* H. BÜNEKER & R. PONTES
(BROMELIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de concentração Caracterização de espécies vegetais em ambiente natural e/ou modificado, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**.

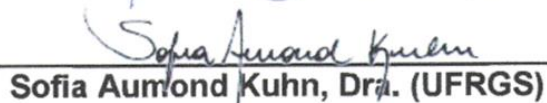
Aprovado em 26 de Março de 2021:



João Marcelo Santos de Oliveira, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Daniela Guimarães Simão, Dra. (UFSM)



Sofia Aumond Kuhn, Dra. (UFRGS)

Santa Maria, RS
2021

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre iluminar meus caminhos. Agradeço a Ele por tudo. Á toda minha família, pelo carinho e por estarem sempre ao meu lado, torcendo pelas minhas conquistas.

Ao Matheus, meu namorado, companheiro e incentivador. Obrigada por todo amor e pela ajuda em todos os momentos.

Aos meus padrinhos, pelo apoio em todas as etapas e escolhas da minha vida.

As minhas amigas Marjana e Kelin. A amizade de vocês foi essencial nesta etapa.

Ao professor João Marcelo Santos de Oliveira, pelos ensinamentos e orientação durante esta jornada. Muito obrigada.

Aos colegas do Laboratório de Botânica Estrutural (LABOTE), pela ajuda e parceria neste período.

Á CAPES, pelo apoio financeiro.

RESUMO

ONTOGÊNESE DA ANTERA, MICROSPOROGÊNESE E MICROGAMETOGÊNESE DE *Dyckia strehliana* H. BÜNEKER & R. PONTES (BROMELIACEAE)

Autor: Roberta Maidana da Silva

Orientador: João Marcelo Santos de Oliveira

Muitas espécies de angiospermas são consideradas reófitas, ou seja, se desenvolvem em margens de córregos e rios de fluxo rápido e sujeitas à ação de inundações frequentes, como é o caso de *Dyckia strehliana* H. Büneker & R. Pontes (Bromeliaceae). Considerada também saxícola, seu desenvolvimento ocorre em margens rochosas basálticas do Rio Toropi, no município de Quevedos, RS. É uma espécie endêmica dessa região, uma área de risco de degradação ambiental pela construção de centrais hidrelétricas, figurando como uma ameaça à extinção. Deste modo, este estudo teve o objetivo de analisar e descrever anatomicamente o desenvolvimento da antera de *D. strehliana*, além de caracterizar os processos embriológicos, microsporogênese e microgametogênese, e a dinâmica do amido durante estas etapas. Para a realização do estudo, foram realizadas coletas de inflorescências em diferentes estádios do desenvolvimento e processadas no Laboratório de Botânica Estrutural. O surgimento dos primórdios estaminais no meristema floral de *D. strehliana* ocorre por divisões da camada II. A formação do esporângio é do tipo básico, a epiderme persiste durante todo o desenvolvimento, e suas células adquirem formato arredondado na maturação da antera. O endotécio adquire espessamentos em U e em O, a camada média pode se dividir novamente em alguns locais do esporângio, se degenerando na maturação da antera. O tapete é secretor invasivo, inicia um processo de alteração da sua composição química no início da meiose das células arquesporais e posteriormente possui a tendência de invadir o lóculo da antera. A meiose é sucessiva, formando tétrades de arranjo isobilateral e decussado. A mitose dos micrósporos é assimétrica e os grãos de pólen possuem abertura sulcada. A esporoderme é composta por exina lipídica e proteica, e intina péctica, proteica e celulósica. O conectivo possui espessamentos fibrosos. Ráfides são comuns no conectivo e regiões próximas aos lóculos. Os grãos de pólen possuem um ciclo de amilogênese – amilólise, com pico de acumulação de amido durante a fase em que a célula generativa está movida para a posição central da célula vegetativa. Esporângio e conectivo apresentam poucas quantidades de grãos de amido durante o desenvolvimento da antera, e no tapete foram observados durante a degeneração. Os resultados embriológicos gerais encontrados vão de encontro com os descritos para Bromeliaceae e *Dyckia*, contudo, detalhes relacionados ao tapete e a dinâmica do amido contrastam *D. strehliana* de outras espécies do gênero. Tais dados somam-se com estudos já realizados e contribuem para estudos futuros. Sendo assim, contribuirá para a caracterização do processo de reprodução, relações filogenéticas e auxiliará para a conservação e preservação da mesma.

Palavras-chave: amido, desenvolvimento, endêmica, grão de pólen, reófitas

ABSTRACT

ANTHER ONTOGENESIS, MICROSPOROGENESIS AND MICROGAMETOGENESIS OF *Dyckia strehliana* H. BÜNEKER & R. PONTES (BROMELIACEAE)

Author: Roberta Maidana da Silva

Advisor: João Marcelo Santos de Oliveira

Many species of angiosperms are considered rheophytes, that is, they develop in the banks of streams and fast-flowing rivers and are subject to the action of frequent floods, as is the case of *Dyckia strehliana* H. Büneker & R. Pontes (Bromeliaceae). Also considered saxicolous, its development occurs on basaltic rocky banks of the Toropi River, in the municipality of Quevedos, RS. It is an endemic species in this region, an area at risk of environmental degradation due to the construction of hydroelectric plants, appearing as a threat to extinction. Thus, this study aimed to anatomically analyze and describe the development of the anther of *D. strehliana*, in addition to characterizing the embryological processes, microsporogenesis and microgametogenesis, and the dynamics of starch during these stages. In order to carry out the study, inflorescences were collected at different stages of development and processed in the Structural Botany Laboratory. The emergence of stem primordia in the floral meristem of *D. strehliana* occurs through layer II divisions. The formation of the sporangium is of the basic type, the epidermis persists throughout development, and its cells acquire a rounded shape during anther maturation. The endothelium acquires U- and O-shaped thickening, the middle layer may divide again in some places in the sporangium, degenerating into anther maturation. The mat is an invasive secretor, starts a process of changing its chemical composition at the onset of meiosis in archesporial cells and later has a tendency to invade the anther locus. Meiosis is successive, forming tetrads of isobilateral and decussate arrangement. Microspore mitosis is asymmetric and pollen grains have a grooved opening. The sporoderm is composed of lipid and protein exine, and pectic, protein and cellulosic intin. The connective has fibrous thickenings. Raphids are common in the connective and regions close to the locules. Pollen grains have a cycle of amylogenesis – amylolysis, with a peak of starch accumulation during the phase in which the generative cell is moved to the central position of the vegetative cell. Sporangium and connective showed small amounts of starch grains during anther development, and in the mat they were observed during degeneration. The general embryological results found are in agreement with those described for Bromeliaceae and *Dyckia*, however, details related to the tapetum and starch dynamics contrast *D. strehliana* from other species of the genus. Such data are added to studies already carried out and contribute to future studies. Thus, it will contribute to the characterization of the reproduction process, phylogenetic relationships and will help for its conservation and preservation.

Keywords: reophyte, development, endemic, pollen grain, starch.

LISTA DE IMAGENS

CAPÍTULO 1

Figura 1 – Morfologia e local de coleta de <i>Dyckia strehliana</i>	54
Figura 2 – Formação inicial dos primórdios estaminais.....	55
Figura 3 – Crescimento e desenvolvimento da antera.....	56
Figura 4 – Estrutura da epiderme, endotécio e camada média.....	57
Figura 5 – Estrutura do tapete.....	58
Figura 6 – Processo de degeneração do tapete.....	59
Figura 7 – Esporogênese.....	60
Figura 8 – Tétrades.....	61
Figura 9 – Gametogênese.....	62
Figura 10 – Grãos de pólen maduros.....	63
Figura 11 – Aspectos da antera madura.....	64
Figura 12 – Conectivo e ráfides.....	65

CAPÍTULO 2

Figura 1 – Dinâmica do amido no estágio de meiose.....	77
Figura 2 – Presença de amido após a mitose dos grãos de pólen.....	78

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Testes histoquímicos empregados para detectar metabólitos primários e secundários citoplasmáticos e estruturais.....	51
Tabela 2 - Testes histoquímicos empregados na detecção de compostos da esporoderme.....	52
Tabela 3 - Classificação do estágio de desenvolvimento da antera de acordo com o comprimento do botão floral.....	53

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Relação da presença ou ausência de amido durante os estágios de desenvolvimento da antera.....	76
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAPÍTULO 1

CI	Camada I
CII	Camada II
CIII	Camada III
CMM	Célula-mãe do micrósporo
ML	Microscopia de Luz

CAPÍTULO 2

CMM	Célula-mãe do micrósporo
ML	Microscopia de Luz

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
ESTUDOS TAXONÔMICOS E MORFOLÓGICOS.....	15
ESTUDOS EMBRIOLÓGICOS	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
CAPÍTULO 1 : ANTERA: DESENVOLVIMENTO INICIAL, ESPOROGÊNESE E GAMETOGÊNESE	23
INTRODUÇÃO.....	24
MATERIAL E MÉTODOS	26
Caracterização do local de coleta	26
Caracterização da espécie de acordo com Buneker et al. (2013).....	26
Processamentos em laboratório.....	26
RESULTADOS	28
Caracterização do meristema floral anteriormente a iniciação dos estames.....	28
Surgimento dos primórdios estaminais	28
Formação dos esporângios.....	29
Epiderme.....	30
Endotécio	30
Camada Média.....	31
Tapete	31
Esporogênese	32
Gametogênese.....	34
Esporoderme.....	34
Antera madura	35
Conectivo	35
Ráfides	36
DISCUSSÃO.....	37
Formação inicial dos estames.....	37
Formação dos esporângios.....	37
Estratos parietais	38
Microsporogênese.....	41
Microgametogênese.....	42
Características da antera madura	43

Conectivo e ráfides	43
CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
CAPITULO 2: DINÂMICA DO AMIDO	66
INTRODUÇÃO.....	67
MATERIAL E MÉTODOS	69
RESULTADOS	70
DISCUSSÃO.....	70
CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
CONSIDERAÇÕES FINAIS	79

INTRODUÇÃO

Muitas espécies de angiospermas são consideradas reófitas, pois se desenvolvem em margens de córregos e rios de fluxo rápido e sujeitas à ação de inundações frequentes. A grande maioria é encontrada em planícies tropicais e subtropicais quentes, geralmente em riachos pequenos e de baixa altitude (VAN STEENIS, 1987). Algumas famílias consistem inteiramente como Podostemaceae e Hydrostachyaceae (VAN STEENIS, 1987). *Dyckia* (Bromeliaceae) possui espécies exclusivamente reófitas, como é o caso de *Dyckia strehliana* H. Bünker & R. Pontes, em que o seu desenvolvimento ocorre em margens rochosas basálticas de rio de fluxo rápido (BÜNEKER et al., 2013). É considerada também saxícola por se desenvolver sob rochas (BÜNEKER et al., 2013). Esta espécie é endêmica das margens do Rio Toropi, entre os municípios de Júlio de Castilhos e Quevedos, RS, um dos polos de diversidade florística mais notáveis no centro-oeste, considerado um verdadeiro refúgio de inúmeras espécies endêmicas, raras e ameaçadas de extinção (MARCHIORI et al., 2014).

A população de *D. strehliana* está localizada em uma área de risco de degradação ambiental pela construção de centrais hidrelétricas, figurando como uma ameaça à extinção. O elevado número de espécies de Bromeliaceae à beira da extinção se detém na alta especificidade de habitats destas populações, somadas com a perda acelerada da vegetação nativa e o extrativismo exacerbado (FORZZA et al., 2013). Assim, estudos embriológicos são importantes como base para esforços de conservação e preservação das espécies.

Os trabalhos embriológicos até então realizados são baseados em dados generalistas para as angiospermas (BHANDARI, 1984) ou monocotiledôneas (AHMAD; MARTIN; VELLA, 2009). Para Bromeliaceae são poucos os trabalhos embriológicos completos, incluindo anteras e carpelos (DAVIS, 1966; LAKSHMANAN, 1966; RAO e WEE, 1979; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; SAJO et al., 2005; NOGUEIRA, et al. 2015). Estudos do gênero são restritos a poucas espécies, como *Dyckia pseudococcinea* L. B. Sm. (MENDES; COSTA; DE TONI, 2012), *Dyckia racineae* L. B. Sm. (DORNELES, 2014; CARVALHO et al., 2016), *Dyckia tuberosa* (Vell.) Mez (DE OLIVEIRA, 2020), *Dyckia ibicuiensis* Strehl (CARVALHO et al., 2016) e *Dyckia polyclada* L.B. Sm (CARVALHO et al., 2016; MARTINS; 2016).

A descrição da origem do estame do meristema floral e desenvolvimento inicial foi analisada no presente estudo, assunto que não foi explorado em Bromeliaceae, tão pouco em *Dyckia*. Estudos da histogênese estaminal foram realizados em famílias distintas (SATINA; BLAKESLEE, 1941; BARNARD, 1955; KAPLAN, 1968; OLIVEIRA; MARIATH; BUENO, 2001). Dada a complexidade deste tipo de estudo, exige-se grande quantidade de materiais bem como elevada habilidade no manuseio dos mesmos. Deste modo, o estabelecimento das camadas do meristema floral formadoras do órgão é pouco explorado na literatura, o que contribui para o pouco conhecimento acerca do desenvolvimento estaminal, não do ponto de vista conceitual, mas de sua diversidade dada o número de espécies conhecidas e o número de espécies estudadas neste tema. Todo o desenvolvimento da antera, assim como a microsporogênese, a microgametogênese, e os metabólitos presentes nestes processos, indicam muitos aspectos da polinização, do meio em que a espécie se encontra e algum estresse ambiental. Fatores ambientais que proporcionam estresse para a planta podem afetar o desenvolvimento, causando falhas ou até mesmo comprometendo a eficiência do grão de pólen (GARCIA; NEPI; PACINI, 2017).

Durante a maturação dos grãos de pólen a reserva de amido é marcante, a qual será utilizada durante os estágios iniciais da germinação do pólen e do crescimento dos tubos polínicos (VASIL, 1967). Além disso, estes carboidratos podem ser metabolizados imediatamente, usado como precursores de intina, convertido em outras moléculas, ou armazenadas como reservas de polissacarídeos (PACINI, 1996). Tais estudos são importantes para a compreensão dos órgãos florais, além de criar relações com dados morfológicos, auxiliando na descrição das espécies

Baseado nas informações supracitadas, o presente estudo teve como objetivo analisar e descrever anatomicamente o desenvolvimento da antera de *Dyckia strehliana*. Caracterizar os processos embriológicos, microsporogênese e microgametogênese, assim como salientar os compostos químicos presentes, incluindo a dinâmica do amido nestas etapas.

Este trabalho apresentou dados específicos para *Dyckia strehliana*, que em parte contrastaram com características de outras espécies do gênero, e em outra parte assemelhou-se com o descrito para a família. Sendo assim, tal estudo contribuirá para a caracterização do processo de reprodução, relações filogenéticas e auxiliará para a conservação e preservação da espécie.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

ESTUDOS TAXONÔMICOS E MORFOLÓGICOS

Bromeliaceae é considerada uma família muito diversificada dentro da ordem Poales (APG IV, 2016). Algumas espécies possuem grande potencial ornamental outras são utilizadas na medicina e na alimentação (BENZING, 2000; SOUZA; LORENZI, 2012). A maioria das espécies de Bromeliaceae são ervas perenes, terrestres, saxícolas ou epífitas, com folhas espiraladas, apresentam inflorescências racemosas ou em forma de espiga, com flores trímeras (SMITH; DOWNS, 1974). Tais plantas podem ser encontradas em florestas tropicais, em locais arenosos, rochosos e margens de rios (SMITH; DOWNS, 1974). A família compreende aproximadamente 3000 espécies distribuídas em 78 gêneros (GOUDA; BUTCHER; GOUDA, 2021). Dentre os gêneros, 56 são encontrados no Brasil e cerca de 38% destes são endêmicos do país (FORZZA et al., 2015). Muitas espécies de Bromeliaceae encontradas as margens do rio Toropi são endêmicas do Rio Grande do Sul (BUNEKER; WITECK-NETO, 2016).

Dyckia contém cerca de 176 espécies (GOUDA; BUTCHER; GOUDA, 2021), que caracterizam-se por serem saxícolas e terrícolas, sendo algumas espécies reófitas com ocorrência ao longo de corredeiras de rios (SMITH; DOWNS, 1974). As folhas são normalmente duras e rígidas, com inflorescência lateral. As flores são sésseis ou pediceladas, tipicamente laranja, vermelhas ou amarelas e geralmente completas (KRAPP; EGGLI, 2020). O centro de diversidade do gênero está localizado nos Campos Rupestres brasileiros, mas muitas espécies são endêmicas de outras regiões formando pequenas populações (KRAPP; EGGLI, 2020). Dentro do gênero, 16 espécies estão no livro vermelho da flora do Brasil, com o risco de extinção, sendo a grande maioria endêmica do Brasil (FORZZA et al., 2013).

ESTUDOS EMBRIOLÓGICOS

A grande maioria das anteras em angiospermas é caracterizada pela presença de quatro esporângios (BHANDARI, 1984). As células arquesporais dividem-se periclinalmente e separam-se da camada parietal primária (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). A partir desta divisão, o desenvolvimento da parede da antera pode ser de quatro tipos segundo Davis (1966): Básico, Dicotiledôneo, Monocotiledôneo e Reduzido. Em Bromeliaceae o tipo de desenvolvimento da parede

da antera é monocotiledôneo (SAJO et al., 2005). Entretanto, estudos com algumas espécies de *Dyckia*, como *D. racinae* e *D. pseudococcinea*, foram encontrados o tipo básico (DORNELES, 2014; MENDES; COSTA; DE TONI, 2012).

A epiderme possui função de proteção e sofre apenas divisões anticlinais (VASIL, 1967; JOHRI, AMBEGAOKAR e SRIVASTAVA, 1992). Podem ser esticadas, comprimidas ou desprendidas durante a maturação da antera, e adquirir espessamentos fibrosos ou desenvolver projeções cuticulares (BHANDARI, 1984). O endotécio é responsável pela deiscência da antera, podendo adquirir espessamentos fibrosos (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; BHANDARI, 1984). Espessamentos fibrosos dos tipos helicoidal, anular ou em “U” foram descritas para algumas espécies de Bromeliaceae, dentre elas *Dyckia* (CARVALHO, 2016; MENDES; COSTA; DE TONI, 2012; DORNELES, 2014; SPAT, 2012; DE OLIVEIRA et al., 2020). A camada média é geralmente rica em nutrientes de reserva (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992), e normalmente efêmera (VASIL, 1967; BHANDARI, 1984). Segundo Bhandari (1984), em angiospermas primitivas, o número de camadas médias é maior e o endotécio é multicamada, resultando em uma parede maciça.

O tapete é a camada mais interna da parede da antera, fornecendo nutrientes para as células arquesporais (BHANDARI, 1984; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985). Esta camada produz substâncias que retêm os grãos de pólen juntos na antera em antese enquanto aguardam o agente de dispersão (PACINI; FRANCHI, 1993; PACINI, 1997). Além disso, pode sintetizar enzimas, precursores da exina e formar corpos de Ubisch (HALBRITTER et al., 2018). Os corpos de Ubisch são estruturas esferoidais encontradas nas anteras de muitos gêneros de angiospermas (ECHLIN, 1971). Pode ser do tipo ameboide, o que geralmente ocorre em monocotiledôneas, ou secretor, característico de dicotiledôneas (BHANDARI, 1984; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Outro tipo de tapete também encontrado em monocotiledôneas é o invasivo (FURNESS; RUDALL, 1998), os quais podem invadir o lóculo da antera, mas não se fundem. Tal tipo foi encontrado em *Vriesea carinata* Wawra (Bromeliaceae) (SARTORI, 2008), entretanto a maioria das espécies de Bromeliaceae apresentam o tapete secretor (SAJO et al., 2005).

Na microsporogênese, a meiose pode ter citocinese simultânea, característica de dicotiledôneas, ou sucessiva, comum em monocotiledôneas. (JOHRI;

AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Em Bromeliaceae a microsporogênese é do tipo sucessiva (SAJO et al., 2005). Após a meiose II formam tétrades geralmente tetraédricas e isobilaterais, mas podem ser lineares, em forma de T ou decussadas (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992), sendo o tipo isobilateral o mais comum encontrado em Bromeliaceae (DORNELES, 2014; MENDES; COSTA; DE TONI, 2012; SPAT, 2012; RAO e WEE, 1979). As tétrades são envoltas por uma camada de calose que desempenha funções importantes, pois isola o tecido esporogênico do tecido somático, além de isolar os micrósporos individuais (BHANDARI, 1984). A calose funciona como uma barreira eficaz para o intercâmbio de materiais entre o tapete e os micrósporos em desenvolvimento (EGLIN, 1971) e participa da formação da primexina (SHI; HAN; LU, 2016).

Na microgametogênese ocorre uma mitose assimétrica, dando origem a uma célula generativa localizada no citoplasma de uma célula vegetativa. (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Eva, Papini e Brighigna (2006) afirmaram para *Tillandsia seleriana* Mez (Bromeliaceae) que a atividade metabólica do grão de pólen é principalmente realizada pela célula vegetativa, a qual fornece nutrição para o desenvolvimento da célula generativa e acumula materiais necessários para a germinação do pólen. A maioria das angiospermas desenvolvem grãos de pólen bicelulares, e uma pequena minoria apresenta-se na forma tricelular (PACINI; FRANCHI, 2020). Os grãos de pólen em Bromeliaceae são do tipo sulcado (SAJO et al., 2005). A abertura geralmente atua como o local de germinação, durante a formação do tubo polínico (HESSE et al., 2009). Os açúcares são os principais substratos metabólicos usados para a germinação do pólen (STANLEY, 1971).

A presença de grãos de amido nos tecidos é uma característica importante no desenvolvimento da antera e dos grãos de pólen. Estudos sobre a dinâmica destes carboidratos foram realizados com algumas espécies de Bromeliaceae, como *Aechmea recurvata* (Klotzsch.) L.B.Sm., *Dyckia racinae* e *Tillandsia aeranthos* (Loisel.) L.B.Sm. (OLIVEIRA, et al., 2015). Outros trabalhos apenas apontaram a presença e/ou a fase de desenvolvimento da antera que ocorre o pico de acumulação, como em *Tillandsia aeranthos* (SPAT, 2012), *Dyckia polyclada* (MARTINS, 2016) e *Vriesea carinata* (SARTORI, 2008). O processo de amilogênese e amilólise pode ocorrer uma ou duas vezes nos micrósporos, sendo que em monocotiledôneas é característico ocorrer apenas um ciclo (PACINI, 1994).

O pólen de angiospermas possui características comuns como a presença de reservas de carboidratos para o desenvolvimento dos gametófitos e sua manutenção até a germinação, parede composta por exina e intina e contém os gametas ou seus precursores (PACINI, 2000).

A primeira etapa da formação da parede do pólen começa na fase de tétrade dos micrósporos, com a deposição da primexina polissacarídica na superfície dos micrósporos, formando um modelo para deposição da esporopolenina (HALLBRITER et al., 2018). A parede do grão de pólen possui uma importante função durante a liberação da antera até a chegada no estigma. Alguns compostos principais estão envolvidos durante a formação da parede de micrósporos, os polissacarídeos, celulose e calose, além da esporopolenina (HESLOP-HARRISON, 1968). De modo geral é formada por duas camadas, a exina e a intina. A exina consiste principalmente em esporopolenina e a intina é composta principalmente por celulose e pectina. (HALBRITTER et al., 2018). A intina é mais espessa na região de abertura, e uma das suas funções é absorver e liberar água, especialmente na região apertural (PACINI, 1994). As variações encontradas na estrutura da exina podem contribuir para a sobrevivência de grãos de pólen de diferentes espécies (STANLEY, 1971).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, N. M.; MARTIN, P. M.; VELLA, J. M. Embryology of the dioecious Australian endemic *Lomandra longifolia* (Lomandraceae). **Australian Journal of Botany**, v. 56, n. 8, p. 651-665, 2009.
- 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*, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.
- BARNARD, C. Histogenesis of the inflorescence and flower of *Triticum aestivum* L. **Australian Journal of Botany**, v. 3, n. 1, p. 1-20, 1955.
- BENZING, D. H. **Bromeliaceae: perfil de uma radiação adaptativa**. Cambridge University Press, 2000.
- BHANDARI, N. N. The microsporangium. In: **Embryology of angiosperms**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 53-121, 1984.
- BÜNEKER, H. M.; WITECK-NETO, L. Levantamento de Bromeliaceae na região do curso médio do rio Toropi, Rio Grande do Sul, Brasil. **Balduinia**, n. 52, p. 01-14, 2016.
- CARVALHO, J. D. T. et al. Stamen morphoanatomy of *Dyckia* Schult.f. (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) species: new data for taxonomic use. **Acta Botanica Brasílica**, v. 30, n. 3, p. 389-400, 2016.
- DAVIS, G. L. **Systematic Embryology of Angiosperms**. John Wiley and Sons. Inc., New York, 1966.
- DE OLIVEIRA, F. M. C. et al. Androecium and gynoecium anatomy of Bromeliaceae species. **Flora**, v. 263, p. 151538, 2020.
- DORNELES, M. P. **Desenvolvimento inicial, caracterização estrutural da flor, androsporogênese e androgametogênese em *Dyckia racinae* L.B.Sm. (Pitcairnioideae-Bromeliaceae)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.
- ECHLIN, P. The role of the tapetum during microsporogenesis of angiosperms. In: **Pollen: Development and Physiology**. Butterworth-Heinemann, p. 41-61, 1971.
- EVA, M.; PAPINI, A.; BRIGHIGNA, L. Ultrastructural studies on bicellular pollen grains of *Tillandsia seleriana* Mez (Bromeliaceae), a neotropical epiphyte. **Caryologia**, v. 59, n. 1, p. 88-97, 2006.
- FORZZA, R. C. et al. Bromeliaceae. **Livro vermelho da flora do Brasil**, p. 315-396, 2013.

FORZZA, R.C. et al. **Bromeliaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB66>>.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. The tapetum and systematics in monocotyledons. **The Botanical Review**, v. 64, n. 3, p. 201-239, 1998.

GARCÍA, C. C.; NEPI, M.; PACINI, E. It is a matter of timing: asynchrony during pollen development and its consequences on pollen performance in angiosperms—a review. **Protoplasma**, v. 254, n. 1, p. 57-73, 2017.

GOUDA, E.J.; BUTCHER, D.; GOUDA, C.S. (cont.updated) **Encyclopaedia of Bromeliads**, Version 4. <http://bromeliad.nl/encyclopedia/> University Botanic Gardens, Utrecht (accessed: 09 de Fevereiro de 2021).

HALBRITTER, H. et al. **Illustrated pollen terminology**. Springer, 2018.

HESLOP-HARRISON, J. Pollen wall development. **Science**, v. 161, n. 3838, p. 230-237, 1968.

HESSE, M. et al. **Pollen Terminology. An illustrated Handbook**. Springer, Vienna, 2009.

JOHRI, B. M.; AMBEGAOKAR, K. B.; SRIVASTAVA, P. S. Comparative embryology of angiosperms. **New York and Berlin: Springer-Verlag**, 1992.

KAPLAN, D. R. Histogenesis of the androecium and gynoecium in *Downingia bacigalupii*. **American Journal of Botany**, v. 55, n. 8, p. 933-950, 1968.

KRAPP, F.; EGGLI, U. *Dyckia* BROMELIACEAE. **Monocotyledons**, p. 893-962, 2020.

LAKSHMANAN, K. K. Embryological studies in the Bromeliaceae. In: **Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section B**. Springer India, p. 49-55, 1967.

MARCHIORI, J. N. C. et al. Campos e florestas no curso médio do Rio Toropi, Rio Grande do Sul (Brasil). Retrato de um admirável patrimônio ameaçado. **Balduinia**, n. 45, p. 01-16, 2014.

MARTINS, S. M. **Desenvolvimento embriológico em *Dyckia polyclada* L.B.Sm. (Pitcairnioideae – Bromeliaceae)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

MENDES, S. P.; COSTA, C. G.; DE TONI, K. L.G. Androecium development in the bromeliad *Dyckia pseudococcinea* LB Sm. (Pitcairnioideae-Bromeliaceae), an endangered species endemic to Brazil: implications for conservation. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 207, n. 8, p. 622-627, 2012.

- NOGUEIRA, F. M. et al. Ovary and ovule anatomy in the nidularioid complex and its taxonomic utility (Bromelioideae: Bromeliaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 177, n. 1, p. 66-77, 2015.
- OLIVEIRA, J. M. S. et al. Starch distribution in anthers, microspores and pollen grains in *Aechmea recurvata* (Klotzsch.) LB Sm., *Dyckia racinae* LB Sm. and *Tillandsia aeranthos* (Loisel.) LB Sm. (Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, n. 1, p. 103-112, 2015.
- OLIVEIRA, J.; MARIATH, J. E. A; BUENO, D. Desenvolvimento floral e estaminal no clone CP76 de *Anacardium occidentale* L.: cajueiro-anão precoce (Anacardiaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 24, n. 4, p. 377-388, 2001.
- PACINI, E. Cell biology of anther and pollen development. In: **Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants**. Springer, Dordrecht, p. 289-308, 1994.
- PACINI, E. Tapetum character states: analytical keys for tapetum types and activities. **Canadian Journal of Botany**, v. 75, n. 9, p. 1448-1459, 1997.
- PACINI, E. Types and meaning of pollen carbohydrate reserves. **Sexual Plant Reproduction**, v. 9, n. 6, p. 362-366, 1996.
- PACINI, E.; FRANCHI, G. G. Role of the tapetum in pollen and spore dispersal. In: **The Tapetum**. Springer, Vienna, p. 1-11, 1993.
- PACINI, E.; FRANCHI, G. G.; HESSE, M. The tapetum: its form, function, and possible phylogeny in Embryophyta. **Plant Systematics and Evolution**, v. 149, n. 3, p. 155-185, 1985.
- PACINI, E.; FRANCHI, G. G. Pollen biodiversity—why are pollen grains different despite having the same function? A review. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 193, n. 2, p. 141-164, 2020.
- RAO, A. N.; WEE, Y. C. Embryology of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. **New Phytologist**, p. 485-497, 1979.
- SAJO, M. G. et al. Microsporogenesis and anther development in Bromeliaceae. **Grana**, v. 44, n. 2, p. 65-74, 2005.
- SARTORI, J. S. **Desenvolvimento floral em *Vriesea carinata* WAWRA (Tillandsioideae – Bromeliaceae)**. 2008. Tese (Doutorado em Ciências: Botânica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2008.
- SATINA, S.; BLAKESLEE, A. F. Periclinal chimeras in *Datura stramonium* in relation to development of leaf and flower. **American Journal of Botany**, v. 28, n. 10, p. 862-871, 1941.

SHI, X.; HAN, X.; LU, T. Callose synthesis during reproductive development in monocotyledonous and dicotyledonous plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 11, n. 2, p. e1062196, 2016.

SMITH, L.B.; DOWNS, R.J. **Pitcairnioideae (Bromeliaceae). Flora Neotropical** Monograph n. 14. Hafner Press, New York, 1974.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas do Brasil, baseado em APG III**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2012.

SPAT, C. **Embriologia de *Tillandsia aeranthos* (LOIS.) L. B. SM. (Tillandsioideae – Bromeliaceae)**. 2012. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

STANLEY, R. G. Pollen chemistry and tube growth. In: **Pollen: Development and Physiology**. Butterworth-Heinemann, p. 131-155, 1971.

VAN STEENIS, C. G. G. J. Rheophytes of the world: supplement. **Allertonia**, v. 4, n. 5, p. 267-330, 1987.

VASIL, I. K. Physiology and cytology of anther development. **Biological Reviews**, v. 42, n. 3, p. 327-366, 1967.

CAPÍTULO 1

ANTERA: DESENVOLVIMENTO INICIAL, ESPOROGÊNESE E GAMETOGÊNESE

INTRODUÇÃO

A antera possui uma estrutura formada quatro microsporângios alongados, que representa a parte superior dos estames, contém tecidos reprodutivos e não reprodutivos responsáveis pela produção e liberação de grãos de pólen para os processos de polinização e fecundação. Nos microsporângios se desenvolve o tecido esporogênico que dá origem aos micrósporos, os quais se desenvolvem em gametófitos masculinos, os grãos de pólen (VASIL, 1966; BHANDARI, 1984). Apesar de existirem alguns padrões nas angiospermas, os aspectos embriológicos da antera podem ser variáveis, importantes para compreensão de processos reprodutivos assim como nas pressões ambientais nas quais as espécies são submetidas em seu habitat.

O desenvolvimento da antera é marcado por duas fases gerais, a morfologia da antera é estabelecida e os tecidos são diferenciados, e a maturação dos grãos de pólen e degeneração dos tecidos (GOLDBERG; BEALS; SANDERS, 1993). Alguns estudos sobre o desenvolvimento da antera, microsporogênese e microgametogênese em Bromeliaceae focam em características pontuais como por exemplo, o desenvolvimento da parede da antera, tipo de tapete e tipo de meiose no trabalho de Sajo et al. (2005), o desenvolvimento dos tecidos da parede no estudo de De Oliveira et al. (2020) ou aspectos ultraestruturais das organelas durante a microsporogênese estudada por Hess (1991). Já para o gênero *Dyckia*, as pesquisas embriológicas relacionadas a antera são restritas a poucas espécies, como *Dyckia pseudococcinea* (MENDES; COSTA; DE TONI, 2012), *Dyckia racinae* (DORNELES, 2014; CARVALHO et al., 2016), *Dyckia tuberosa* (DE OLIVEIRA, 2020), *Dyckia ibicuiensis* (CARVALHO et al., 2016) e *Dyckia polyclada* (CARVALHO et al., 2016; MARTINS; 2016). As análises do desenvolvimento inicial da antera no meristema floral são muito escassas dada a sua importância para a compreensão sobre a formação do órgão. Deste modo, a histogênese estaminal não foi trabalhada para nenhuma espécie de Bromeliaceae, incluindo representante de *Dyckia*, até o momento.

Dyckia strehliana é uma espécie reófito, saxícola, endêmica das margens do Rio Toropi, RS. A população é sujeita a inundações frequentes em períodos de cheia do rio, e totalmente expostas a luz solar. É uma espécie ameaçada de extinção, e deste modo, pesquisas relacionadas a reprodução contribuem para a compreensão dos meios de propagação da espécie, além de relacionar o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos com possíveis fatores bióticos e abióticos do seu ambiente.

Assim, detalhes embriológicos da antera são importantes para compreensão do órgão e da funcionalidade dos grãos de pólen

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi analisar a origem da antera, descrever anatomicamente a sua formação no meristema floral até a deiscência do órgão na maturação. Realizar a caracterização da formação dos estratos parietais e observar a microsporogênese e microgametogênese, assim como os aspectos do grão de pólen maduro. Tais dados embriológicos contribuíram para a caracterização da família e do gênero, como também auxiliam no processo de preservação da espécie e do seu local de ocorrência

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização do local de coleta

A população de *Dyckia strehliana* estudada está localizada em uma área basáltica às margens do rio Toropi entre as cidades de Júlio de Castilhos e Quevedos, RS (Figura 1). Foram realizadas 5 coletas de inflorescências em diferentes estádios do desenvolvimento, uma em 2017, três em 2018 e uma no ano de 2019, todas nas mesmas coordenadas geográficas S29°23'26,9" e W054°00'07,9'. Voucher da espécie foi depositado no Herbário SMDB, com registro SMDB 19350. Para realização do trabalho foram obtidas permissões de coleta (Sisbio 52782-4) somado a registro de acesso ao patrimônio genético (Sisgen AA639EA) junto ao Ministério do Meio Ambiente.

Caracterização da espécie

D. strehliana é uma erva reófito e saxícola, rizomatosa, com folhas verdes curvadas para cima ou para as laterais. O escapo é ereto e cilíndrico, a inflorescência é simples, as flores são sésseis com as sépalas amarelo esverdeadas adpressas as pétalas amarelas (Figuras 1A e 1B). Nas flores em antese os estames igualam-se ou são ligeiramente menores que o comprimento das pétalas, os filetes são achatados e os carpelos geralmente são de tamanhos inferiores aos estames. A espécie forma touceiras hemisféricas que ficam submersas em períodos de cheias do rio (Figuras 1C e 1D). Floresce de agosto a novembro (BUNEKER et al. 2013).

Processamentos em laboratório

Os botões florais e/ou flores em antese foram separados do escapo e fixados em glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 (GABRIEL, 1982; MCDOWELL; TRUMP, 1976), os quais ainda em campo, foram submetidos a pressão negativa por meio de um êmbolo, a fim de facilitar a penetração do fixador em tecidos centrais nos órgãos florais.

Os demais processamentos e a análise do material botânico foram realizados no Laboratório de Botânica Estrutural do Departamento de Biologia, CCNE/ UFSM.

As amostras foram retiradas do fixador e imersas em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 (GABRIEL, 1982), e com o auxílio da lupa LEICA foram medidos e dissecados. As medidas foram arbitradas pela dimensão entre a base do receptáculo

e o ápice das sépalas, com intervalos de 0,25mm. Os botões menores, até aproximadamente 2,0mm, foram mantidos com todas as peças florais, já nas amostras maiores foram retiradas as sépalas, pétalas e carpelos. Após, foram colocadas em duas séries de lavagens em água destilada durante 20 minutos, e, a seguir, submetidas ao detergente Extran 5% por 7 dias. Então desidratadas em série etílica (10, 30, 50, 70, 90 e 99%) por 20 minutos em cada graduação alcoólica (O'BRIEN; McCULLY, 1981). A seguir, o material foi submetido à solução de pré-infiltração a base de 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) e álcool etílico 99% na proporção 1:1 por 24 horas e, posteriormente, à infiltração com HEMA puro por 12-24 horas. Os materiais foram emblocados em HEMA (GERRITS; SMID, 1983). As secções transversais e longitudinais das amostras foram realizadas no micrótomo de rotação Thermo Scientific Finess ME+, com espessuras variando de 0,5 a 3 µm. Os cortes resultantes foram corados com Azul de Toluidina O 0,05% pH 4.4 (SIDMAN; MOTTOLA; FEDER, 1961) para os materiais maiores e Azul de Toluidina O 0,5% pH 4.4 nas peças florais menores. As análises das lâminas histológicas foram realizadas em microscópio Leica DM2000 com sistema de captura digital de imagem DFC 295, e com o auxílio da câmera clara.

Para detecção de lipídeos, foi utilizado, com modificações, o protocolo de Oliveira (2015). Os materiais fixados foram desidratados gradualmente em HEMA em concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50% por 50 minutos cada. Após, foram submetidos a desidratação induzida, imersas em 1 ml de 50% HEMA por 48 horas em tubos para microcentrífuga modificados (Oliveira 2015), e então imersos em copo becker contendo sílica. As anteras foram cortadas a mão livre e coradas com Sudan III (O'BRIEN; MCCULLY 1981) e Sudan Black B (SASS, 1951).

Para os testes histoquímicos foram utilizados os reagentes Ácido Periódico-Reativo de Schiff (PAS) para detectar polissacarídeos totais (O'BRIEN; MCCULLY, 1981), Vermelho de Rutênio para ácidos polissacarídicos e ácidos pécticos (JOHANSEN, 1940), Calcofluor White para a localização de celulose (O'BRIEN; MCCULLY 1981), Coomassie Blue em solução acética 7% para proteínas totais (SOUTHWORTH, 1973), Aniline Blue para calose (MARTIN, 1959), Vermelho Neutro para lipídeos (KIRK, 1970), e Auramina O para esporopolenina (NEPI; FRANCHI, 2000). As análises foram realizadas no microscópio Leica DM2000 e Zeiss para contraste diferencial e interferencial (DIC) e fluorescência.

RESULTADOS

Caracterização do meristema floral anteriormente a iniciação dos estames

O surgimento dos órgãos florais no meristema ocorre centripetamente. Botões com primórdios de sépalas e pétalas possuem em média 0,17mm de diâmetro antes do surgimento dos estames (Figura 2A). Em seções longitudinais, as células da camada I são isodiamétricas, com núcleo proeminente e pequenos vacúolos, e em divisões mitóticas anticlinais para acompanhar o crescimento do órgão. As células da camada II possuem núcleo e vacúolos evidentes, em divisões periclinais para a emergência das pétalas. As células da camada III possuem grandes vacúolos, tamanhos variados e em divisões mitóticas anticlinais, periclinais e oblíquas (Figura 2A).

Surgimento dos primórdios estaminais

O meristema floral durante a divisão celular da camada subdérmica que iniciará o primórdio estaminal, possui em torno de 0,22mm de diâmetro. As sépalas estão curvadas ventralmente enquanto os primórdios de pétalas estão em forma de domo (Figura 2B). A camada mais externa do meristema floral, denominada CI, acompanha o crescimento do primórdio estaminal a partir de divisões anticlinais apenas. Suas células possuem núcleo evidente e pequenos vacúolos. A camada subdérmica (CII) sofre uma divisão periclinal, a qual é responsável pela emergência dos estames no meristema floral (Figura 2B, C). As células desta camada possuem pequenos vacúolos e citoplasma denso. As células da CIII possuem tamanho maior e grandes vacúolos, em relação às camadas I e II e estão em divisões mitóticas em todos os planos que, em conjunto com a CII, são responsáveis pelo crescimento do órgão em volume (Figura 2D e 2E).

No início do desenvolvimento dos primórdios estaminais, os estames oposipétalos são basalmente epipétalos, condição esta que é possível observar por meio de seções longitudinais (Figura 2D e 2E); além disso aparentam ser levemente menores em tamanho do que os estames oposisépalos. Neste momento o meristema floral apresenta, aproximadamente, 0,28mm de diâmetro. Nas fases posteriores essa diferença de altura não é mais visível.

Formação dos esporângios

Durante os estádios iniciais de crescimento radial e axial, os primórdios de estames possuem formato elipsoide em secção transversal (Figuras 2F e 3A). As células de CI e CII apresentam núcleos grandes, citoplasma denso, algumas células possuem pequenos vacúolos enquanto as células dorsais possuem vacúolos mais evidentes. As células da CI estão em divisões anticlinais e as da CII em divisões periclinais. As células da CIII possuem volume menor, formato poligonal, citoplasma denso, grande núcleo e divisões em todos os planos (Figura 3A).

O crescimento radial e o formato das anteras no início do seu desenvolvimento ocorrem de forma assíncrona dentro do mesmo botão, as formas dos estames variam, quando observadas as suas seções transversais, de elipsoide a retangulares nos botões florais mais jovens (Figura 2F), e retangulares à lobadas nas fases posteriores. As células em contato com outros órgãos tornam-se achatadas e os órgãos nas regiões de contato se tornam facetados (Figura 2F).

Rapidamente as anteras atingem o formato bilobado (Figura 3B), usualmente quando o botão floral está com aproximadamente 1,0mm de comprimento. As células subdérmicas dorsais da região do conectivo caracterizam-se por apresentarem grandes vacúolos, as células centrais pró-vasculares de tamanho menor com núcleo volumoso e células ao redor bastante vacuoladas (Figura 3B). Nas regiões esporangiais as células subdérmicas são densas, com núcleo e nucléolo evidentes. A medida que os esporângios vão se desenvolvendo, as células ficam com o citoplasma mais denso. Nos botões com 1,50mm é possível identificar a camada parietal primária e as células arquesporais (Figura 3C). A camada parietal primária inicia a divisão celular que dará origem a camada parietal secundária interna e externa. As células do septo estão organizadas, de tamanho menor, núcleo proeminente e pequenos vacúolos. (Figura 3C). Células da protoderme dos esporângios ventrais se tornam mais alongadas anticlinalmente com o desenvolvimento (Figura 3C).

Em botões florais entre 1,50 e 1,75mm os esporângios já estão bem definidos (Figura 3D). Nestes, as camadas parietais estão se diferenciando. A camada parietal secundária externa se divide e forma o endotécio e a camada média externa, enquanto a camada parietal secundária interna se divide e forma a camada média interna e o tapete (Figura 3E). Na região dorsal do esporângio abaxial pode ocorrer outras divisões na camada média, resultando em três a cinco camadas de células. Na região lateral deste mesmo esporângio, usualmente são encontradas somente duas

camadas de células. Nos esporângios adaxiais eventualmente encontram-se mais de duas camadas médias na porção ventral. Nas regiões em contato com o carpelo, ou até mesmo com outra antera, há uma alteração no formato das células da epiderme, endotécio e camada média, aparentando estarem comprimidas.

As células arquesporais estão em mitose, com núcleo e nucléolo bem evidentes e citoplasma denso (Figura 3F). As células do conectivo apresentam grandes vacúolos, no centro as células do tecido pró vascular são bem pequenas com núcleo proeminente e vacúolo relativamente grande.

Epiderme

A epiderme se mantém uniestratificada durante todo o desenvolvimento da antera. Sofre divisões anticlinais para acompanhar o crescimento do órgão até a fase de célula-mãe de micrósporo (Figura 4A). No início da diferenciação, as células epidérmicas são isodiamétricas, possuem citoplasma denso e grande núcleo (Figura 3). Com a formação dos esporângios, na fase de célula-mãe de micrósporo (CMM) as células da epiderme tornam-se tabulares, com grande vacúolo e núcleos não evidentes. No momento que a antera adquire a forma bilobada, as células epidérmicas ventrais crescem radialmente (Figura 3C). As células dorsais são menores tangencialmente e possuem grandes vacúolos. As células possuem parede de composição celulósica (Figura 4B) e péctica (Figura 4C), entretanto, as paredes anticlinais possuem fraca marcação para pectinas. Com a maturação da antera, as paredes periclinais externas tornam-se arredondadas (Figuras 4D e 4E). Apresenta cutícula estriada na antera madura (Figuras 4D e 4F), além de possuir a característica de se destacar facilmente com a manipulação da antera.

Endotécio

O endotécio permanece uniestratificado no decorrer do desenvolvimento da antera. No início da diferenciação, as células são alongadas tangencialmente, apresentam citoplasma denso, pequenos vacúolos, núcleo grande e nucléolo evidente (Figura 3E). Os vacúolos vão se tornando evidentes quando os estratos parietais já estão diferenciados. As células dorsais tornam-se maiores em relação as demais em direção ao conectivo, na fase de CMM. A partir da pré-prófase, os vacúolos aumentam de tamanho, e o núcleo fica pouco evidente (Figura 4A). Nestas fases as células ficam

mais alongadas tangencialmente nas laterais dos esporângios. No estágio de dissolução da calose essas células aumentam de tamanho e na fase de célula generativa lenticular as células do endotécio possuem espessamentos fibrosos (Figura 4D). Na maioria das células predomina o espessamento em “U”, com a abertura para o lado epidérmico (Figura 4G), mas também se observa o espessamento em “O” em algumas células. As paredes celulares possuem composição celulósica (Figura 4B) e péctica (Figura 4C).

Camada Média

A camada média se origina das camadas parietais secundárias interna e externa. A camada parietal secundária externa dá origem ao estrato externo da camada média, e a camada parietal secundária interna dá origem ao estrato interno da camada média (Figura 3E). No início da diferenciação, as células são alongadas tangencialmente, possuem núcleo proeminente e alguns vacúolos. Nas fases posteriores, as células tornam-se vacuoladas e mais alongadas nas laterais dos esporângios (Figura 4A). No decorrer do desenvolvimento, a camada média pode se dividir novamente, variando o número de camadas médias de duas a quatro nas regiões dorsais em direção ao conectivo, e em geral, duas camadas nas laterais e região ventral da antera. As paredes das células possuem composição celulósica (Figura 4B) e péctica (Figura 4C). Com o início da meiose I, as células da camada média iniciam a degeneração (Figuras 4B, 4C, 4D e 4E), podendo ser observados seus restos até a deiscência da antera.

Tapete

As células tapetais no início da diferenciação são relativamente alongadas tangencialmente, núcleo e nucléolo proeminentes e são vacuoladas (Figura 3E). As células tornam-se alongadas radialmente em direção as células arquesporais, ao longo do desenvolvimento. Na pré-prófase, as células tapetais geralmente são alongadas radialmente, mas podem ter formas variadas, com núcleo e nucléolo proeminentes, e grande vacúolo. Podem apresentar uma ou duas camadas de células, ser uni ou binucleares, com um ou dois nucléolos (Figuras 5A, B, C). Algumas células ainda estão se dividindo por mitose neste estágio.

Após o início da meiose, as células tapetais iniciam o processo de alteração da estrutura da parede celular e lamela média. (Figura 5B). É observada uma parede polissacarídica (Figura 5C), com poucas pectinas (Figura 5D) e ausência de celulose (Figura 4B). As células tapetais não apresentam delimitação típica e nítida em comparação com os demais tecidos do esporângio e conectivo (Figura 5E). Nestas mesmas fases, são encontrados trechos do esporângio sem células tapetais (Figura 5F) com os meiócitos em contato direto com as células septais, e até mesmo uma região do esporângio toda sem tapete, com os meiócitos em contato direto com a camada média (Figura 5G). Em muitos locais, as células tapetais estão agregadas, formando invasões periféricas a região locular, que inclui meiócitos englobados pelo tapete (Figura 5H). Além disso, nestes estádios algumas células tapetais ainda apresentam divisões mitóticas acitocinéticas.

Na fase de díade de micrósporos, o citoplasma das células tapetais apresenta-se muito denso e o núcleo está pouco nítido. As células invadem mais extensamente o lóculo (Figura 6A), mas a parede polissacarídica se mantém (Figura 6B). Durante a tétrade, em alguns esporângios as células tapetais se desprendem da camada média, e ficam soltas no lóculo da antera (Figura 6C). A parede polissacarídica torna-se menos presente (Figuras 6D, 6E) e o acúmulo de substância péctica no citoplasma se mantém (Figura 6F).

Com a dissolução da calose, o tapete está bastante degenerado (Figura 6G), na fase posterior é degenerado completamente e seus restos podem ser observados espalhados pelo lóculo (Figura 6H). Os vestígios tapetais permanecem na parede do esporângio na fase posterior, porém, na antera madura não são encontrados. Não foram observados Corpos de Ubisch.

Esporogênese

No início da diferenciação, as células do tecido esporogênico são poligonais, com núcleo volumoso e nucléolo evidente, citoplasma denso e pequenos vacúolos em relação aos tecidos circundantes (Figura 3E). Derivam em pequeno número juntamente com as células parietais primárias (Figura 3C). As divisões mitóticas, que incrementam seus números, iniciam enquanto as camadas parietais ainda estão se dividindo (Figura 3E). Com o desenvolvimento dos esporângios, somado ao aumento em número, aumentam em volume, formando um tecido predominante e responsável pelo grande volume e projeção dos lobos esporangiais (Figura 3F). Na fase posterior,

que antecede a prófase, o nucléolo aumenta de tamanho (Figura 3F), algumas células arqueporiais ainda estão se dividindo por mitose e há um descolamento da lamela média em torno dos meiócitos (Figura 3F), enquanto os estratos parietais estão bem vacuolados.

Na prófase, as células aumentam de volume, não há vacúolos aparentes e o núcleo é bastante volumoso (Figuras 7A e 7B). Logo inicia a deposição de uma espessa parede de calose em torno dos meiócitos (Figuras 7B, 7C e 7D). Há uma leve assincronia para o início ou desenvolvimento da meiose quando se considera meiócitos de um mesmo esporângio e entre esporângios diferentes da mesma antera, pois frequentemente são encontrados meiócitos em metáfase e anáfase no mesmo esporângio, enquanto todos os outros estão somente em prófase (Figuras 7A e 7E). No final da meiose I, uma parede calósica separa as díades (Figuras 7F e 7G) que logo já entram na meiose II. A assincronia da meiose dentro do mesmo esporângio é mantida, sendo encontradas etapas da meiose I e II, além de díades e fases da meiose II ou díades e tétrades.

Após a meiose, as tétrades de andrósporos resultantes apresentam, em associação com a calose, arranjos isobilaterais e decussados, estes comuns no mesmo esporângio (Figuras 8A, 8B e 8C).

Os citoplasmas das tétrades apresentaram gotas lipídicas (Figuras 8D e 8E) e acúmulo de proteínas na região periférica (Figura 8F). A primexina é formada logo após a formação das tétrades (Figuras 8G e 8H).

Os estágios da esporogênese se apresentaram bem marcados em relação aos tamanhos dos botões florais apenas nas fases iniciais de desenvolvimento estaminal, conforme apresentada na tabela 3. As medidas são com intervalos de 0,25mm. Desde a fase de crescimento da antera até o estágio de tétrade, há correlação entre o tamanho do botão floral e os estádios da formação dos estames. Com a dissolução da calose e as fases posteriores de gametogênese esta correlação é perdida.

Após o término da meiose, a calose se dissolve, precedida pela dissolução da lamela média original das células mãe dos micrósporos, tornando o tecido frouxo ainda na prófase da meiose (Figuras 6A a G, 7B). Os micrósporos são liberados no fluido locular, juntamente com restos do tapete apresentando formato irregular no início da sua liberação (Figura 6H), e em alguns esporângios permanecem com tal condição até a primeira mitose.

Gametogênese

A divisão mitótica assimétrica origina a célula vegetativa e a célula generativa (Figuras 9A e 9B). Há uma leve assincronia entre as mitoses dos andrósporos do mesmo esporângio (Figura 9B). A célula vegetativa ocupa grande parte do citoplasma, o núcleo é esférico com nucléolo volumoso e evidente (Figura 9C). A célula generativa adquire formato lenticular após a divisão, se localizando justaposta a esporoderme no lado oposto ao da abertura (Figura 9C). Nesta fase, a parede da célula generativa apresenta reação positiva para polissacarídeos totais (Figura 9D), calose (Figura 9E), pectinas (Figura 9F), não celulósica (Figura 9G) e não proteica (Figura 9H) (Tabela 1). Foi observado acúmulo de proteínas na região do citoplasma da célula vegetativa, voltado para a abertura (Figura 9H).

Na fase posterior, a célula generativa invade o espaço da célula vegetativa a semelhança de uma endocitose (Figuras 9I, 9J e 10A), e esta se torna esférica durante o processo de mudança de posição, apresentando grande núcleo, ao ir para a posição central (Figura 10B). O núcleo da célula vegetativa aumenta de tamanho e a parede da célula generativa já não possui a composição calósica e péctica (Figuras 9J e 10C), sendo que polissacarídeos totais são variáveis nos grãos de pólen dentro do mesmo lóculo. Há um leve indicativo para substância lipídica na parede da célula generativa (Figura 10D). No momento em que a unidade germinativa masculina está formada, o núcleo da célula vegetativa altera sua forma durante a aproximação final da célula generativa (Figura 10E), tornando-se irregular (Figura 10F). Com a deiscência da antera, ocorre a liberação dos grãos de pólen bicelulares e monosulcados.

Os tamanhos dos botões florais/flores apresentaram grandes variações durante as fases de gametogênese dos micrósporos até a deiscência da antera (Tabela 3), não sendo possível fazer uma relação morfométrica entre eles.

Esporoderme

A formação da parede do grão de pólen (Tabela 2) inicia na fase de tétrade com o desenvolvimento da primexina de composição péctica (Figura 8G) e polissacarídica (Figura 8H) entre a plasmalema e a parede calósica. É possível observar que nas regiões voltadas para o lóculo da antera, não há formação da primexina, local onde futuramente será a região de abertura do pólen (Figuras 8G e 8H). A abertura do grão de pólen é do tipo sulcado.

A exina (Tabela 2), composta por esporopolenina (Figura 10G), exceto na região de abertura, inicia a formação após o estágio de dissolução da calose. Na fase de célula generativa lenticular, há acúmulo de proteínas na porção interna da exina (Figura 10A). Foram observadas substâncias lipídicas que reagem na fluorescência (Figura 10H), sugerindo ser da exina, embora tenha se mostrado transitório e somente na fase de célula generativa lenticular.

A intina inicia sua formação após o estabelecimento da exina, e antes da primeira mitose dos micrósporos. Sua porção externa é composta por polissacarídeos e pectinas (Figuras 9D, 9F e 9I), com a região de abertura mais espessa (Figura 10B). No grão de pólen maduro é formada uma delgada camada de celulose em todas as regiões, sendo esta camada a mais interna (Figura 10I). Além de acúmulo de proteínas em algumas regiões (Figura 10A).

Antera madura

Na fase de célula generativa lenticular, as células estomiais estão densas e as células epidérmicas próximas tornam-se alongadas radialmente (Figura 11A). Ocorre o rompimento do estômio e do septo (Figura 11 B) e ficam mais evidentes as células epidérmicas alongadas radialmente (Figuras 11B e 11C). A presença de *pollenkitt* pode ser observada na forma de gotículas lipídicas aderidas na superfície externa do grão de pólen (Figura 11D).

O citoplasma do grão de pólen maduro possui áreas circulares, a semelhança de grânulos, detectáveis por meio de fluorescência para açúcares com ligações β -1,3 e β -1,4 (Figura 11E), mas negativo para calose e amido. Eventualmente há material acumulado que reage positivo para calose, aparentemente associado a parede do grão de pólen (Figuras 11F e 11G).

Conectivo

As células do conectivo são parenquimatosas, apresentam formato poliédrico e tamanhos variados, sendo as células dorsais sempre maiores em relação as ventrais. Na fase de divisão dos estratos parietais, as células do conectivo possuem vacúolos ocupando praticamente todo espaço celular, e na região central, as células vasculares estão em diferenciação, de tamanho menor e núcleo evidente. Tais características persistem até a maturação da antera. Na fase de célula generativa lenticular é possível diferenciar duas regiões do conectivo, uma com espessamentos

fibrosos e outra sem (Figuras 12A e 12B). A região central é composta por dois feixes vasculares (Figura 12B). A parede das células possui composição celulósica e pectínica (Figura 12B).

Ráfides

A partir da fase de tetrade dos micrósporos, idioblastos cristalíferos contendo ráfides são comumente encontradas nas camadas subdérmicas dorsais do conectivo. Posteriormente, células mais profundas no conectivo também se diferenciam no mesmo tipo de idioblastos, principalmente na região de contato com o lóculo próximo ao septo interesporangial (Figuras 9A e 12C). Nos filetes são encontrados inúmeros idioblastos cristalíferos idênticos aos das anteras durante o desenvolvimento estaminal (Figura 12D), nos quais se formam primeiramente, em relação a antera.

DISCUSSÃO

Formação inicial dos estames

As células meristemáticas antes da emergência dos primórdios estaminais possuem características típicas para os ápices do meristema e camadas mais profundas (EVERT, 2006). As camadas germinativas foram denominadas CI, CII e CIII de acordo com os mesmos princípios que Satina, Blakeslee e Avery (1940) nomearam de LI, LII e LIII em seus estudos com *Datura stramonium*.

Neste estudo, os primórdios estaminais surgem no terceiro verticilo do meristema floral, a partir de divisões periclinais da CII, e a elevação do órgão teve auxílio de CIII. McCoy (1940) revelou que para *Frasera carolinensis* Walt., uma eudicotiledônea, a iniciação dos primórdios estaminais também ocorreu por divisões celulares periclinais da camada subdérmica CII, esta que o autor chamou de túnica interna. Semelhante a *Scirpus validus* Vahl., uma monocotiledônea em que os estames surgem de divisões periclinais da camada hipodérmica (CII) com o auxílio de divisões periclinais e oblíquas da camada do corpo (CIII) (BARNARD, 1957). Diferentemente de quimeras poliplóides de *Datura stramonium* L. (Solanaceae), em que Satina e Blakeslee (1941) demonstraram que as células associadas à elevação inicial dos primórdios de estames são derivadas da CIII, e que CII não sofre divisões periclinais. Em *Triticum aestivum* L. (Poaceae) a origem do estame ocorreu por divisões periclinais da CIII, em que o autor denominou de camada sub hipodérmica (BARNARD, 1955). Na monocotiledônea *Bulbine bulbosa* R.Br. o estame também surgiu como resultado de divisões periclinais e inclinadas nas células sub-hipodérmicas (CIII) (BARNARD 1960). Já em *Downingia bacigalupii* Weiler (Campanulaceae) os primórdios de estames são iniciados por divisões periclinais ao mesmo tempo na segunda camada da túnica e no corpo, que são, respectivamente, a CII e CIII (KAPLAN, 1968). Em todas as espécies citadas, incluindo *D. strehliana*, a camada CI se mantém exclusivamente em divisão anticlinal (MCCOY, 1940; BARNARD, 1955; BARNARD, 1957; BARNARD 1960; SATINA; BLAKESLEE, 1941; KAPLAN, 1968).

Formação dos esporângios

A antera torna-se progressivamente bilobada a medida que ocorre o desenvolvimento dos esporângios sendo o resultado das divisões mitóticas periclinais

que dão origem a camada parietal primária e o tecido arquesporial. As células arquesporais demonstraram suas características distintas das outras camadas logo após a sua origem, corroborando as afirmações de Pozner (2001), de acordo com o autor algumas espécies as células expressam a diferenciação celular pré-meiótica (Premeiotic cellular differentiation - PCD) logo após a sua origem, enquanto os estratos parietais ainda estão se formando. Pozner (2001) afirma que as atividades meristemáticas iniciais formam as células iniciais subdérmicas, em que após divisões mitóticas periclinais ocorre a diferenciação celular pré-meiótica, sendo então um tecido arquesporial.

O desenvolvimento da parede da antera é do tipo básico, geralmente encontrado em outras espécies do gênero, como em *Dyckia racinae* (DORNELES, 2014) e *Dyckia pseudococcinea* (MENDES; COSTA; DE TONI, 2012). Entretanto, Sajo et al. (2005) no seu estudo com vários gêneros de Bromeliaceae, incluindo *Dyckia hebdingii*, sugeriu o tipo monocotiledôneo. Pode-se constatar que na família ocorre uma variação entre estes dois tipos, ou ainda, como em *Tillandsia aeranthos* pode ocorrer uma variação nos esporângios, o tipo misto, ocorrendo o desenvolvimento básico e monocotiledôneo (SPAT, 2012).

Estratos parietais

Foi observado que o momento pré-meiótico é marcante para os tecidos, onde os estratos parietais atingem o pico de desenvolvimento e, a partir do início da meiose, alguns tecidos iniciam a alteração da sua estrutura. A espécie estudada possui cutícula estriada, podendo ser um padrão encontrada na maioria nas espécies de Bromeliaceae (DE OLIVEIRA et al., 2020). A epiderme na antera madura torna-se mais conspícua, semelhante a *Dyckia tuberosa* (DE OLIVEIRA et al., 2020) e menos volumosa em relação a *Guzmania madisonii* (Bromeliaceae) (SAJO et al., 2005). Na região adjacente ao estômio, a epiderme com alongamento anticlinal também é encontrada em *D. ibicuiensis*, *D. racinae* e *D. polyclada* (CARVALHO et al., 2016), poderia se caracterizar como uma característica marcante no gênero, entretanto, não foi observado em *D. tuberosa* (DE OLIVERA et al., 2020).

O endotécio se mantém uniestratificado em *D. strehliana*, observado também em *D. racinae*, *D. ibicuiensis* e *D. polyclada* (CARVALHO et al., 2016), característica comum ao gênero. *Guzmania madisonii* e *Brocchinia reducta* (Bromeliaceae) apresentam uma camada do endotécio na antera madura (SAJO et al., 2005),

diferente de outras espécies da família, como *Aechmea distichantha* e *Canistropsis billbergioides* que possuem duas a três camadas de células (OLIVEIRA et al., 2016). Assim, De Oliveira et al. (2020) observaram que em Bromeliaceae, o número de camadas de células do endotécio varia de uma a quatro. Neste estudo foram observados espessamentos do tipo em “U” e anelares no endotécio desta espécie. Carvalho et al. (2016) acrescentou ainda o tipo helicoidal para espécies de *Dyckia*. Sajo et al. (2005) observou espessamentos em espiral para a família. Em *Aechmea distichantha* e *Canistropsis billbergioides* o espessamento do endotécio é do tipo anelar (OLIVEIRA et al., 2016), assim como várias espécies de Bromeliaceae estudadas por De Oliveira et al. (2020).

O número de camadas médias é variável no esporângio, sendo considerado uma característica comum para Bromeliaceae (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992), o que também ocorre em *Tillandsia aeranthos* (SPAT, 2012) onde o número pode variar de duas a quatro camadas. Geralmente a região dorsal é o local que apresenta o maior número de camadas, supostamente por ter mais espaço para o desenvolvimento. A camada média é considerada efêmera, pois ela degenera em algum momento do desenvolvimento da antera, assim como em espécies de Poaceae (NAKAMURA; LONGHI-WAGNER; SCATENA, 2010) e em *D. polyclada* e *D. ibicuiensis* (CARVALHO et al., 2016). Tal característica não pode ser considerada comum para o gênero, pois em *D. racinae* a camada média é conspícua (CARVALHO et al., 2016).

O desenvolvimento do tapete e o momento da sua degeneração são cruciais para a formação dos grãos de pólen, estando ligados com a liberação de substâncias para a nutrição do pólen em desenvolvimento (PACINI, 1997). Neste estudo foi observado sinais de alterações na composição química das paredes das células tapetais no início da meiose, enquanto os citoplasmas destas células permaneciam inalterados. Outras angiospermas como *Lobivia rauschii* Zecher (Cactaceae) e *Tillandsia albida* Mez et Purpus (Bromeliaceae) apresentaram a característica inicial de degradação nas paredes celulares (PACINI; MOSTI; BRIGHIGNA, 1999). Em *Lilium* as paredes começam a apresentar alterações mais tarde em relação a *Dyckia strehliana*, na fase de tétrade (REZNICKOVAI; WILLEMSE, 1980). Pacini (1997) salienta que apenas em algumas espécies as paredes celulares do tapete persistem até a degeneração citoplasmática, o que afeta a passagem de nutrientes e outros

materiais para o lóculo (PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985). Como é o caso de *D. racinae*, que o citoplasma inicia a degradação na fase de tétrade, enquanto a parede pode ainda estar inalterada (DORNELES, 2013). Em *Ceratonia siliqua* L. (Fabaceae) a degradação do tapete ocorre simultaneamente com a formação dos espessamentos do endotécio, na maturação dos grãos de pólen (CUSTÓDIO; CARNEIRO; ROMANO, 2005).

Com a parede celular alterada, as células do tapete demonstraram características de tecido frouxo, invadindo o lóculo constantemente. Desse modo, sugerimos que o tapete de *Dyckia strehliana* seja considerado como do tipo secretor invasivo. O tapete invasivo foi observado em *Canna* L. (Cannaceae) (TIWARI; GUNNING, 1986a) e são amplamente distribuídos em monocotiledôneas (FURNESS; RUDALL, 1998) os quais podem invadir o lóculo da antera, mas não se fundem. Sajo et al. (2005) já tinham observado para Bromeliaceae que as células tapetais secretoras tendem a invadir o lóculo da antera quando as células arquesporais entram na meiose, caracterizando como um tipo intermediário. Em *Tradescantia virginiana* L. (Commelinaceae) o tapete foi descrito como plasmodial invasivo, já que houve a formação de plasmódio (TIWARI; GUNNING, 1986b). Duas populações de células do tapete foram encontradas em *Carthamus tinctorius* L. (Asteraceae), o tapete tipo invasivo que os micrósporos são emaranhados nas células tapetais, e uma segunda população em que as células do tapete não são expostas ao interior dos lóculos das anteras e nunca se tornam invasivas (YEUNG et al., 2011).

O desenvolvimento do tapete é muito variável até mesmo dentro de um gênero. O tipo invasivo não foi encontrado em nenhuma outra espécie de *Dyckia* até o momento. *Vriesea carinata* Wawra (Bromeliaceae) apresentou o tipo invasivo (SARTORI, 2008). *D. pseudococcinea* (MENDES; COSTA; DE TONI, 2012) e em *D. racinae* (DORNELES, 2014) apresentam o tipo secretor, assim como em outros estudos com Bromeliaceae (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; SMITH; TILL, 1998). Em contraste com Furness e Rudall (1998) para a família e Palser (1975) para monocotiledôneas, os quais mencionaram que o tapete em tem a tendência a ser plasmodial.

O número de núcleos do tapete varia no decorrer do desenvolvimento (PACINI, 1997), sendo encontrados uni a binucleares em *D. strehliana* e nas espécies de Bromeliaceae descritas neste contexto (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; MENDES; COSTA; DE TONI, 2012; DORNELES, 2014; SPAT, 2012; RAO;

WEE, 1979; LAKSHMANAN, 1967; SARTORI, 2008). O tapete torna-se bisseriado nesta espécie, o que é comum em angiospermas e em algumas podem tornar-se multisseriado (BHANDARI, 1984).

O acúmulo de pectinas no citoplasma das células tapetais pode ser indício de síntese e secreção destas substâncias para dentro do lóculo, de acordo com o estudo de Aouali, Laporte e Clément (2001) em *Lilium*.

Microsporogênese

O início da meiose é caracterizado pela separação de meiócitos na região da lamela média, semelhante ao descrito para *Dyckia racinae* (DORNELES, 2013). Na fase de prófase os meiócitos adquirem tamanho máximo. A deposição da parede calósica é semelhante a *D. racinae* (DORNELES, 2013). A formação ordenada da calose e a sua dissolução são consideradas muito importantes para o desenvolvimento normal dos grãos de pólen (MASCARENHAS, 1975).

A meiose I tem seu término com formação de uma parede separando as duas células, indicando o tipo de microsporogênese sucessiva, que ocorre na maioria das monocotiledôneas (PALSER, 1975; FURNESS; RUDALL, 1999). O mesmo tipo é descrito para Bromeliaceae (JOHRI, 1992; SMITH E TILL, 1998; SAJO, 2005), assim como para *Dyckia racinae* (DORNELES, 2014) e *Dyckia pseudococcinea* (MENDES; COSTA; DE TONI, 2012) observado indiretamente em outros gêneros de Bromeliaceae (OLIVEIRA et al., 2015).

A espécie apresentou tétrades isobilaterais e decussadas que é similar ao descrito para *Dyckia racinae* e *Dyckia pseudococcinea* (DORNELES, 2014; MENDES; COSTA; DE TONI, 2012), *Vriesea carinata* (SARTORI, 2008) e *Lindmania penduliflora* (LAKSHMANAN, 1967). Na família, podem ser encontrados além destes, o tipo tetraédrico (ALBERT, 2010; RAO; WEE, 1979).

Durante a meiose foi observada uma leve assincronia entre os meiócitos, o que Pozner (2001) denominou de gradiente meiótico. Garcia, Nepi e Pacini (2017) afirmaram que no tipo de microsporogênese sucessiva há uma tendência a ter maior assincronia desde a meiose I. O desenvolvimento assíncrono pode ser favorecido pela ausência de conexões célula-célula entre micrósporos (GARCIA; NEPI; PACINI, 2017). Heslop-Harrison (1971) afirmaram que no início da meiose, os meiócitos são ligados por plasmodesmos de um tipo normal de células somáticas.

Em *Dyckia strehliana* foi possível realizar uma relação alométrica durante a microsporogênese, o qual é um método não destrutivo de prever o estágio da microsporogênese através de uma relação alométrica entre o comprimento da antera e o estágio da microsporogênese (RAGHAVAN, 1997). Mendes, Costa e De Toni, (2012) encontraram esta relação para todas as fases do desenvolvimento da antera de *Dyckia pseudococcinea*. Em *Pitcairnia encholirioides*, Mendes et al. (2016) também relacionou o tamanho do botão floral com as fases de desenvolvimento da antera. Em *Passiflora edulis* (Passifloraceae) foi verificado uma relação, tanto do comprimento do botão quanto da antera, com os estágios de micrósporo e grão de pólen (SOUZA; PEREIRA; MARTINS, 2002). Outro método foi utilizado por Willcox et al. (1990), o qual se baseou no formato dos botões florais do Amendoim (*Arachis hypogaea*) para identificar as fases de desenvolvimento da antera.

Microgametogênese

Após a mitose assimétrica dos micrósporos, as características das células vegetativas e generativas não diferiram relativamente de outras espécies de Bromeliaceae. A parede da célula generativa na posição parietal possui composição péctica e calósica. A parede calósica já havia sido descrita por Mascarenhas (1975) para angiospermas. Diferentemente de *Dyckia racinae*, na qual a parede da célula generativa possui composição péctica e celulósica (DORNELES, 2013).

O grão de pólen de *D. strehliana* é monossulcado, como descrito por Harley (2004) para a subfamília Pitcairnioideae em Bromeliaceae. Em monocotiledôneas o pólen tende a ser triaperturado, mas não é uma característica exclusiva de muitas famílias (HARLEY, 2004). As aberturas foram formadas onde não houve a deposição de primexina, já descrito por Halbritter et al. (2018).

Os grãos de pólen na maturação são bicelulares, característica de Bromeliaceae (SMITH; TILL, 1998). Nas espécies de Poaceae estudadas por Nakamura, Longhi-Wagner e Scatena (2010), os grãos de pólen são dispersos no estágio tricelular. Foi identificada composição celulósica e péctica da intina, o que é característica dos grãos de pólen de angiospermas (NEPI; FRANCHI, 2000; HALBRITTER et al., 2018), encontradas também em outras espécies de *Dyckia*, como *D. polyclada* (MARTINS, 2016) e *D. racinae* (DORNELES, 2013). As proteínas depositadas na intina são produzidas pelo próprio citoplasma e são armazenadas principalmente na região espessa próximo as aberturas (NEPI; FRANCHI, 2000;

FRANCHI; PACINI, 1980), o que explicaria o acúmulo de proteínas encontradas nesta região em *Dyckia strehliana*. Além disso, possui a mesma composição química de uma parede celular primária (NEPI; FRANCHI, 2000; HESLOP-HARRISON, 1971).

A exina é composta por esporopolenina, assim como encontrada em todas as angiospermas (HALBRITTER et al., 2018). Na região de abertura, a indexina possui um acúmulo de proteínas. Em *D. racinae*, Dorneles (2013) observou a presença de proteínas associadas na exina, e não constituintes da estrutura. Tais proteínas podem ter grande importância na dispersão e germinação dos grãos de pólen.

O *pollenkitt* presente no grão de pólen maduro é uma substância liberada com a degeneração do tapete, é composta de materiais lipídicos que proporcionam viscosidade ao pólen. Pacini e Hesse (2005) listaram 20 funções do *pollenkitt* com suas respectivas fases de ocorrência, como por exemplo, manter o pólen na antera até a dispersão e/ou proteger o pólen da perda de água. *Pollenkitt* ocorre principalmente em espécies de angiospermas que possuem polinização entomófila (NEPI; FRANCHI, 2000). Outro indício deste tipo de polinização é a ausência de Corpos de Ubisch visto em *Dyckia strehliana*, que segundo Pacini (1997) são normalmente identificados em espécies com polinização estritamente entomófila.

Características da antera madura

Células epidérmicas próximas ao estômio tornam-se levemente alongadas, assim como em *D. polyclada*, *D. racinae* e *D. ibicuiensis* (CARVALHO et al., 2016). Porém, tal característica não foi encontrada em *D. tuberosa* (DE OLIVEIRA et al., 2020). De Oliveira et al. (2020) propuseram que a presença de epiderme alongada próxima a região do estômio fosse utilizada para distinguir *Aechmea* e *Quesnelia* de outros gêneros, entretanto, sugerimos que tal característica seja delimitada também para *Dyckia*.

Conectivo e ráfides

Em *D. strehliana* o volume do conectivo e as regiões compostas por espessamentos fibrosos assemelham-se com *D. racinae*, *D. ibicuiensis* (CARVALHO et al., 2016) e *D. pseudococcinea* (MENDES et al., 2012). De Oliveira et al. (2020) em estudo com várias espécies de Bromeliaceae, encontraram somente em *Dyckia tuberosa* os espessamentos fibrosos na região do conectivo, e sugeriram que tal característica pode representar uma sinapomorfia para o gênero, o que podemos

confirmar a partir deste estudo. Foram observados dois feixes vasculares em *Dyckia strehliana*, bem como na *D. tuberosa* (DE OLIVEIRA et al., 2020), *D. ibicuiensis* e *D. racinae*, em contraste com *D. polyclada* que apresenta apenas um feixe vascular (CARVALHO et al., 2016).

Foram observadas ráfides na antera e filete em *D. strehliana*, já em *D. tuberosa* são encontradas ráfides na antera, porém não são encontradas no filete (DE OLIVEIRA et al., 2020). Neste trabalho, as anteras apresentaram ráfides na região do conectivo, voltada para o lóculo, também comuns em outras espécies de Bromeliaceae, como *Brocchinia reducta* (SAJO et al., 2005). Em *Dyckia racinae* também são encontradas ráfides na região subdérmica do conectivo e próximo ao estômio (DORNELES, 2013), além de ser encontrado na região central do conectivo, próximo a vascularização. Em *Aechmea distichantha* e *Canistropsis billbergioides* também foram relatadas ráfides no androceu (OLIVEIRA et al., 2016).

CONCLUSÃO

Concluimos que *Dyckia strehliana* apresenta muitas características gerais que afirmam as descrições embriológicas da família. Entretanto, peculiaridades em relação ao tapete, por exemplo, a diferem de outras espécies do gênero. Estes dados são importantes pois se agregam aos trabalhos embriológicos já realizados e auxiliam em estudos taxonômicos e morfológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERT, B. et al. Formation and function of a new pollen aperture pattern in angiosperms: the proximal sulcus of *Tillandsia leiboldiana* (Bromeliaceae). **American Journal of Botany**, v. 97, n. 2, p. 365-368, 2010.
- AOUALI, N.; LAPORTE, P.; CLÉMENT, C. Pectin secretion and distribution in the anther during pollen development in *Lilium*. **Planta**, v. 213, n. 1, p. 71-79, 2001.
- BARNARD, C. Floral histogenesis in the monocotyledons. I. The Gramineae. **Australian Journal of Botany**, v. 5, n. 1, p. 1-20, 1957.
- BARNARD, C. Floral histogenesis in the monocotyledons. IV. The Liliaceae. **Australian Journal of Botany**, v. 8, n. 3, p. 213-225, 1960.
- BARNARD, C. Histogenesis of the inflorescence and flower of *Triticum aestivum* L. **Australian Journal of Botany**, v. 3, n. 1, p. 1-20, 1955.
- BHANDARI, N. N. The microsporangium. In: **Embryology of Angiosperms**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 53-121, 1984.
- BÜNEKER, H. M. et al. Uma nova espécie reófito de *Dyckia* (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) para a flora do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 3, p. 284-289, 2013.
- CARVALHO, J. D. T. et al. Stamen morphoanatomy of *Dyckia* Schult.f. (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) species: new data for taxonomic use. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, n. 3, p. 389-400, 2016.
- CUSTÓDIO, L.; CARNEIRO, M. F.; ROMANO, A. Microsporogenesis and anther culture in carob tree (*Ceratonia siliqua* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 104, n. 1, p. 65-77, 2005.
- DE OLIVEIRA, F. M. C. et al. Androecium and gynoecium anatomy of Bromeliaceae species. **Flora**, v. 263, p. 151538, 2020.
- DORNELES, M. P. **Desenvolvimento inicial, caracterização estrutural da flor, androsporogênese e androgametogênese em *Dyckia racinae* L.B.Sm. (Pitcairnioideae-Bromeliaceae)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.
- EVERT, R. F. **Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development**. John Wiley & Sons, 2006.
- FRANCHI, G. G.; PACINI, E. Wall projections in the vegetative cell of *Parietaria officinalis* L. pollen. **Protoplasma**, v. 104, n. 1-2, p. 67-74, 1980.
- FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. Microsporogenesis in monocotyledons. **Annals of Botany**, v. 84, n. 4, p. 475-499, 1999.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. The tapetum and systematics in monocotyledons. **The Botanical Review**, v. 64, n. 3, p. 201-239, 1998.

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

GARCÍA, C. C.; NEPI, M.; PACINI, E. It is a matter of timing: asynchrony during pollen development and its consequences on pollen performance in angiosperms—a review. **Protoplasma**, v. 254, n. 1, p. 57-73, 2017.

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

GOLDBERG, R. B.; BEALS, T. P.; SANDERS, P. M. Anther development: basic principles and practical applications. **The Plant Cell**, v. 5, n. 10, p. 1217, 1993.

HARLEY, M. M. Triaperturate pollen in the monocotyledons: configurations and conjectures. **Plant Systematics and Evolution**, v. 247, n. 1, p. 75-122, 2004.

HESLOP-HARRISON, J. The pollen wall: structure and development. In: **Pollen: Development and Physiology**. Butterworth-Heinemann, p. 75-98, 1971.

HESS, M. W. Ultrastructure of organelles during microsporogenesis in *Tillandsia pallidoflavens* (Bromeliaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 176, n. 1, p. 63-74, 1991.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, Inc: Londres, p. 530, 1940.

JOHRI, B. M.; AMBEGAOKAR, K. B.; SRIVASTAVA, P. S. Comparative embryology of angiosperms. **New York and Berlin: Springer-Verlag**, 1992.

KAPLAN, D. R. Histogenesis of the androecium and gynoecium in *Downingia bacigalupii*. **American Journal of Botany**, v. 55, n. 8, p. 933-950, 1968.

KIRK, P. W. Neutral red as a lipid fluorochrome. **Stain Technology**, v. 45, n. 1, p. 1-4, 1970.

LAKSHMANAN, K. K. Embryological studies in the Bromeliaceae. In: **Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section B**. Springer India, p. 49-55, 1967.

MARTIN, F.W. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain Technology**, v. 34, p. 125-128, 1959.

MARTINS, S. M. **Desenvolvimento embriológico em *Dyckia polyclada* L.B.Sm. (Pitcairnioideae – Bromeliaceae)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

MASCARENHAS, J. P. The biochemistry of angiosperm pollen development. **The Botanical Review**, v. 41, n. 3, p. 259-314, 1975.

MCCOY, R. W. Floral organogenesis in *Frasera carolinensis*. **American Journal of Botany**, p. 600-609, 1940.

MCDOWELL, E.M.; TRUMP, B.R. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 100, p. 405-414, 1976.

MENDES, S. P.; COSTA, C. G.; DE TONI, K. L.G. Androecium development in the bromeliad *Dyckia pseudococcinea* LB Sm. (Pitcairnioideae-Bromeliaceae), an endangered species endemic to Brazil: implications for conservation. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 207, n. 8, p. 622-627, 2012.

MENDES, S. P. et al. A case of male sterility in the endangered endemic species *Pitcairnia encholirioides* LB Sm. (Bromeliaceae) of Brazilian Atlantic forest inselbergs. **International Journal of Plant Sciences**, v. 177, n. 6, p. 498-510, 2016.

NAKAMURA, A. T.; LONGHI-WAGNER, H. M.; SCATENA, V. L. Anther and pollen development in some species of Poaceae (Poales). **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 2, p. 351-360, 2010.

NEPI, M.; FRANCHI, G.G. Cytochemistry of Mature angiosperm pollen. **Pollen and Pollination**, p. 45-62, 2000.

O'BRIEN, T.P.; MCCULLY, M.E. **The study of plant structure principles and selected methods**. Termarcaphi Pty Ltd, Melbourne, 1981.

OLIVEIRA, F. M. C. et al. Anatomia floral de *Aechmea distichantha* Lem. e *Canistropsis billbergioides* (Schult. & Schult. f) Leme (Bromeliaceae). **Hoehnea**, v. 43, n. 2, p. 183-193, 2016.

OLIVEIRA, J. M. S. et al. Starch distribution in anthers, microspores and pollen grains in *Aechmea recurvata* (Klotzsch.) LB Sm., *Dyckia racinae* LB Sm. and *Tillandsia aeranthos* (Loisel.) LB Sm.(Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, n. 1, p. 103-112, 2015.

OLIVEIRA, J. M. S. Simultaneous dehydration and infiltration with (2-hydroxyethyl) methacrylate (HEMA) for lipid preservation in plant tissues. **Acta Botanica Brasilica**, 29(2), p. 207-212, 2015.

PACINI, E. From anther and pollen ripening to pollen presentation. **Pollen and Pollination**, p. 19-43, 2000.

PACINI, E. Tapetum character states: analytical keys for tapetum types and activities. **Canadian Journal of Botany**, v. 75, n. 9, p. 1448-1459, 1997.

PACINI, E.; FRANCHI, G. G.; HESSE, M. The tapetum: its form, function, and possible phylogeny in Embryophyta. **Plant Systematics and Evolution**, v. 149, n. 3, p. 155-185, 1985.

PACINI, E.; HESSE, M. Pollenkitt—its composition, forms and functions. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 200, n. 5, p. 399-415, 2005. PALSER, B. F. The bases of angiosperm phylogeny: embryology. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, p. 621-646, 1975.

PAPINI, A.; MOSTI, S.; BRIGHIGNA, L. Programmed-cell-death events during tapetum development of angiosperms. **Protoplasma**, v. 207, n. 3-4, p. 213-221, 1999.

POZNER, R. Approach to the early sporangial development in angiosperms considering meiosis control and cellular differentiation. **Plant Systematics and Evolution**, v. 230, n. 1, p. 25-42, 2001.

RAGHAVAN, V. **Molecular Embryology of Flowering Plants**. Cambridge University Press, 1997.

RAO, A. N.; WEE, Y. C. Embryology of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. **New Phytologist**, p. 485-497, 1979.

REZNICKOVA, S. A.; WILLEMSE, M. T. M. Formation of pollen in the anther of *Lilium* II. The function of the surrounding tissues in the formation of pollen and pollen wall. **Acta Botanica Neerlandica**, v. 29, n. 2-3, p. 141-156, 1980.

SAJO, M. G. et al. Microsporogenesis and anther development in Bromeliaceae. **Grana**, v. 44, n. 2, p. 65-74, 2005.

SARTORI, J. S. **Desenvolvimento floral em *Vriesea carinata* Wawra (Tillandsioideae – Bromeliaceae)**. 2008. Tese (Doutorado em Ciências: Botânica), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. 2 ed. Iowa: State College Press, p. 228, 1951.

SATINA, S.; BLAKESLEE, A. F. Periclinal chimeras in *Datura stramonium* in relation to development of leaf and flower. **American Journal of Botany**, v. 28, n. 10, p. 862-871, 1941.

SATINA, S.; BLAKESLEE, A. F.; AVERY, A. G. Demonstration of the three germ layers in the shoot apex of *Datura* by means of induced polyploidy in periclinal chimeras. **American Journal of Botany**, v. 27, n. 10, p. 895-905, 1940.

SIDMAN, R. L.; MOTTOLA, P. A.; FEDER, N. Improved polyester wax embedding for histology. **Stain Technology**, v. 36, n. 5, p. 279-284, 1961.

SMITH, L. B.; TILL, W. Bromeliaceae. In: **Flowering Plants Monocotyledons**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 74-99, 1998.

SOUTHWORTH, D. Cytochemical Reactivity of Pollen Walls. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 21, n. 1, p. 73-80, 1973.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002.

SPAT, C. **Embriologia de *Tillandsia aeranthos* (LOIS.) L. B. SM. (Tillandsioideae – Bromeliaceae)**. 2012. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

TIWARI, S. C.; GUNNING, B. E. S. Development of Tapetum and Microspores in *Canna* L.: an Example of an Invasive but Non-syncytial Tapetum. **Annals of botany**, v. 57, n. 4, p. 557-563, 1986a.

TIWARI, S. C.; GUNNING, B. E. S. Cytoskeleton, cell surface and the development of invasive plasmodial tapetum in *Tradescantia virginiana* L. **Protoplasma**, v. 133, n. 2-3, p. 89-99, 1986b.

WILLCOX, M. C. et al. Microsporogenesis in peanut (*Arachis hypogaea*). **American Journal of Botany**, v. 77, n. 10, p. 1257-1259, 1990.

YEUNG, Edward C. et al. Anther, pollen and tapetum development in safflower, *Carthamus tinctorius* L. **Sexual plant reproduction**, v. 24, n. 4, p. 307-317, 2011.

Tabela 1: Testes histoquímicos empregados para detectar metabólitos primários e secundários citoplasmáticos e estruturais.

Reagente	Especificidade	Citoplasma cel vegetativa	Citoplasma cel generativa	Parede da célula Generativa	
				Posição parietal	Englobamento e após
Azul de Toluidina	Pectinas e ligninas	+	+	+	-
Vermelho de Rutênio	Pectinas	+	+	+	-
Coomassie Blue	Proteínas	+	+	-	-
Calcofluor	Ligações β -1,3 e β -1,4	+****	-	-	-
Azul de Anilina	Calose	-	-	+	-
PAS	Polissacarídeos totais	+***	-	+*	-
Vermelho neutro	Lipídeos	-	-	-	+**

* Algumas marcaram outras não

** Algumas com fraca marcação

*** Para amido

**** Pontos

Tabela 2: Testes histoquímicos empregados na detecção de compostos da esporoderme.

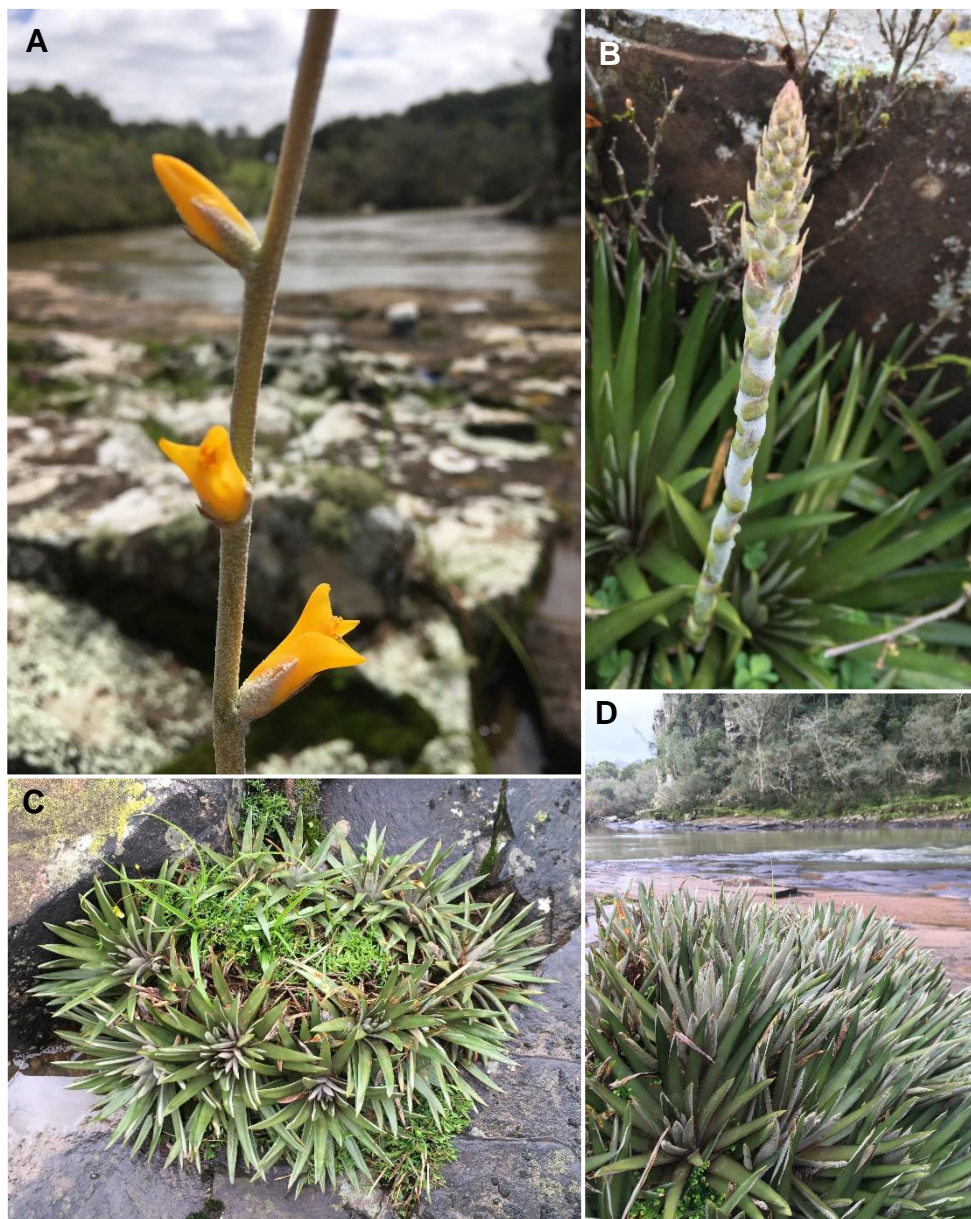
Reagente	Especificidade	Esporoderme			
		Primexina	Exina	Intina	
				Célula generativa lenticular	Grão de pólen maduro
Vermelho de Rutênio	Pectinas	+	-	+	-
Coomassie Blue	Proteínas	-	+	+	+
Calcofluor	Ligações β -1,3 e β -1,4	-	-	-	+
Azul de Anilina	Calose	-	-	-	-
PAS	Polissacarídeos totais	+	-	+	+
Auramina O	Esporopolenina	-	+	-	-
Vermelho neutro	Lipídeos	-	+*	-	-

*Sugere-se que é componente da exina

Tabela 3: Classificação do estágio de desenvolvimento da antera de acordo com o comprimento do botão floral.

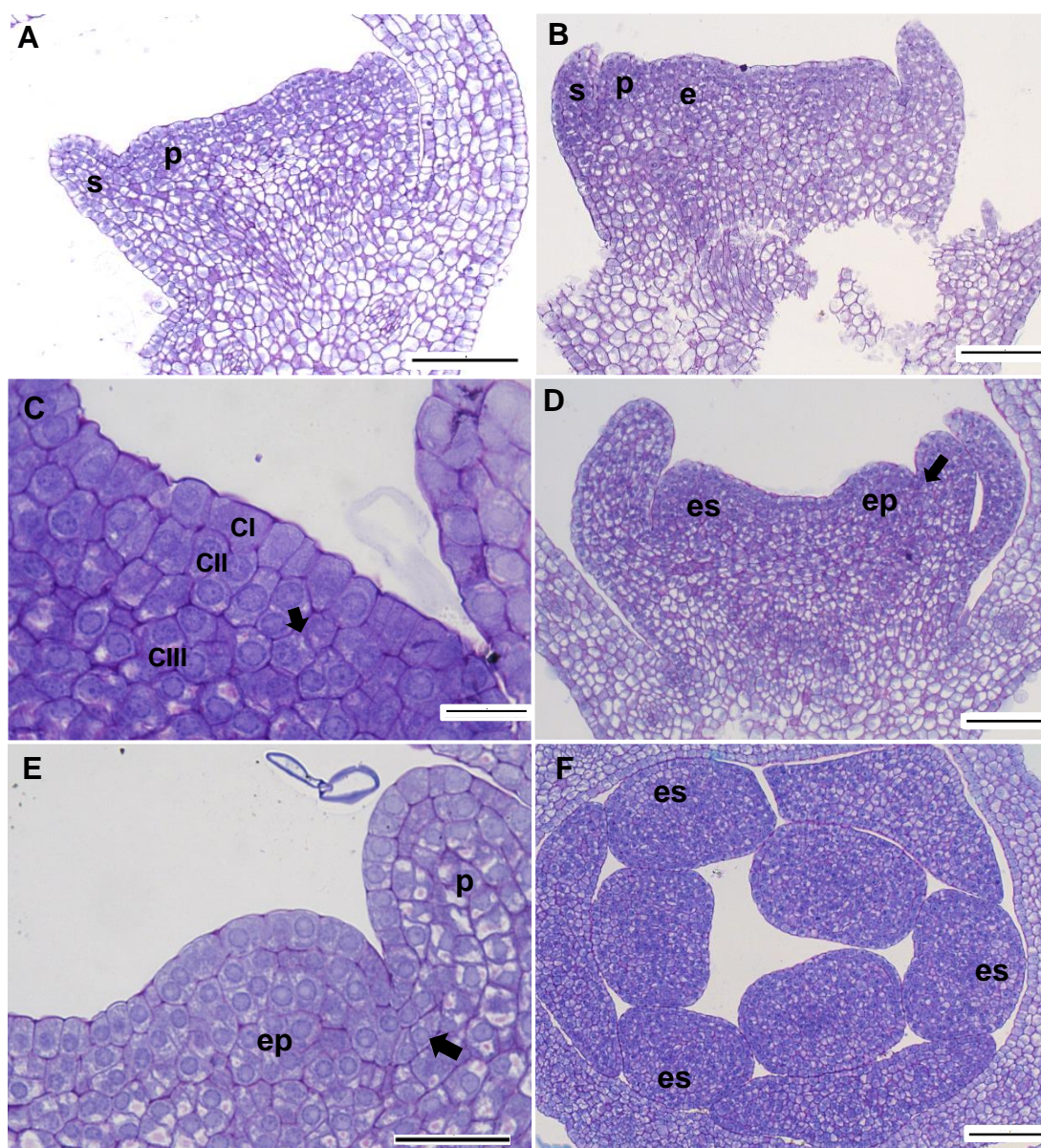
Comprimento do botão floral (mm)	Estágio de desenvolvimento da antera
± 0,22	Primeira divisão que dará origem ao estame
0,22 - 2,0	Crescimento radial e formação dos esporângios
2,25 - 3,25	Estágio de Célula-mãe de micrósporo
3,25 - 4,0	Meiócitos
4,25 - 5,25	Estágio de tétrade
5,50 – 21,5	Dissolução da calose – antera deiscente

Figura 1: Morfologia e local de coleta de *Dyckia strehliana*.



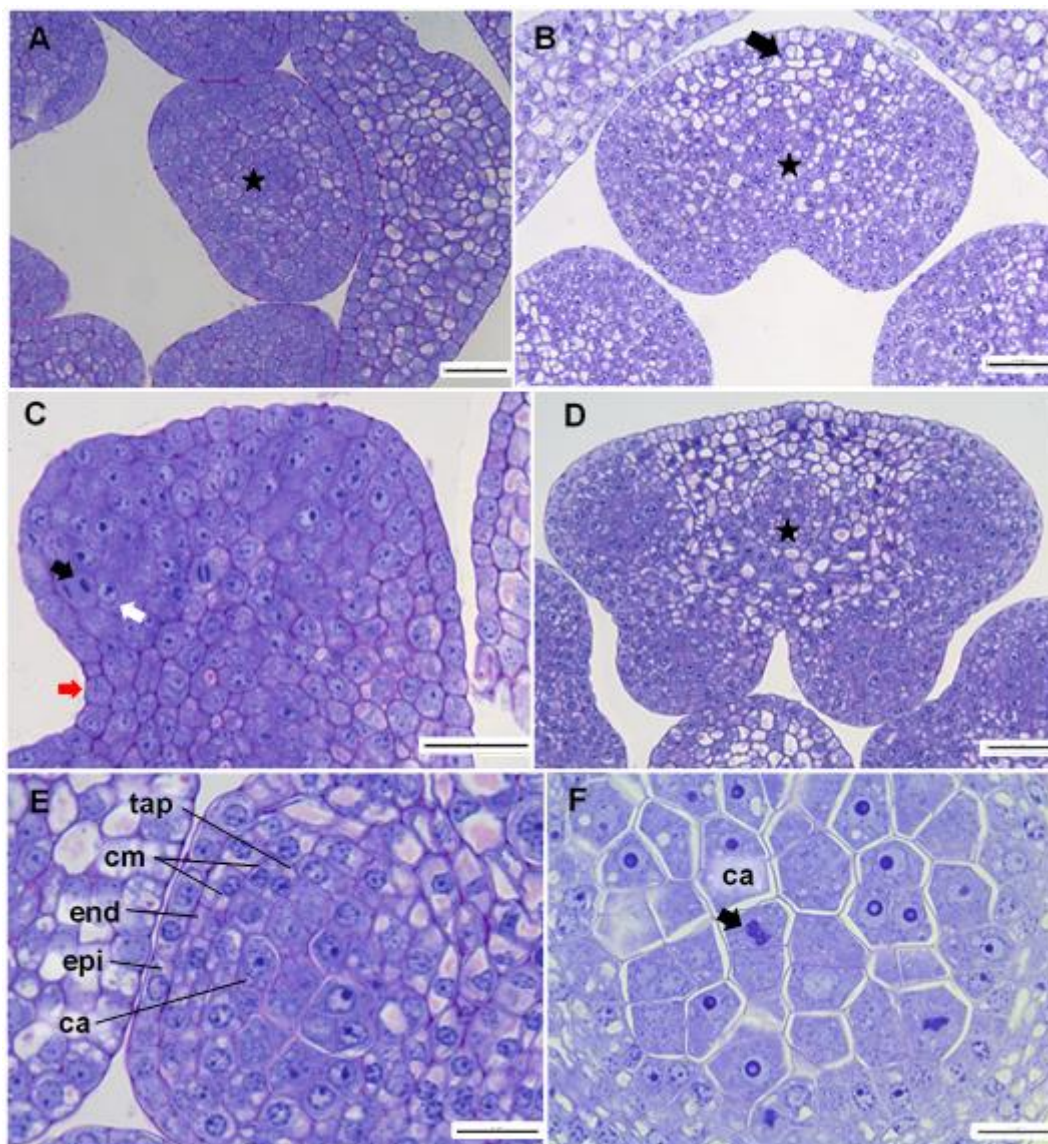
A. Aspecto geral de parte da inflorescência com botão floral e flor em antese. B. Inflorescência jovem. C. Vista frontal da parte vegetativa entre as rochas. D. Vista lateral da parte vegetativa as margens do Rio Toropi.

Figura 2: Formação inicial dos primórdios estaminais.



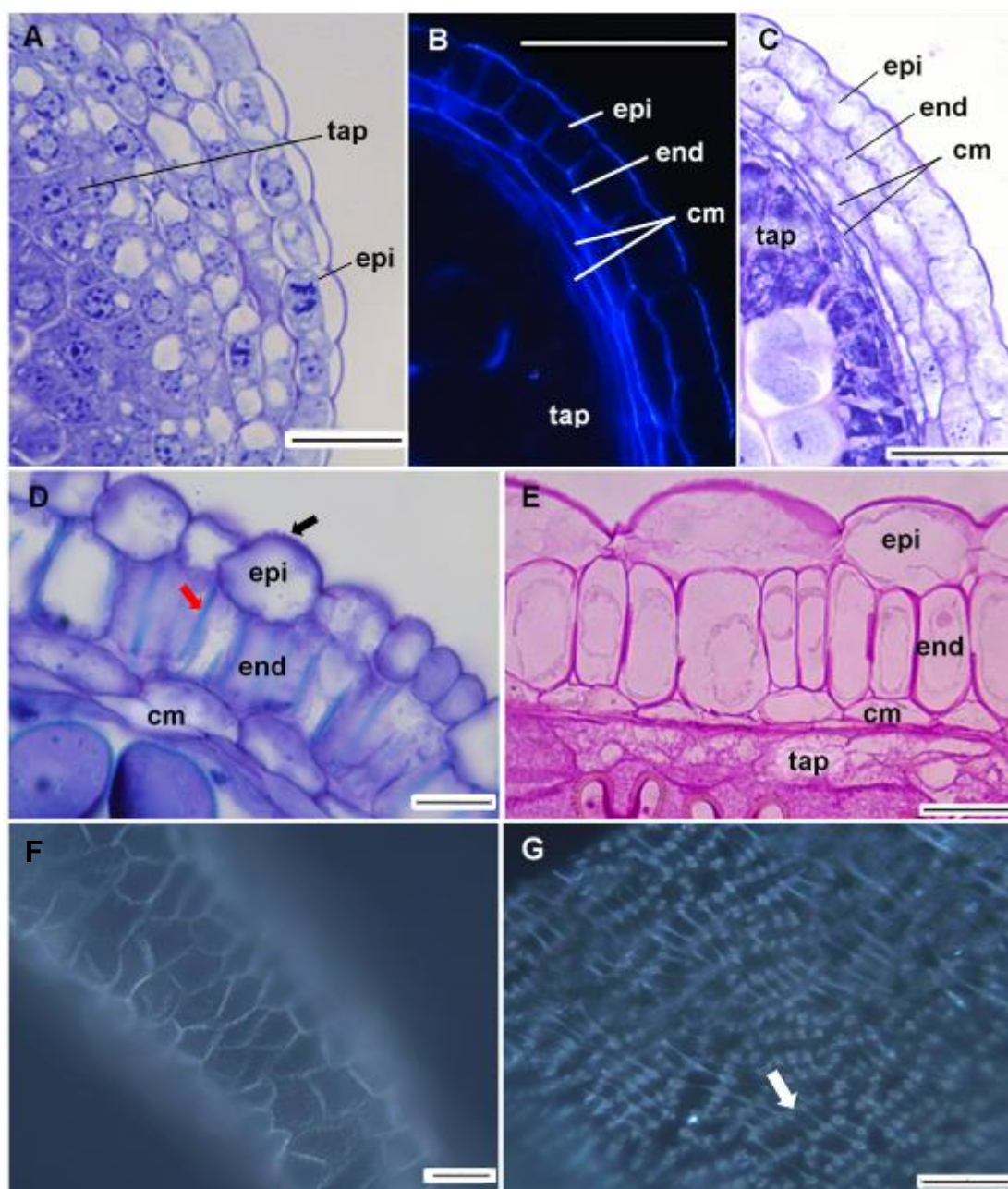
A. Meristema floral antes da formação dos estames, com primórdios de sépalas e pétalas. B. Meristema floral logo após a iniciação do primórdio estaminal. C. Detalhe da divisão celular de CII que deu origem ao primórdio estaminal (seta). D. Diferença entre o estame oposisépalo e oposipétalo, conação do estame com a pétala (seta). E. Detalhe do estame oposipétalo adnato a pétala (seta). F. Visão geral dos primórdios estaminais, mostrando os estames oposisépalos pressionados pelas pétalas. Microscopia de Luz (ML). Secções longitudinais de A a E. Secção transversal em F. Coradas com a Azul de Toluidina. s= sépalas; p= pétalas; e=estame; es= estame oposisépalo; ep= estame oposipétalo. Escala: A, B, D = 50 μ m; C = 10 μ m; E = 20 μ m; F = 50 μ m.

Figura 3: Crescimento e desenvolvimento da antera.



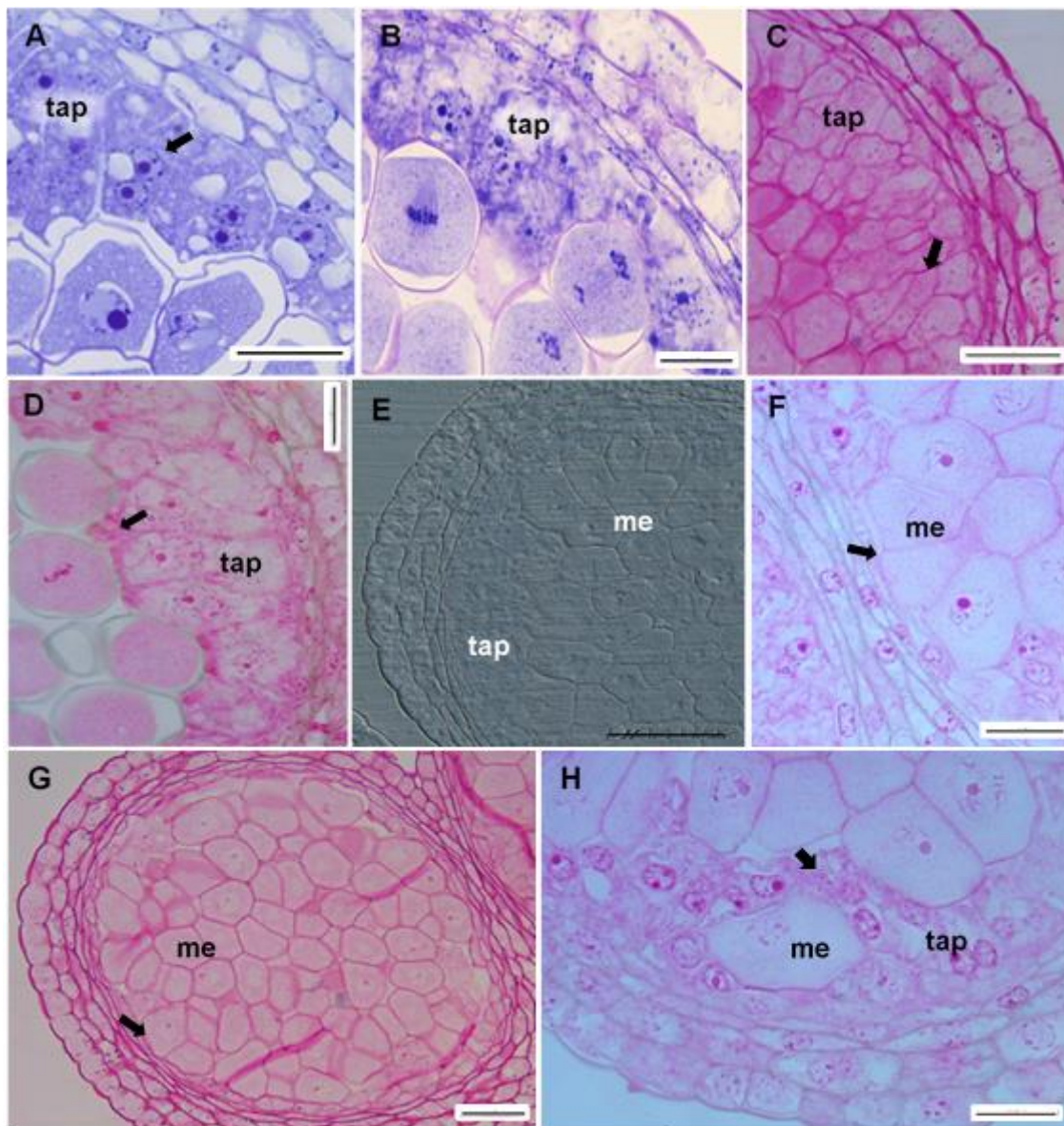
A. Formato elipsoide do primórdio estaminal. B. Formato bilobado com células dorsais vacuoladas (seta). C. Diferenciação dos tecidos do esporângio, divisão da CPP (seta preta), CA evidente (seta branca), epiderme ventral alongada anticlinalmente (estrela), células septais organizadas (ponta de flecha). D. Visão geral da antera com os tecidos em diferenciação, se tornando tetrasporangiada. E. Detalhe do esporângio com os estratos parietais em diferenciação. F. Detalhe das CA em mitose (seta). ML em secções transversais de A a F. Coradas com azul de toluidina. epi= epiderme; end= endotécio; cm= camada média; tap= tapete; ca= células arquesporais; estrela= feixe vascular. Escala: A a D= 20 μ m; E, F= 10 μ m.

Figura 4: Estrutura da epiderme, endotécio e camada média



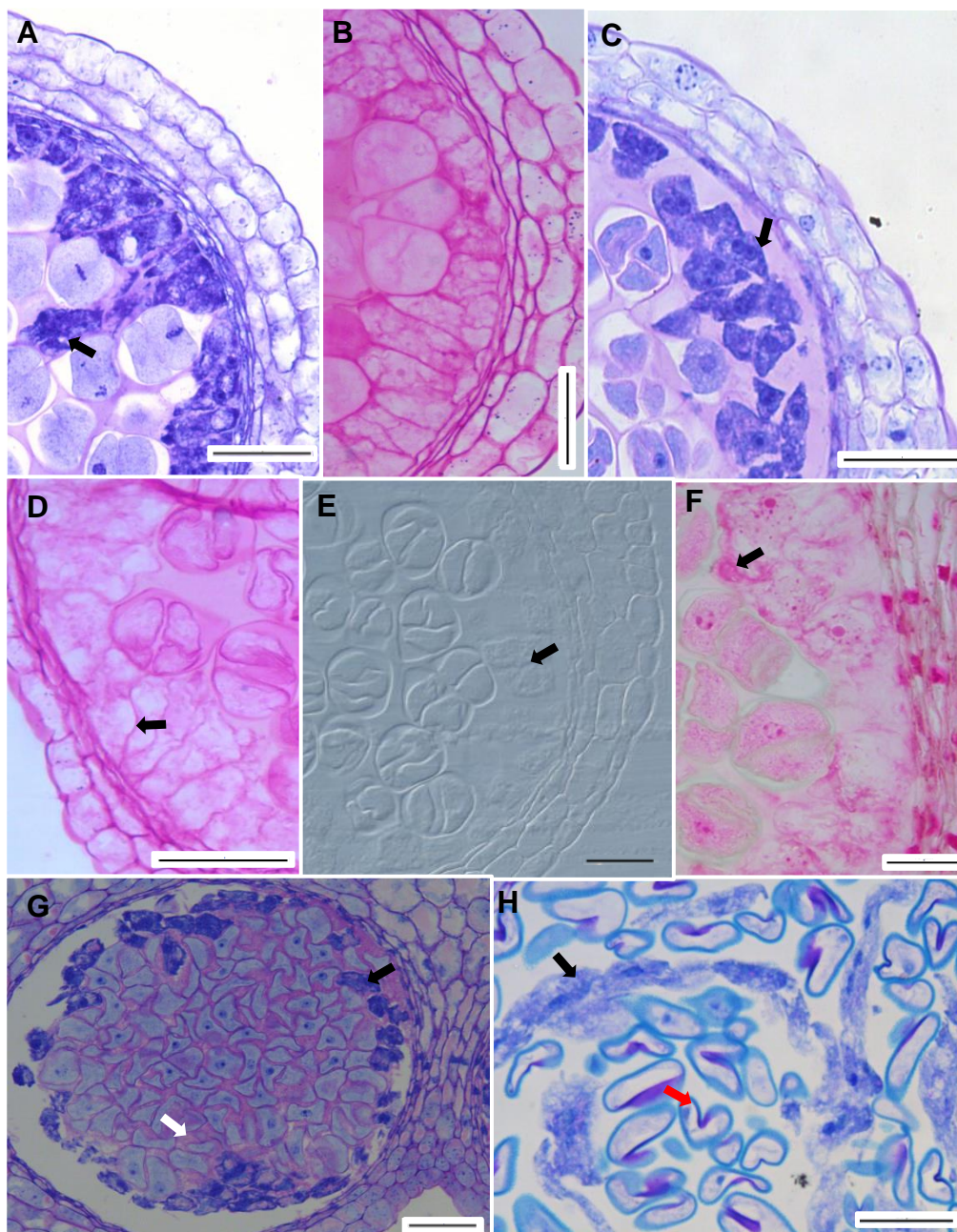
A. Detalhes das células do estrato parietal, epiderme em mitose e tapete binucleado. B. Composição celulósica das células do estrato parietal. C. Detalhes das células do estrato parietal. D. Detalhes das células do estrato parietal, epiderme com cutícula (seta preta), endotécio com espessamentos fibrosos (seta vermelha). E. Composição polissacarídica dos estratos parietais, marcados pelo PAS. F. Detalhes da epiderme com cutícula estriada sob luz polarizada. G. Espessamentos fibrosos do endotécio do tipo em "U" (seta), em luz polarizada. ML em secções transversais de A-D e G. Secções longitudinais em E e F. Coradas com Azul de Toluidina em A, C e D. epi=epiderme; end= endotécio; cm= camada média; tap= tapete. Escala: A, D, E = 10µm; B = 50µm; C, F, G = 20µm.

Figura 5: Estrutura do tapete.



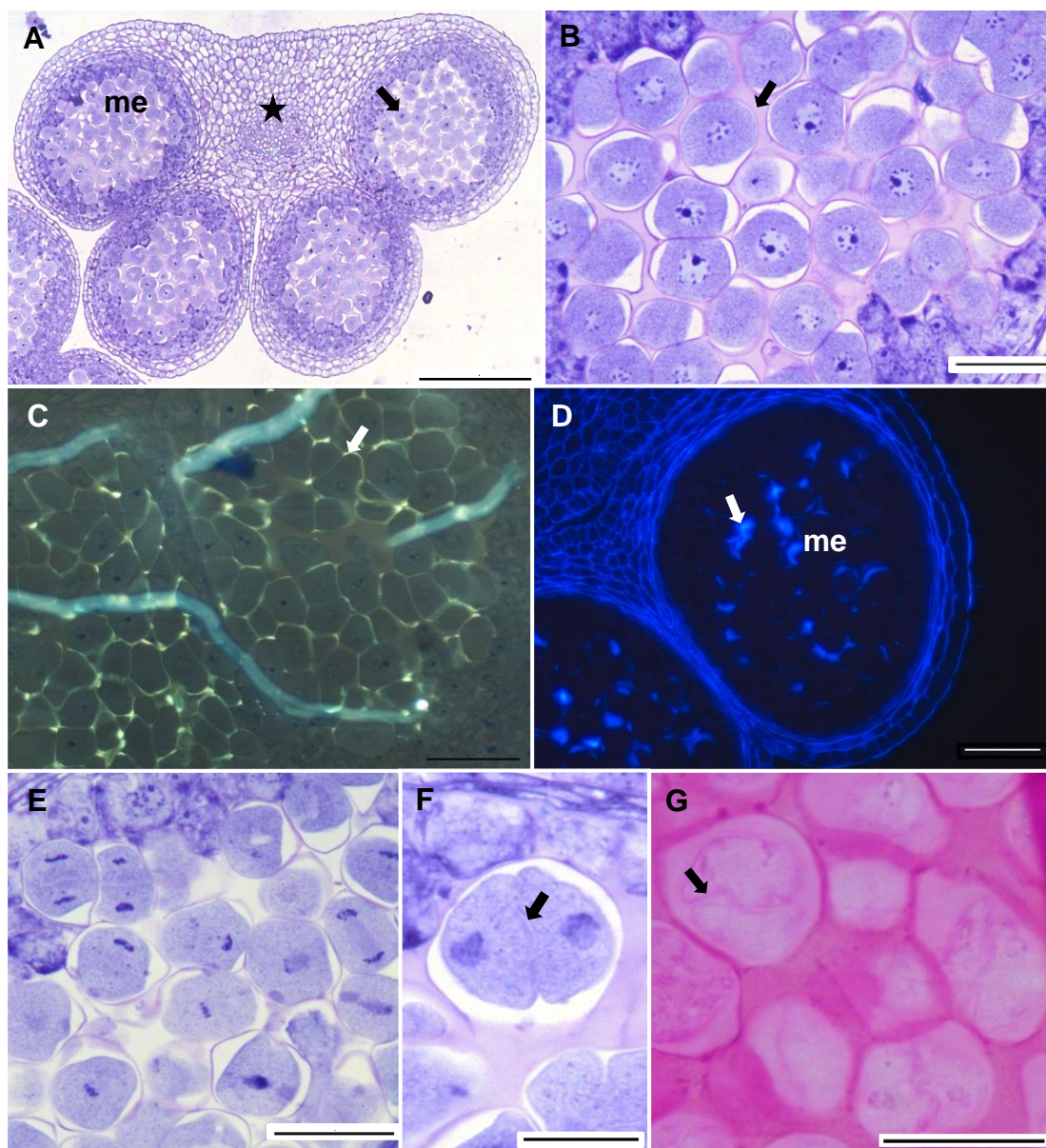
A. Células tapetais binucleadas (seta). B. Células tapetais com parede celular e lamela média alterada. C. Parede polissacarídica das células tapetais (seta), evidenciada pela coloração de PAS. D. Acumulação de pectinas nas células tapetais (seta) observada com o Vermelho de Rutênio. E. Contraste Diferencial e Interferencial de Células tapetais sem delimitações. F. Região do esporângio sem células tapetais (seta). G. Trecho do esporângio totalmente sem células tapetais, meiócitos em contato direto com a Camada Média (seta). H. Células tapetais (seta) englobando um meiócito. ML em secções transversais de A a H. tap= tapete; me= meiócito. Escala: A, B, D, F, H = 10 μ m; C, G = 20 μ m; E = 50 μ m.

Figura 6: Processo de degeneração do tapete.



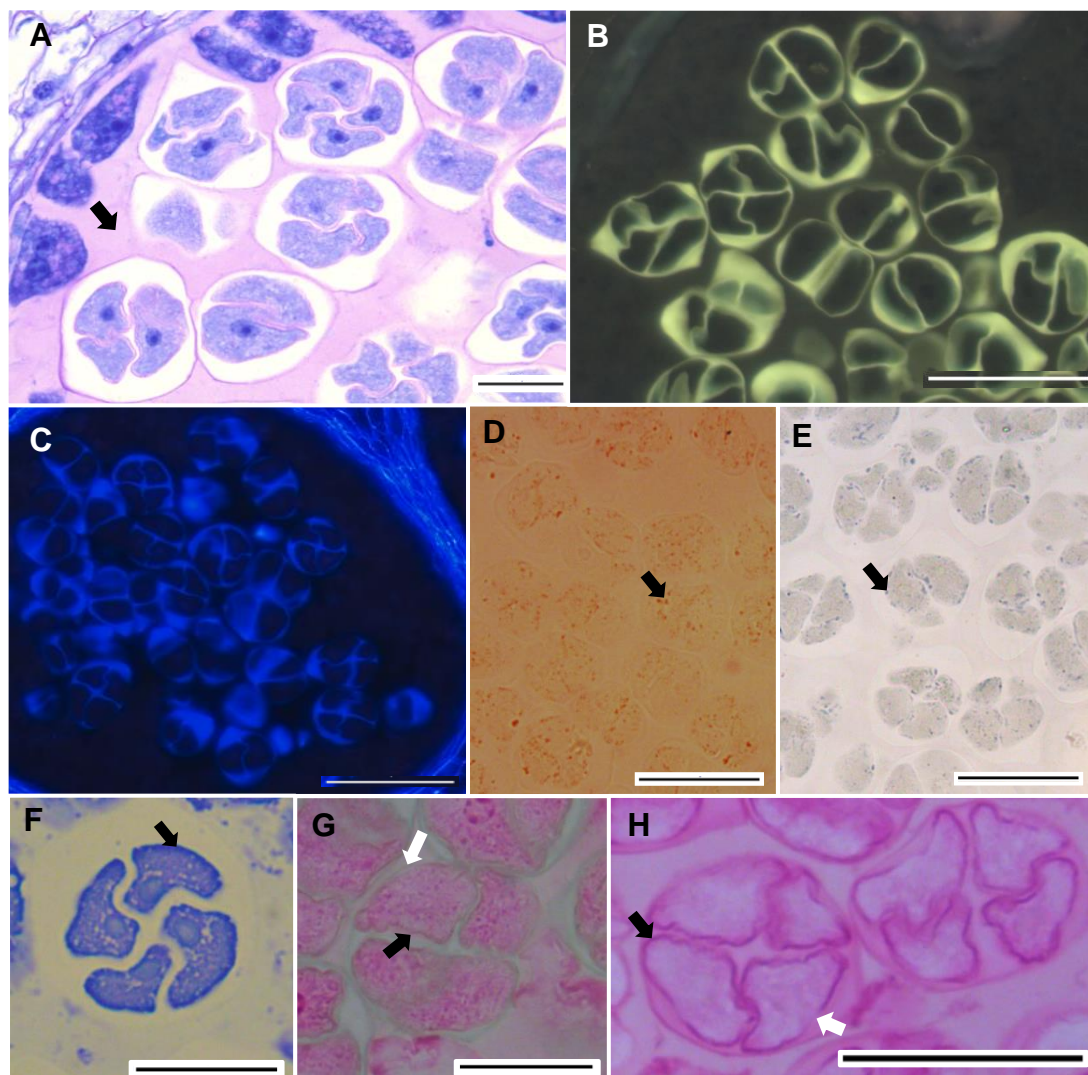
A. Células tapetais invadindo o lóculo da antera (seta). B. Parede polissacarídica destacada pelo PAS (seta). C. Células tapetais se desprendendo da parede da antera (seta). D. Parede polissacarídica torna-se mais fraca (seta), corada com PAS. E. Células tapetais sem delimitações (seta) no Contraste Diferencial e Interferencial. F. Acúmulo de pectinas nas células tapetais (seta), apontada pelo Vermelho de Rutênio. G. Degeneração do tapete (seta preta) e da calose (seta branca). H. Restos de tapete degenerado (seta preta) e micrósporos livres (seta vermelha). ML em secções transversais de A a H. Coradas com Azul de Toluidina em A, C, G e H. Escala: A, B, C, D, G, H = 20 μ m; E = 100 μ m; F = 10 μ m.

Figura 7: Esporogênese



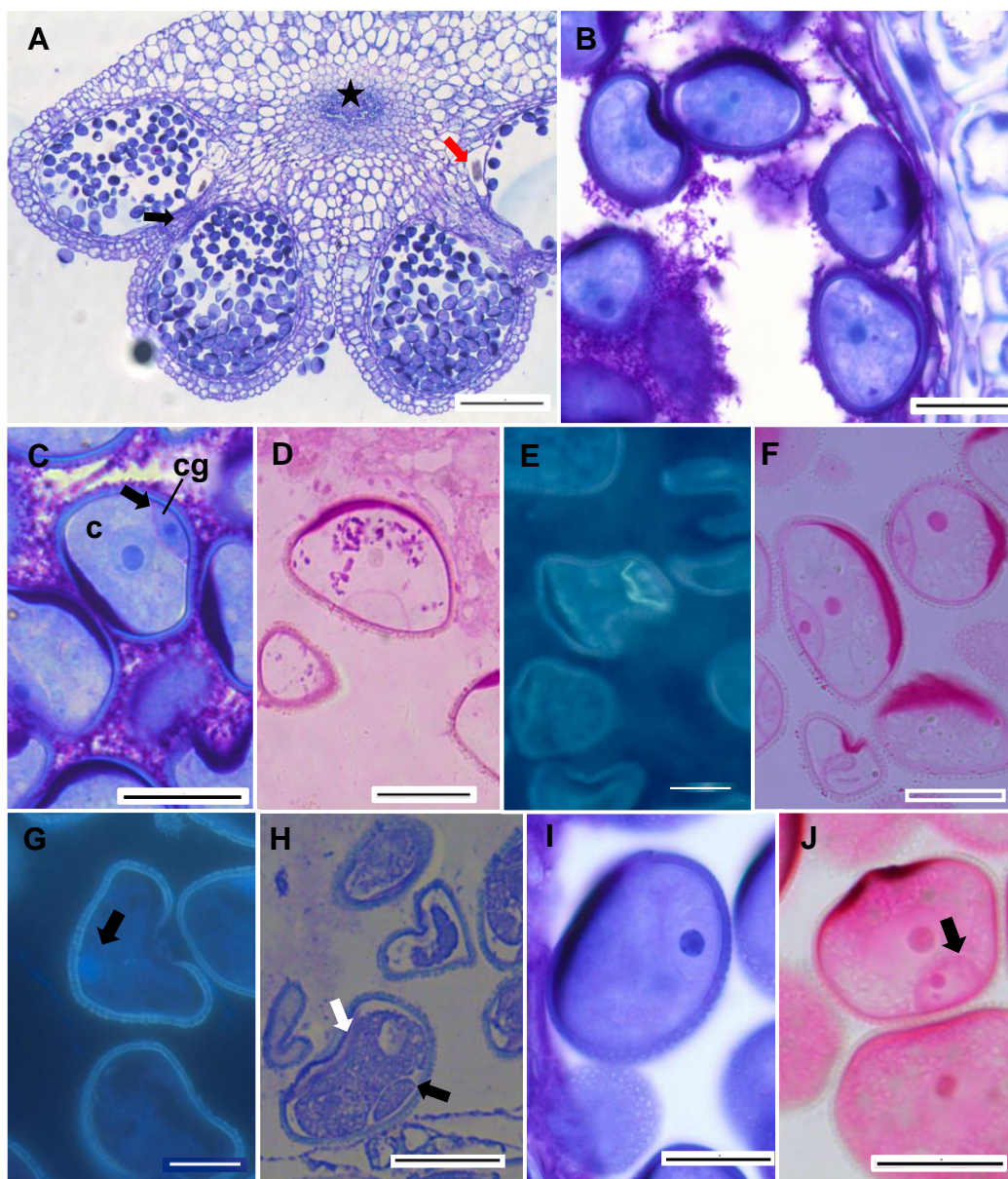
A. Vista geral da antera tetrasporangiada durante a meiose, com um esporângio assíncrono (seta). B. Meiócitos em prófase envolvidos por uma parede de calose (seta). C. Início da deposição de calose envolta dos meiócitos (seta), evidenciada pela fluorescência. D. Camada de calose envolta dos meiócitos (seta), evidenciada pelo Calcofluor White. E. Detalhes da divisão meiótica. F. Detalhe da parede que separa as díades (seta). G. Detalhe da parede que separa as díades (seta), observada pela coloração com PAS. ML em secções transversais de A a G. Coradas com Azul de Toluidina em A, B, E e F. Escala: A = 100 μ m; B, E, G = 20 μ m; C, D = 50 μ m; F = 10 μ m.

Figura 8: Tétrades



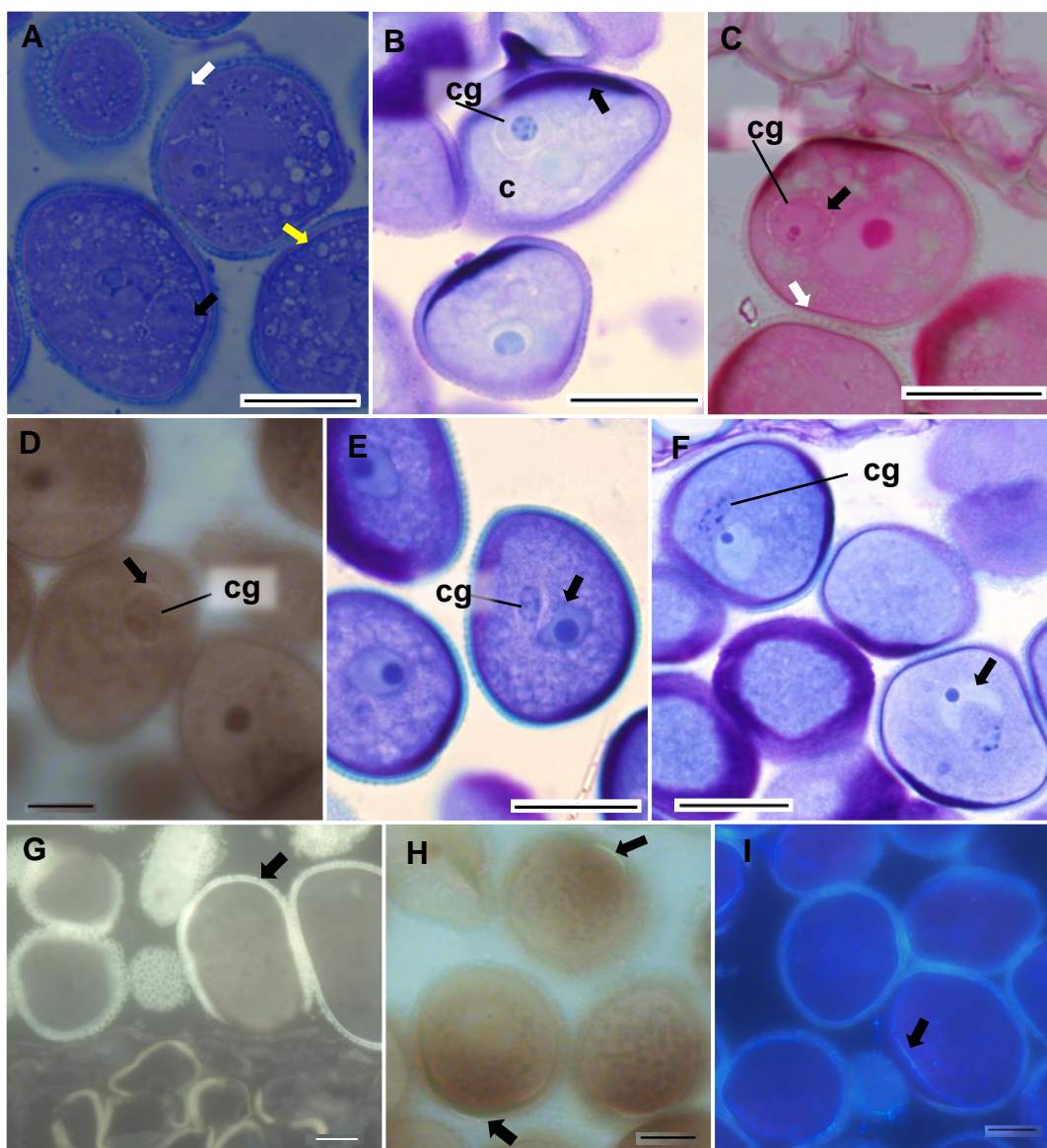
A. Tétrades de formato isobilateral e decussado, envoltos pela camada de calose (seta), corado com Azul de Toluidina. B. Camada de calose envolta das tétrades evidenciada pelo Azul de Anilina na fluorescência. C. Camada de calose envolta das tétrades evidenciada pelo Calcofluor White. D. Citoplasma das tétrades com gotas lipídicas (seta), coradas com Sudan III. E. Citoplasma das tétrades com gotas lipídicas (seta), coradas com Sudan Black B. F. Tétrades com acumulo de proteínas (seta). G. Formação da Primexina em torno das tétrades (seta preta) e região com ausência de Primexina (seta branca), apontadas pelo Vermelho de Rutênio. H. Primexina em torno das tétrades (seta preta) e região com ausência de primexina (seta branca), apontadas pelo PAS. ML em secções transversais de A a H. Escala: A, F, G = 10µm; B, C = 50µm; D, E, H = 20µm.

Figura 9: Gametogênese.



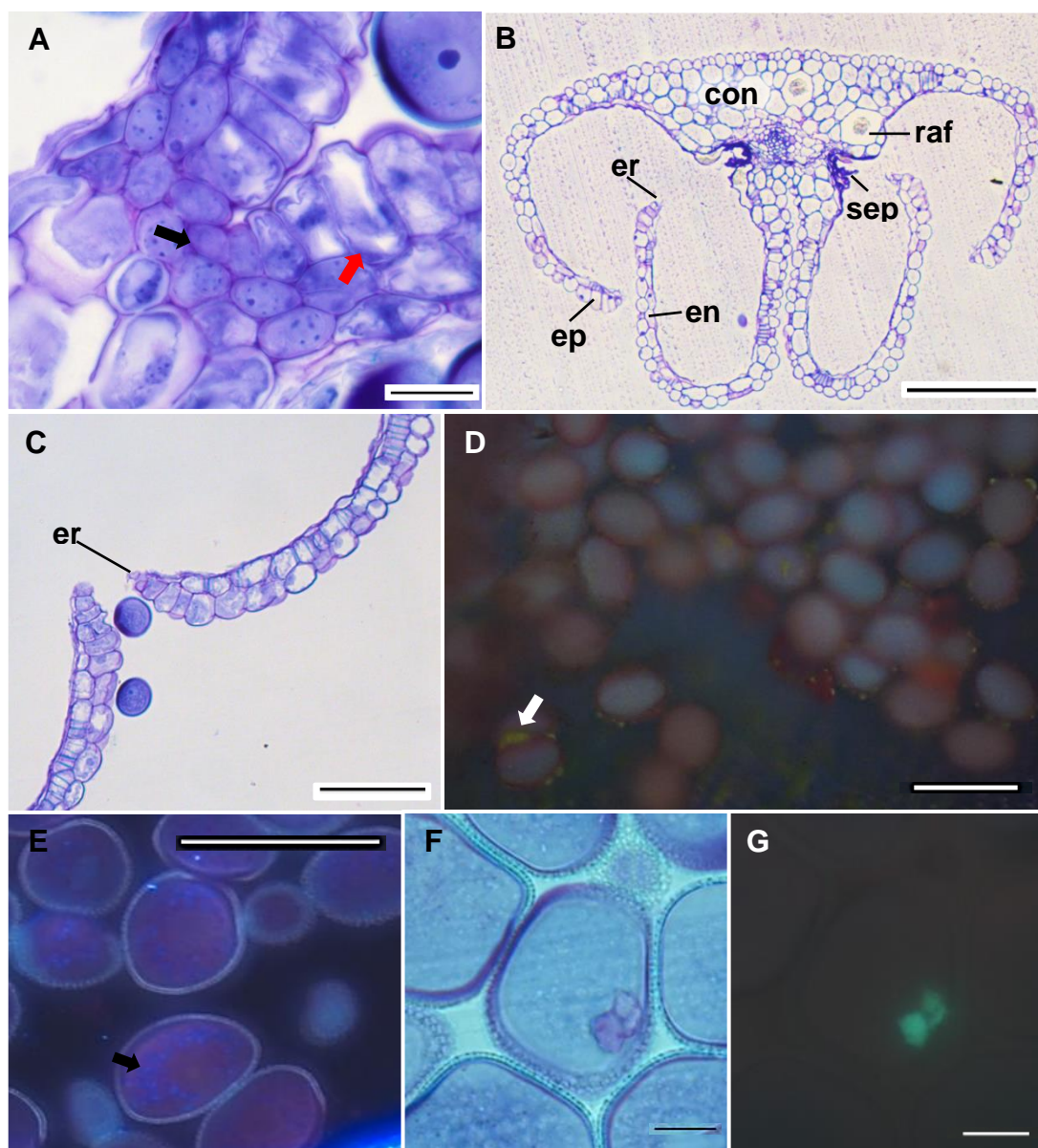
A. Visão geral da antera no início da gametogênese, com células do septo em processo de degeneração (seta preta) e ráfides na região voltada para o lóculo (seta vermelha). B. Detalhe da mitose do microsporo. C. Célula generativa na posição parietal com parede péctica (seta). D. Parede da célula generativa polissacarídica (seta) marcada por PAS. E. Parede da célula generativa calósica (seta), observada com o Azul de Anilina na fluorescência. F. Parede da célula generativa com composição péctica, com o Vermelho de Rutênio. G. Parede da célula generativa não celulósica (seta) evidenciada com o Calcofluor White. H. Parede da célula generativa não proteica (seta preta), acumulação de proteína na parte interna da exina, no extrato interno da exintina e na região do citoplasma voltado para a abertura (seta branca), marcada com o Azul de Coomassie. I. Célula generativa sendo englobada pela célula vegetativa, corada com Azul de Toluidina. J. Célula generativa sendo englobada, negativo para pectinas na parede (seta) com o Vermelho de Rutênio. ML de A a J. estrela = feixe vascular; cv= célula vegetativa; cg= célula generativa. Escala: A = 100µm; B a J = 10µm.

Figura 10: Grãos de pólen maduros.



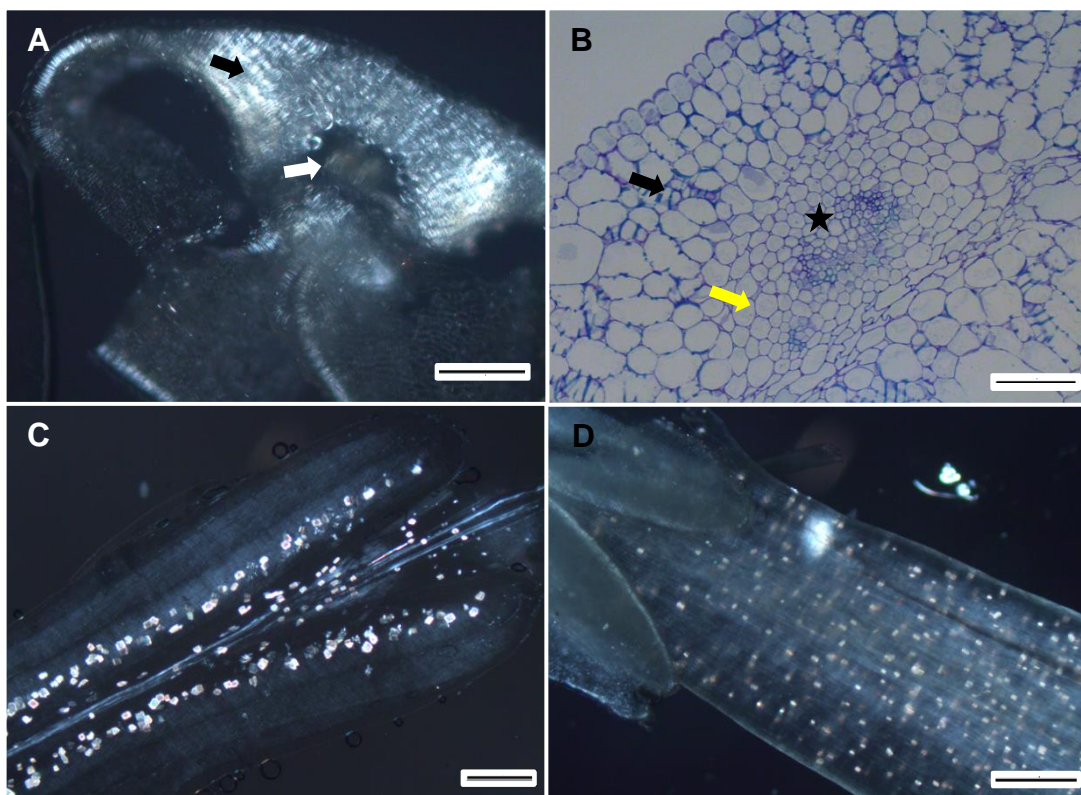
A. Célula generativa sendo englobada com parede não proteica (seta preta), intina com proteína (seta amarela), exina proteica (seta branca) evidenciadas pelo Azul de Comassie. B. Célula generativa movida para a posição central, camada de intina péctica mais espessa na região de abertura (seta). C. Parede da célula generativa não péctica (seta preta) e intina péctica (seta branca), corada o Vermelho de Rutênio. D. Parede da célula generativa indicando levemente a presença de lipídios, com o Vermelho Neutro (seta). E. Núcleo da célula vegetativa inicia o formato fusiforme (seta). F. Núcleo da célula vegetativa com formato fusiforme (seta preta), e a célula generativa alongada. G. Exina composta por esporopolenina (seta), marcada pela Auramina O. H. Local de abertura do pólen marcando presença de lipídios (seta) com o Vermelho Neutro na fluorescência. I. Intina com uma delgada camada celulósica (seta). ML de A a I. cg= célula generativa. Escala: A, B, C, E,F,G,I = 10 μ m; D ,H = 50 μ m.

Figura 11: Aspectos da antera madura.



A. Detalhe da região do estômio (seta preta) antes da deiscência da antera, células epidérmicas alongadas (seta vermelha). B. Visão geral da antera deiscente. C. Detalhe do rompimento do estômio. D. Pollenkitt aderido ao grão de pólen (seta), evidenciado com o Vermelho Neutro. E. Grânulos detectados com Calcofluor White (seta). F. Material acumulado no citoplasma, corado com Azul de Toluidina. G. Material acumulado no citoplasma detectado na fluorescência com Azul de Anilina. Seções transversais em ML em A, B e C. ep= epiderme; end= endotécio; er= estômio rompido; con= conectivo; raf= râfide; sep=septo. Escala: A, F, G = 10 μ m; B = 100 μ m; C, E, D = 50 μ m;

Figura 12: Conectivo e ráfides.



A. Visão geral da antera deiscente com região do conectivo com espessamento fibroso (seta preta) e região sem espessamento (seta branca). B. Detalhe do conectivo com espessamento fibroso (seta preta) e sem (seta amarela). C. Antera com a presença de ráfides. D. Região do filete com muitas ráfides. Luz polarizada em A, C e D. ML em B. Secção transversal em A e B. Material longitudinal em C e D. estrela = feixe vascular. Escala: A, D = 100 μm ; B = 50 μm ; C = 200 μm .

CAPÍTULO 2

DINÂMICA DO AMIDO

INTRODUÇÃO

Na maioria dos grãos de pólen, o acúmulo de uma grande reserva de carboidratos, principalmente amido, é marcante durante a maturação do pólen, que serão necessários mais tarde, durante os estádios iniciais da germinação do pólen e do crescimento dos tubos polínicos (VASIL, 1967). De acordo com Pacini (1996), os açúcares solúveis e carboidratos absorvidos pelo pólen podem ser metabolizados imediatamente, usado como precursores de intina, convertido em outras moléculas, ou armazenadas como reservas de polissacarídeos. Os polissacarídeos no citoplasma dos grãos de pólen impedem a rápida diminuição da viabilidade devido à dessecação antes e depois da deiscência da antera (FRANCHI, 1996).

Depósitos temporários de polissacarídeos insolúveis podem ocorrer dentro do lóculo desde a interfase meiótica até o estágio médio de micrósporo (PACINI, 1994). O processo de amilogênese pode ocorrer uma ou duas vezes, no estágio de micrósporo ou em ambos micrósporos e diferentes estádios dos gametófitos bicelulares, em monocotiledôneas ocorre, geralmente, apenas uma vez (PACINI, 1994). Contudo, Oliveira et al. (2015) estudando três espécies de gêneros distintos em Bromeliaceae observaram dois ciclos de amilogênese - amilólise nos grãos de pólen de *Dyckia racinae* e *Tillandsia aeranthos*. Em *Ilex paraguariensis* também ocorre dois ciclos de amilogênese, interrompidos por um ciclo de acúmulo proteico (SANTOS; MARIATH, 1999). Deste modo, acredita-se que o número de ciclos depende da espécie (GARCIA; NEPI; PACINI, 2017). Ainda de acordo com estes autores, os processos graduais de amilogênese e amilólise são assíncronos até mesmo dentro do microsporângio.

Segundo Bhandari (1984) os produtos de decomposição do amido são uma das principais composições do fluido locular, durante o desenvolvimento de micrósporos e grãos de pólen. A síntese do amido depende da disponibilidade de sacarose citoplasmática e hexoses, que necessita da captação e metabolização de cada micrósporo (GARCIA; NEPI; PACINI, 2017). Além disso, se o consumo de carboidratos pelo gametófito é menor do que a liberação pelo esporófito, o amido fica armazenado durante o crescimento, para posteriormente ser consumido (PACINI, 1996). Segundo Bhandari (1984) no estágio de meiose dos micrósporos, a atividade sintética no tapete aumenta e certas reservas alimentares, como amido e lipídios são armazenadas.

O grão de pólen maduro pode ser com amido ou sem, sendo a maioria das angiospermas, incluindo Bromeliaceae, caracterizadas pela ausência do amido (BAKER; BAKER, 1979). No estágio final de maturação, o armazenamento de sacarose é um fator importante para a tolerância à dessecação (GARCIA; NEPI; PACINI, 2017). Além disso, vida média do pólen é muito influenciada pelo tipo de reservas de carboidratos e conteúdo de água (PACINI, 1996).

As reservas de carboidratos, como o amido, variam de espécie para espécie e em relação a parâmetros ambientais onde as mesmas são encontradas (NEPI; FRANCHI, 2000; OLIVEIRA et al., 2015). Garcia, Nepi e Pacini, (2017) complementam que a eficiência de cada grão de pólen será o resultado de uma série de etapas determinadas pelo seu desenvolvimento, estado fisiológico e restrições ambientais.

O presente estudo, tem por objetivo analisar a dinâmica do amido durante o desenvolvimento da antera em *Dyckia strehliana*. Deste modo, observar os processos de amilogênese e amilólise nos tecidos esporangiais, conectivais e meiócitos/grão de pólen.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados botões florais e/ou flores em antese em diferentes estádios de desenvolvimento de indivíduos às margens do rio Toropi, no município de Quevedos, RS. As amostras foram fixadas em glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 (GABRIEL, 1982; MCDOWELL; TRUMP, 1976). Os demais processamentos e a análise do material botânico foram realizados no Laboratório de Botânica Estrutural do Departamento de Biologia, CCNE/ UFSM.

Os materiais foram retirados do fixador e imersos em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 (GABRIEL, 1982). Após, foram colocadas em duas séries de lavagens em água destilada durante 20 minutos, e, a seguir, submetidas ao detergente Extran 5% por sete dias. Desidratadas em série etílica (10 a 99%) por 20 minutos em cada gradação alcoólica (O'BRIEN; MCCULLY, 1981). A seguir, o material foi imerso em solução de pré-infiltração a base de 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) e álcool etílico 99% na proporção 1:1 por 24 horas e, posteriormente, à infiltração com HEMA puro por 12-24 horas. Os materiais foram emblocados em HEMA (GERRITS; SMID, 1983). As secções foram realizadas no micrótopo de rotação Thermo Scientific Finess ME+, com espessuras variando de 0,5 a 3 μ m. Os cortes resultantes foram expostos ao Azul de Toluidina O 0,05% pH 4.4 (SIDMAN; MOTTLA; FEDER, 1961), a solução de Lugol (JOHANSEN, 1940) para identificação de amido e Ácido Periódico – Reativo de Schiff (PAS) para polissacarídeos totais (O'BRIEN; MCCULLY, 1981). As análises das lâminas histológicas foram em microscópio Leica DM2000 com sistema de captura digital de imagem DFC 295.

RESULTADOS

A antera (Figura 1A) no estágio de célula mãe de micrósporo, apresentou grãos de amido em pequenas quantidades no conectivo e epiderme, endotécio e camada média e ausentes nas células mãe de micrósporos e no tapete (Tabela 1) (Figura 1B).

Ao final da meiose I, não foram observados grãos de amido em nenhum dos tecidos da antera (Figura 1C). Cenário que mudou na fase de tétrade, pois pequenas quantidades de amido na maioria das células do conectivo (Figura 1D) e da parede do esporângio (Figura 1E). Os meiócitos e o tapete permanecem sem amido (Figura 1F). Durante a fase da dissolução da calose e a seguida vacuolação dos micrósporos, não foram encontrados grãos de amido em nenhum dos tecidos (Tabela 1). No início da gametogênese, no momento em que a célula generativa está na posição parietal, é possível observar alguns grãos de amido no citoplasma da célula vegetativa (Figura 2A). Ao mesmo tempo, foi observado acúmulo de grãos de amido no tapete em degeneração (Figura 2B), e em células esparsas da epiderme e do conectivo. Foram observados que grãos de pólen da porção central do lóculo possuem maior reserva de amido, em comparação com os gametófitos periféricos (Figura 2C).

Durante a migração da célula generativa da posição parietal para a posição central houve um pico amilogênese no citoplasma da célula vegetativa (Figura 2D), não havendo detecção nos tecidos da antera. No final da gametogênese, quando houve a formação da unidade germinativa masculina, iniciou-se o consumo dos grãos de amido, diminuindo a quantidade no citoplasma das células vegetativas. O conectivo e os tecidos dos esporângios permaneceram sem grãos de amido até sua liberação. Os grãos de pólen durante a sua liberação não possuem grãos de amido.

DISCUSSÃO

Durante todo o desenvolvimento da antera, a parede do esporângio e o conectivo apresentaram pequenas quantidades de grãos de amido nos estádios de CMM, tétrade e célula generativa lenticular. Em comparação com *Dyckia racinae*, no estudo de Oliveira et al. (2015), é possível notar a diferença de quantidades e tamanhos dos grãos de amido na parede do esporângio em todas as fases até o início da gametogênese. *Dyckia strehliana* se assemelhou com *Aechmea recurvata* em relação a quantidade de amido no esporângio na fase de tétrade (OLIVEIRA, et al.,

2015). Clement e Audran (1999) sugeriram que na maioria das espécies, as reservas amiláceas são máximas nas camadas da parede das anteras no momento da meiose.

A parede do esporângio apresentou amido pela última vez na fase de célula generativa lenticular, ao mesmo tempo que o endotécio adquiriu espessamentos fibrosos, deste modo pode-se supor que os carboidratos foram utilizados para este processo. Em *Lilium*, durante o desenvolvimento dos grãos de pólen, o endotécio representa o principal local de armazenamento do amido no esporângio (CLEMENT et al., 1994). Konyar, Dane e Tutuncu (2013) e Konyar (2018) afirmaram que os produtos de degradação de materiais de reserva na parede da antera podem ser usados para alongamento e diferenciação ou transportados para o lóculo.

O tapete apresentou acúmulo de grãos de amido somente depois de degenerado, no momento em que a célula generativa estava na posição parietal, sendo forte indício que em uma fase anterior houve um processo de amilogênese neste tecido. Em *Pitcairnia encholirioides* (MENDES et al., 2016) o tapete apresenta acúmulo de grãos de amido na fase de CMA. Konyar (2018) detectou em *Pancratium maritimum* L. (Amaryllidaceae) poucos grãos de amido no tapete e depois no lóculo da antera após a fase de liberação dos micrósporos, indicando que os produtos do catabolismo do amido foram transportados para o lóculo da antera a partir do tapete.

Os micrósporos iniciam processos de amilogênese após a mitose assimétrica, com um pico de acumulação no momento que a célula generativa se move para dentro da célula vegetativa. Nas três espécies de Bromeliaceae estudadas por Oliveira et al. (2015), incluindo *Dyckia racinae*, a presença de amido iniciou mais cedo, ainda na fase de CMA, e o pico de acúmulo na fase de célula generativa lenticular. Em *Dyckia polyclada* o pico da amilogênese ocorreu na fase de tétrade (MARTINS, 2016). Em *Lilium*, a amilogênese dos micrósporos inicia na fase de vacuolação (CLEMENT et al., 1994).

O início da deposição de amido ocorre logo após a divisão mitótica dos micrósporos, ao mesmo tempo que inicia a formação da intina, sugerindo que estes processos estão intimamente ligados, confirmando as atribuições deste carboidrato sugeridos por Pacini (1996). Clement et al., (1994) observaram que o acúmulo de carboidratos no micrósporo está relacionado a conclusão do crescimento de anteras em *Lilium*.

A assincronia no processo de amilogênese dentro do mesmo esporângio, indica que os micrósporos centrais são os primeiros a depositar grãos de amido no seu

citoplasma, e em seguida os periféricos. Garcia, Nepi e Pacini (2017) afirmaram que tal assincronia é comum dentro do mesmo microsporângio, entretanto, não detalhou de observações sobre alguma ordem ou posições relativas para depósito ou consumo.

Os grãos de amido foram observados apenas no citoplasma da célula vegetativa, assim como a maioria das angiospermas (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Os grãos de amido encontrados no citoplasma da célula vegetativa são maiores do que os observados nos outros tecidos da antera, também observado para algumas espécies de Bromeliaceae (Oliveira et al., 2015).

O início da amilólise dos grãos de pólen ocorre no momento em que a unidade germinativa masculina está formada. Em *Dyckia racinae*, nesta mesma fase já não é possível observar amido, pois a amilólise ocorre quando a célula generativa é movida para o centro da célula vegetativa (OLIVEIRA et al., 2015). Em *D. polyclada* a amilólise ocorreu no final da dissolução da calose (MARTINS, 2016). Em grãos de pólen maduros de *Lilium*, os grãos de amido desaparecem progressivamente concomitante com o acúmulo de lipídios (CLEMENT et al., 1994).

O grão de pólen maduro caracteriza-se como sendo sem amido em *D. strehliana*. Em *Aechmea recurvata*, *Dyckia racinae*, *Tillandsia aeranthos* (OLIVEIRA et al, 2015) e *D. polyclada* (MARTINS, 2016) os grãos de pólen também são dispersos sem amido, concordando com o descrito para Bromeliaceae (BAKER; BAKER, 1979). De acordo com Baker e Baker (1979) a ausência de amido é uma característica de espécies entomófilas.

D. strehliana apresentou apenas um ciclo de amilogênese - amilólise nos grãos de pólen, concordando com a afirmação de Pacini (1994) para características de monocotiledôneas. Em contraste com *D. racinae* (OLIVEIRA et al., 2015) e *D. polyclada* (MARTINS, 2016) que possuem dois ciclos, nos micrósporos e nos grãos de pólen. O acúmulo de grãos de amido nos grãos de pólen após a primeira mitose é comum na maioria das espécies (VASIL, 1967; CLEMENT et al., 1994; OLIVEIRA, et al., 2015), pois esses carboidratos são utilizados durante a deiscência da antera.

CONCLUSÃO

Verificamos que a dinâmica do amido no desenvolvimento da antera e grãos de pólen de *Dyckia strehliana* difere consideravelmente de espécies do gênero, considerando que os habitats de tais espécies também são divergentes. Entretanto no momento da dispersão os grãos de pólen se caracterizam como sendo sem amido, comum a família.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, H. G.; BAKER, I. Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. **American Journal of Botany**, v. 66, n. 5, p. 591-600, 1979.

BHANDARI, N. N. The microsporangium. In: **Embryology of angiosperms**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 53-121, 1984.

CLÉMENT, C. et al. Anther starch variations in *Lilium* during pollen development. **Sexual Plant Reproduction**, v. 7, n. 6, p. 347-356, 1994.

CLÉMENT, C.; AUDRAN, J. C. Anther carbohydrates during in vivo and in vitro pollen development. In: **Anther and pollen**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 69-90, 1999.

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

GARCÍA, C. C.; NEPI, M.; PACINI, E. It is a matter of timing: asynchrony during pollen development and its consequences on pollen performance in angiosperms—a review. **Protoplasma**, v. 254, n. 1, p. 57-73, 2017.

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

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, Inc: Londres, p. 530, 1940.

JOHRI, B. M.; AMBEGAOKAR, K. B.; SRIVASTAVA, P. S. Comparative embryology of angiosperms. **New York and Berlin: Springer-Verlag**, 1992.

KONYAR, S. T. Dynamic changes in insoluble polysaccharides and neutral lipids in the developing anthers of an endangered plant species, *Pancratium maritimum*. **Plant Systematics and Evolution**, v. 304, n. 3, p. 397-414, 2018.

KONYAR, S. T.; DANE, F.; TÜTÜNCÜ, S. Distribution of insoluble polysaccharides, neutral lipids, and proteins in the developing anthers of *Campsis radicans* (L.) Seem. (Bignoniaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 299, n. 4, p. 743-760, 2013.

MARTINS, S. M. **Desenvolvimento embriológico em *Dyckia polyclada* L.B.Sm. (Pitcairnioideae – Bromeliaceae)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

MCDOWELL, E.M.; TRUMP, B.R. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 100, p. 405-414, 1976.

NEPI, M.; FRANCHI, G.G. Cytochemistry of Mature angiosperm pollen. **Pollen and Pollination**, p. 45-62, 2000.

O'BRIEN, T.P.; MCCULLY, M.E. **The study of plant structure principles and selected methods**. Termarcarphi Pty Ltd, Melbourne, 1981.

OLIVEIRA, J. M. S. et al. Starch distribution in anthers, microspores and pollen grains in *Aechmea recurvata* (Klotzsch.) LB Sm., *Dyckia racinae* LB Sm. and *Tillandsia aeranthos* (Loisel.) LB Sm.(Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, n. 1, p. 103-112, 2015.

PACINI, E. Cell biology of anther and pollen development. In: **Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants**. Springer, Dordrecht, p. 289-308, 1994.

PACINI, E. Types and meaning of pollen carbohydrate reserves. **Sexual Plant Reproduction**, v. 9, n. 6, p. 362-366, 1996.

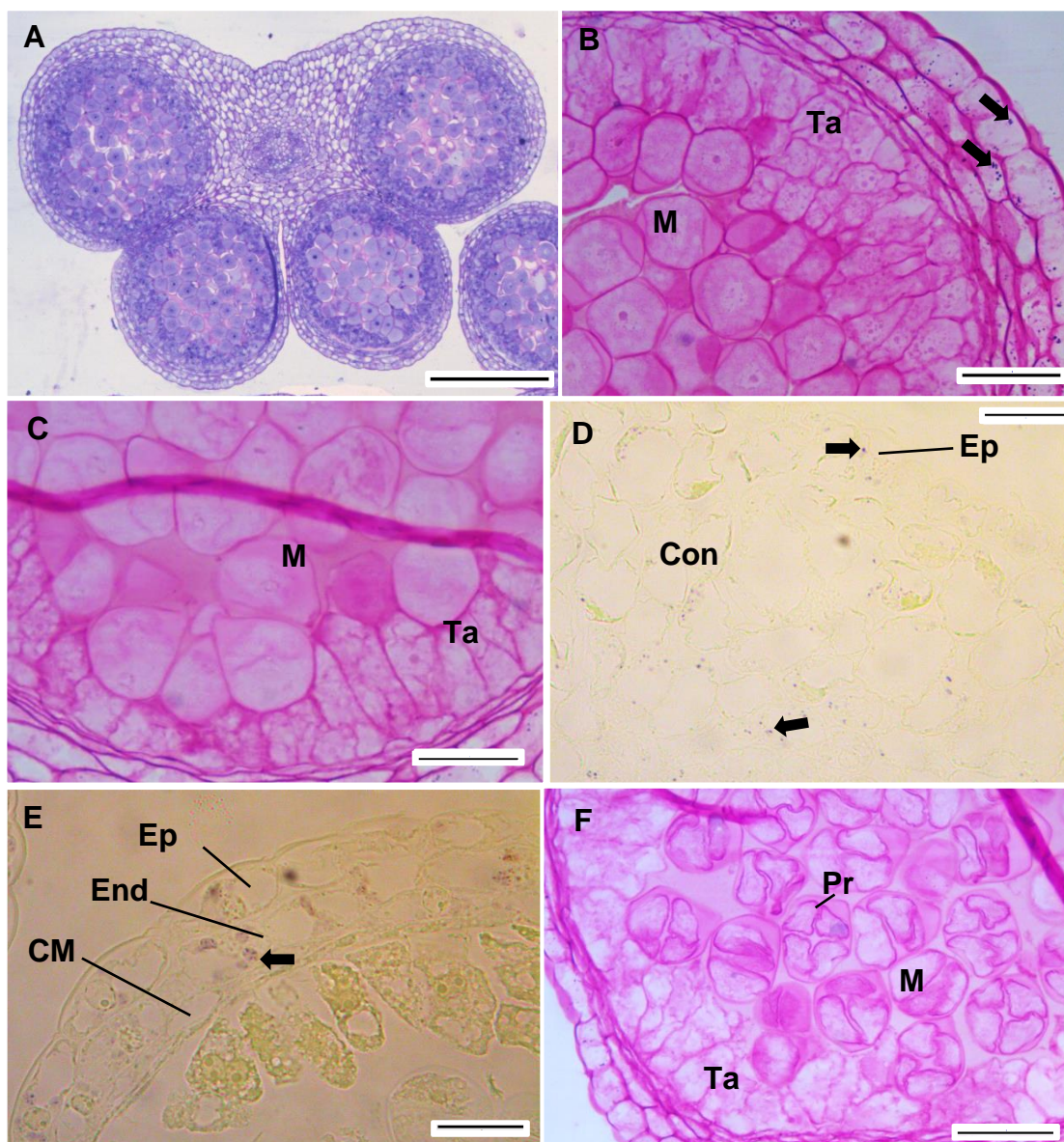
SANTOS, R. P.; MARIATH, J. E. A. Storage substances in the androgametogenesis and mature pollen grain of *Ilex paraguariensis* St. Hil.(Aquifoliaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 22, n. 2, p. 125-131, 1999.

VASIL, I. K. Physiology and cytology of anther development. **Biological Reviews**, v. 42, n. 3, p. 327-366, 1967.

Tabela 1: Relação da presença ou ausência de amido durante os estágios de desenvolvimento da antera.

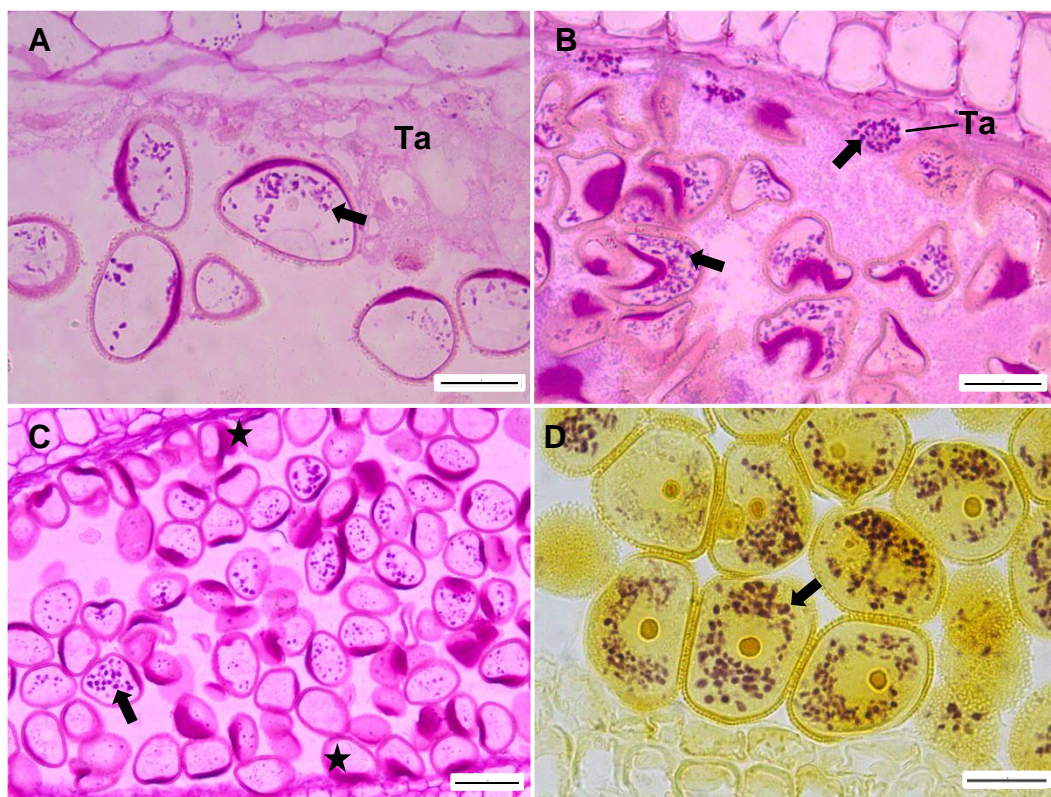
Estádio de desenvolvimento	Meiócitos/ Micrósporos	Tapete	Parede do Esporângio	Conectivo
CMA	-	-	+	+
Díade	-	-	-	-
Tétrade	-	-	+	+
Dissolução da calose/ Vacuolação	-	-	-	-
Cel. Generativa lenticular	++	++	+	+
Cel. Gen. movida para o centro	+++	-	-	-
Unidade Germinativa masc. formada	++	-	-	-

Figura 1: Dinâmica do amido no estágio de meiose.



A. Aspecto geral da antera no início da meiose. B. Fase de célula-mãe do microsporo com grãos de amido em pequenas quantidades na parede do esporângio. C. Fase de díade sem grãos de amido. D. Conectivo com poucas quantidades de grãos de amido na fase de tétrade. E. Esporângio com poucos grãos de amido na fase de tétrade. F. Fase de tétrade sem amido nos meiócitos e tapete. Microscopia de Luz (ML) de anteras de *Dyckia strehliana*. Secções transversais de A a F. Reagente Reagente Azul de Toluidina em A. Reagente PAS em B, C e F. Reagente Lugol em D e E. Ta= tapete; M= microsporos; Pr= primexina; Con= conectivo; Ep= epiderme; End= endotécio; CM= camada média. Seta preta indica grãos de amido. Escala: A = 100 μ m; B, C, F = 20 μ m; D, E = 10 μ m.

Figura 2: Presença de amido após a mitose dos grãos de pólen.



A. Célula vegetativa com grãos de amido no citoplasma. B. Acúmulo de amido no tapete. C. Diferença de quantidades de grãos de amido nos grãos de pólen do centro e da região periférica do lóculo (estrela). D. Acúmulo de grãos de amido no citoplasma da célula vegetativa. Microscopia de Luz de anteras de *Dyckia strehliana*. Secções longitudinais de A a D. Reagente PAS em A, B e C. Reagente lugol em D. Escala: A, B, D = 10 μ m; C = 20 μ m.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os dados apontados neste trabalho podemos concluir que o desenvolvimento da antera de *Dyckia strehliana* afirmam características gerais descritas para a família e pequenas diferenças e/ou semelhanças a diferem de outras espécies do gênero. A dinâmica do amido envolvida nestes processos, demonstrou dissemelhança ao compará-la com outra espécie de *Dyckia*, o que supomos que possa estar relacionada com os ambientes opostos em que as espécies se encontram. Estes dados podem contribuir para outros estudos reprodutivos, e auxiliar nos aspectos taxonômicos e morfológicos.