

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

**ASPECTOS DA ONTOGENIA, GINOSPOROGÊNESE E  
GINOGAMETOGÊNESE EM *Dasyphyllum brasiliense*  
(Spreng.) Cabrera E *Schlechtendalia luzulaefolia* Less.  
(BARNADESIOIDEAE-ASTERACEAE)**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Patrícia Kurtz da Costa**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2014**

**ASPECTOS DA ONTOGENIA GINOSPOROGÊNESE E  
GINOGAMETOGÊNESE EM *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.)  
Cabreria E *Schlechtendalia luzulaefolia* Less.  
(BARNADESIOIDEAE-ASTERACEAE)**

**Patrícia Kurtz da Costa**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM/RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Agrobiologia**

**Orientador: Prof. Dr. João Marcelo Santos de Oliveira**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2014**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Kurtz da Costa, Patrícia  
ASPECTOS DA ONTOGENIA, GINOSPOROGÊNESE E  
GINOGAMETOGÊNESE EM *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. e  
*Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabreira  
(BARNADESIOIDEAE - ASTERACEAE) / Patrícia Kurtz da Costa.-  
2014.  
124 p.; 30cm

Orientador: João Marcelo Santos de Oliveira  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2014

1. Barnadesioideae 2. Ginosporogênese 3. Ginogametogênese  
4. Rudimento Seminal 5. Desenvolvimento I. Santos de  
Oliveira, João Marcelo II. Título.

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

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**ASPECTOS DA ONTOGENIA, GINOSPOROGÊNESE E  
GINOGAMETOGÊNESE EM *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera  
E *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. (BARNADESIOIDEAE-  
ASTERACEAE)**

elaborada por  
**Patrícia Kurtz da Costa**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Agrobiologia**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

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

---

**Jorge Ernesto de Araújo Mariath, Dr. (UFRGS)**

---

**Daniela Guimaraes Simão, Dr<sup>a</sup> (UFSM)**

Santa Maria, 14 de março de 2014

*Dedico a meus pais, irmãos  
e a todos os admiradores da  
embriologia vegetal.*

## **AGRADECIMENTOS**

A minha família pelo apoio, incentivo, por estarem sempre ao meu lado e por compreenderem minha ausência durante estes dois anos.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Marcelo Santos de Oliveira por se dedicar a minha formação acadêmica, estando sempre disposto a ajudar, bem como pelas horas de estudo dispensadas, as quais foram fundamentais para a realização deste trabalho.

A Bruna Palese Thies Lopes pela amizade, ajuda nas coletas e confecção do material botânico, indispensável para a realização deste trabalho.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Botânica Estrutural César Carvalho de Freitas, Cristiele Spat, Mariane P. Dorneles, Marisa B. Abbad, Merielem Saldanha Martins, Jaqueline S. Sartori e Jordano Tavares pelo apoio, auxílio técnico, discussões acadêmicas, ajuda nas coletas do material botânico e pelo convívio diário.

A Prof. Dr. Thais Scotti do Canto-Dorow, pela identificação das espécies e por disponibilizar sua propriedade para as coletas do material botânico de uma das espécies do presente estudo.

A Prof. Dr. Solange Tedesco pelo auxílio na identificação das fases da prófase meiótica.

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal – IB/ UFRGS pelo auxílio na execução de rotinas laboratoriais para microscopia de fluorescência e microscopia eletrônica de varredura.

A Marília Kurtz Crema pela ajuda na confecção das tabelas e conferências das referências bibliográficas.

As minhas amigas e colegas de mestrado Ana Paula Cassol, Juliana Ferreira, Maria Carolina S. Figueiredo e Rosangela G. Nunes pelo companheirismo e apoio durante as aulas e incentivo e discussões acadêmicas.

A CAPES pelo apoio financeiro.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho o meu MUITO OBRIGADA.

"Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta."

(Chico Xavier)

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia  
Universidade Federal de Santa Maria

### ASPECTOS DA ONTOGENIA, GINOSPOROGÊNESE E GINOGAMETOGÊNESE EM *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera E *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. (BARNADESIOIDEAE-ASTERACEAE)

Autora: Patrícia Kurtz da Costa  
Orientador: Prof. Dr. João Marcelo Santos de Oliveira  
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 14 de março de 2014

Asteraceae despertou interesse de muitos embriologistas devido a grande variabilidade das características embriológicas. Apesar disso, nada é sabido sobre a embriologia nas espécies de Barnadesioideae, sua subfamília basal. Sendo assim este trabalho objetiva descrever os processos de ginosporogênese e ginogametogênese em duas espécies de Barnadesioideae, *Schlechtendalia luzulaefolia*, considerada basal e irmã das demais pertencentes a família, e *Dasyphyllum brasiliense* cujo o gênero por vezes também foi considerado basal. Ambas as espécies são nativas do Rio Grande do Sul. *S. luzulaefolia* foi coletada em São Pedro do Sul, RS, Brasil e *D. brasiliense* em Santa Maria, RS, Brasil e em São Pedro do Sul, RS, Brasil. A corola é o primeiro verticilo floral a surgir em ambas as espécies, seguida pelo androceu, cálice e gineceu em *S. luzulaefolia* e pelo cálice, androceu e gineceu em *D. brasiliense*. O rudimento seminal tenuinucelado incompleto, a presença de tegumento assimétrico e de endotélio de origem dupla (funicular e tegumentar) são resultados inéditos para Asteraceae. O arquespório é usualmente unicelular, mas rudimentos seminiais com duas células arquesporiais foram observados. Em *Schlechtendalia luzulaefolia* dois tipos de tétrade estão presentes, sendo a tétrade linear mais comum do que a tétrade com ginósporos pareados. O tipo de desenvolvimento do ginófito em *D. brasiliense* pode ser um indício de sua posição derivada para Barnadesioideae, já que possui ginófito bispórico do tipo *Allium* e em *S. luzulaefolia* o ginófito é monospórico do tipo *Polygonum*, integrando-se a estas características a simultaneidade dos ciclos mitóticos e da celularização do ginófito. O ginófito maduro é 4-celular, em ambas as espécies, devido degeneração das antípodas, o que pode configurar um caráter plesiomórfico para a família. As sinérgides estendem-se para o interior do canal micropilar e possuem um aparelho fibrilar de morfologia típica para Asteraceae. Somente em *S. luzulaefolia* foi observada a presença de parede labiríntica da célula média e espessamento de parede tipo flange em células do endotélio e canal micropilar. Portanto, neste trabalho foi possível identificar características comuns à *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense* que podem ser considerados basais para Asteraceae e diagnósticas para Barnadesioideae, bem como caracteres embriológicos que corroboram a posição derivada de *D. brasiliense* nesta subfamília.

**Palavras-chave:** Asteraceae. Barnadesioideae. Desenvolvimento. Ginosporogênese. Ginogametogênese. Rudimento Seminal.



## ABSTRACT

Master Course Dissertation  
Postgraduate Program in Agrobiologia  
Federal University of Santa Maria

### ASPECTS OF ONTOGENY, GINOSPOROGENESIS AND GINOGAMETOGENESIS IN *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera AND *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. (BARNADESIOIDEAE- ASTERACEAE)

Author: Patrícia Kurtz da Costa

Adviser: João Marcelo Santos de Oliveira

Defense Place and Date: Santa Maria, June 14th, 2014.

Asteraceae has attracted many embryologists because of its high variability of the embryological features. Nevertheless, nothing is known about the embryology of the species basal subfamily, Barnadesioideae. Thus, this paper aims to describe the processes of ginosporogenesis and ginogametogenesis in two species of Barnadesioideae, *Schlechtendalia luzulaefolia*, considered basal and sister to the other species that belong to family and *Dasyphyllum brasiliense* whose genus was also sometimes considered basal. Both species are native to Rio Grande do Sul. *S. luzulaefolia* was collected in São Pedro do Sul, RS, Brazil and *D. brasiliense* in Santa Maria, RS, Brazil and in São Pedro do Sul, RS, Brazil. The corolla is the first floral whorl to arise in both species, followed by the androecium, gynoecium and calyx in *S. luzulaefolia*; calyx, androecium and gynoecium in *D. brasiliense*. Tenuinucellate incomplete ovule, asymmetric integument and dual origin endothelium (funicule and integument) are new results for Asteraceae. The archesporium is usually unicellular, but ovules with two archesporial cells were observed. In *S. luzulaefolia* two types of tetrad are present, the linear tetrad being more common than the tetrad with paired ginospores. The ginophyte development pattern in *D. brasiliense* can be an indication of its derived position in Barnadesioideae, since it has bisporic ginophyte of the *Allium* type and in *S. luzulaefolia* where ginophyte is monosporic of the *Polygonum* type, integrating these features simultaneity of mitotic cycles and cellularization of ginófito. The mature ginophyte is 4-cell, in both species, because of the degeneration of the antipodes, which can configure a plesiomorphic character for the family. The synergids extend into the micropile canal and they have fibrillar apparatus of typical morphology for Asteraceae. Labyrinthine walls of the middle cell and flange type wall thickening are present only in *S. luzulaefolia* in cells of the endothelium and micropilar canal. Therefore, common characteristics were identified for *S. luzulaefolia* and *D. brasiliense* which may be considered basal for Asteraceae and diagnostic for Barnadesioideae, as well as embryological characters that corroborate the position derived from *D. brasiliense* in this subfamily.

**Key-words:** Asteraceae. Barnadesioideae. Development. Ginosporogenesis. Gametogenesis. Ovule.

## LISTA DE IMAGENS

Figura 1 - <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae). Aspecto geral do indivíduo a campo, inflorescência e flor.....	27
Figura 2 - <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Aspecto geral do indivíduo a campo, inflorescência e flor.....	28
Figura 3 - <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae). Organogênese floral.....	30
Figura 4 - <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae). Desenvolvimento inicial do rudimento seminal.....	31
Figura 5 - <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Organogênese floral e desenvolvimento inicial do rudimento seminal.....	32
Figura 6 - <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae). Estádio de célula arquesporial e formação do tegumento.....	34
Figura 7 - <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Estádio de célula arquesporial e formação do tegumento.....	35
Figura 8 - <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae). Estádio de célula-mãe de ginósporos.....	37
Figura 9 - <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Célula-mãe de ginósporos e ginospogênese.....	38
Figura 10 - <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae). Ginospogênese e ginogametogênese.....	40
Figura 11 - Representações esquemáticas demonstrando a formação do tegumento em <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae) e em <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae).....	41
Figura 12 - <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Ginósporo funcional e transição para a ginogametogênese.....	43
Figura 13 - <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Ginogametogênese, celularização e maturação celular.....	46
Figura 14 - <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae). Ginogametogênese, celularização e maturação celular.....	47
Figura 15 - <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Ginófito maduro.....	49
Figura 16 - <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae). Ginófito maduro.....	50
Figura 17 - PAS em rudimentos seminiais maduros de <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae) e de <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae).....	53
Figura 18 - <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Vermelho de rutênio e Azul de comassie.....	54
Figura 19 - <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Sudan Black B.....	55
Figura 20 - <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae). Sudan Black B.....	58
Figura 21 - <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae). Vermelho de rutênio e azul de comassie.....	59
Figura 22 - Obturador de <i>Schlechtendalia luzulaefolia</i> Less. (Asteraceae) e em <i>Dasyphyllum brasiliense</i> (Spreng.) Cabrera (Asteraceae).....	66

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação entre o comprimento, em centímetros, de botões florais e flores em antese com estádios de desenvolvimento embriológico para <i>S. luzulaefolia</i> e <i>D. brasiliense</i> .....	29
Tabela 2 - Testes histoquímicos.....	56
Tabela 3 - Organogênese floral, características do rudimento seminal e aspectos da ginosporogênese e Asteraceae.....	69
Tabela 4 - Padrão de desenvolvimento do ginófito e algumas características do ginófito maduro em Asteraceae.....	84
Tabela 5 - Características do endotélio em espécies de Asteraceae.....	102

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>A família asteraceae.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.1</b>	Aspectos taxonômicos.....	17
<b>2.1.2</b>	Aspectos econômicos.....	18
<b>2.1.3</b>	Micro-caracteres e filogenia de Asteraceae.....	19
<b>2.1.4</b>	Aspectos embriológicos.....	20
<b>2.2</b>	<b>A subfamília barnadesioideae.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3</b>	<b>Os gêneros <i>Schlechtendalia</i> e <i>Dasyphyllum</i>.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>23</b>
2.4.1	Objetivos específicos.....	23
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
<b>4.1</b>	<b>Características gerais.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2</b>	<b>Organogênese floral .....</b>	<b>29</b>
<b>4.3</b>	<b>Formação do primórdio de rudimento seminal e ginospogênese.....</b>	<b>33</b>
4.3.1	Formação do primórdio de rudimento seminal.....	33
4.3.2	Ginospogênese.....	33
<b>4.4</b>	<b>Formação e estrutura do tegumento.....</b>	<b>39</b>
<b>4.5</b>	<b>Estrutura do nucelo.....</b>	<b>42</b>
<b>4.6</b>	<b>Determinação do ginósporo funcional e transição para a gametogênese...</b>	<b>44</b>
<b>4.7</b>	<b>Ginogametogênese.....</b>	<b>44</b>
4.7.1	Celularização e maturação celular.....	48
4.7.2	Ginófito maduro.....	52
4.7.3	Célula média.....	57
4.7.4	Oosfera.....	60
4.7.5	Sinérgides.....	60
<b>4.8</b>	<b>Formação do endotélio.....</b>	<b>61</b>
<b>4.9</b>	<b>Canal micropilar e estruturas funiculares.....</b>	<b>63</b>
<b>4.10</b>	<b>Feixe vascular.....</b>	<b>65</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>67</b>
<b>5.1</b>	<b>Características gerais.....</b>	<b>67</b>
<b>5.2</b>	<b>Organogênese floral.....</b>	<b>67</b>
<b>5.3</b>	<b>Formação do primórdio de rudimento seminal e ginospogênese.....</b>	<b>68</b>
5.3.1	Formação do primórdio de rudimento seminal.....	68
5.3.2	Ginospogênese.....	76
<b>5.4</b>	<b>Formação e estrutura do tegumento.....</b>	<b>80</b>
<b>5.5</b>	<b>Estrutura do nucelo.....</b>	<b>81</b>
<b>5.6</b>	<b>Determinação do ginósporo funcional.....</b>	<b>82</b>
<b>5.7</b>	<b>Ginogametogênese.....</b>	<b>82</b>
5.7.1	Celularização e maturação celular.....	92
5.7.2	Antípodas.....	93
5.7.3	Ginófito maduro.....	95
5.7.4	Unidade germinativa feminina.....	96
5.7.4.1	Célula média.....	96
5.7.4.2	Oosfera.....	98

## SUMÁRIO

5.7.4.3	Sinérgides.....	99
5.8	Formação do endotélio.....	100
5.9	Canal micropilar e estruturas do funiculares.....	106
5.10	Feixe vascular.....	107
6	CONCLUSÕES.....	109
7	REFERÊNCIAS.....	111

## 1 INTRODUÇÃO

Muitos autores tentaram mostrar como os dados embriológicos podem ser usados em propostas taxonômicas para angiospermas (PALSER, 1975; HERR, 1984; TOBE, 1989; ENDRESS, 2011). Palser (1975) descreve os principais caracteres, bem como os estados de caráter, que podem ser utilizados pela taxonomia, sendo eles referentes a antera, pólen, rudimento seminal, fecundação e pós-fecundação e embriogenia. Neste trabalho a maior porção de caracteres é pertencente ao rudimento seminal, onde se pode citar o tipo de rudimento seminal, número de tegumentos, tegumentos que formam a micrópila, presença de tecido vascular, adjuntos do rudimento seminal (pre- ou pós-fecundação), espessamento e persistência do nucelo, presença e cobertura do endotélio. No contexto do processo reprodutivo foi relatado o número de células do arquespório, tipo de tétrade, posição do ginósporo funcional, tipo de desenvolvimento do ginófito, forma do ginófito maduro, características das sinérgides e antípodas, posição e fusão dos núcleos polares e presença de um haustório (PALSER, 1975). Herr (1984) descreve as mesmas características acima como de importância taxonômica, somando-se a elas a sincronia das divisões nucleares e plano de divisão dos núcleos, além de apontar o tipo de desenvolvimento do ginófito como o caráter mais apropriado para a taxonomia. Segundo Tobe (1989) os caracteres embriológicos nem sempre possuem o mesmo valor sistemático, este pode variar dependendo do táxon, bem como do nível taxonômico.

No contexto filogenético a importância dos caracteres morfológicos do rudimento seminal é bem demonstrada, como pode ser observado nos trabalhos com Rubiaceae, onde foi possível observar o desaparecimento do tegumento externo, a inclusão do nucelo na calaza, o achatamento do nucelo, a redução e o alongamento das células arquesporiais e a redução do número de camadas meristemáticas (MARIATH; COCUCCHI, 1997; DE TONI; MARIATH, 2008, 2010; FIGUEIREDO et al. 2013).

Asteraceae Bercht. & J. Presl é uma das famílias mais interessantes do ponto de vista embriológico devido à grande variedade que possui, principalmente quanto ao tipo de desenvolvimento do ginófito (PULLAIAH, 1984).

É a maior família dentre as angiospermas, com cerca de 10% de todas as plantas com flor, contendo cerca de 24.000 espécies, que se encontram agrupadas em 1600-1700 gêneros pertencentes à 43 tribos e 12 subfamílias (FUNK et al., 2009). Sua distribuição é cosmopolita, não ocorrendo apenas na Antártica, sendo amplamente distribuída nas regiões temperadas e

semi-áridas dos trópicos e subtropicos (FUNK et al., 2009). No Brasil estão presentes 278 gêneros e 2035 espécies, sendo que 1.311 espécies são endêmicas (NAKAJIMA et al., 2014). No Rio Grande do Sul são reconhecidas 555 espécies e 127 gêneros, distribuídos em 20 tribos (DEBLE; DEBLE, 2011).

A família caracteriza-se, principalmente, por possuir flores mais ou menos densamente agregadas em capítulos indeterminados, rodeados por um involúcro de brácteas (filárias), sépalas muito modificadas (pápus), cinco anteras conatas (JUDD et al., 2009), fruto do tipo cipsela (SPJUT, 1994) e sementes geralmente albuminosas, com tegumento fino ou papiráceo, multiplicativo ou não (CORNER, 1976). Asteraceae é ainda considerada como uma das famílias, juntamente com Poaceae e Rosaceae, em que a reprodução assexuada por apomixia ocorre com maior frequência, embora não seja descrito para Barnadesioideae (Benth. & Hook.) K. Bremer & R. K. Jansen (NOYES, 2007).

A subfamília Barnadesioideae é considerada o grupo basal e irmão dos demais táxons de Asteraceae (FUNK et al., 2009). Possui distribuição totalmente restrita a América do Sul e caracteriza-se por possuir espinhos axilares (EZCURRA, 1985), tricomas tricelulares unisseriados (“tricomas barnadesióides”) nas estruturas vegetativas e/ou reprodutivas (BREMER; JANSEN, 1992) e várias características do pólen (URTUBEY; TELLERIA, 1998). Essa subfamília compreende 91 espécies, entre árvores, arbustos, subarbustos e ervas anuais ou perenes, distribuídas em nove gêneros (FUNK et al., 2009). Quatro gêneros são monoespecíficos, *Duseniella* K. Schum., *Fulcaldea* Poir. Ex Lam., *Huarpea* Cabrera e *Schlechtendalia* Less. (STUESSY; URTUBEY, 2006). *Doniophyton* Weed. possui duas espécies (KATINAS; STUESSY, 1997), *Arnaldoa* Cabrera possui três espécies (STUESSY; SAGÁSTEGUI, 1993; ULLOA et al., 2002), *Barnadesia* Mutis ex L. f. compreende 19 espécies (CHUNG 1965; URTUBEY, 1999), *Chuquiraga* Juss. com 23 espécies (EZCURRA, 1985; HARLING, 1991; SAGÁSTEGUI; SÁNCHEZ, 1991; GRANDA, 1997) e *Dasyphyllum* Kunth possui 40 espécies (CABRERA, 1959; ZARDINI; SORIA, 1994), sendo, portanto, o gênero mais diverso de Barnadesioideae.

A subfamília Barnadesioideae recebeu pouca atenção em seus aspectos embriológicos, cabendo salientar que apenas a morfologia polínica possui literatura relevante (WODEHOUSE, 1935; PARRA; MARTICORENA, 1972; GAMERRO, 1985; HANSEN, 1991a; URTUBEY; TELLERÍA, 1998). De modo que existe pouca informação sobre o desenvolvimento inicial do rudimento seminal, formação do tegumento, formação dos ginósporos e desenvolvimento dos ginófitos no táxon.

Dentro de Barnadesioideae os gêneros *Dasyphyllum* e *Schlechtendalia* são considerados basais (STUESSY; SANG; DeVORE, 1996). *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. é popularmente conhecida como bolão-de-ouro, ocorre no Uruguai, nordeste da Argentina e sul do Brasil. No Rio Grande do Sul é encontrada na Depressão Central, Serra do Sudeste e Campanha (MONDIN; BAPTISTA, 1996). *Dasyphyllum* é exclusivo da América do Sul, assim como Barnadesioideae (CABRERA, 1959; FUNK et al., 2009). No Brasil ocorrem 23 espécies, sendo considerada a região de maior concentração de espécies do gênero em relação às demais localidades (CABRERA, 1959). O Rio Grande do Sul apresenta quatro espécies, *D. spinescens*, *D. synacanthum*, *D. tomentosum* e *D. brasiliense*, ambas com ampla distribuição pelo estado (CABRERA, 1959; MONDIN; BAPTISTA, 1996). *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera é conhecida popularmente como cipó-agulha ou sucará (CABRERA; KLEIN, 1973), ocorre no Paraguai, extremo norte da Argentina e no sul do Brasil (CABRERA, 1959). No Rio Grande do Sul é encontrada no Alto Uruguai, Depressão Central, Missões e Planalto Médio (MONDIN; BAPTISTA, 1996).

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 A família Asteraceae**

#### **2.1.1 Aspectos taxonômicos**

Asteraceae faz parte de um clado bem suportado de Asterales, o clado MGCA, onde também estão incluídas Menyanthaceae, Goodeniaceae e Calyceraceae (APG III, 2009), sendo que esta última possui relação mais próxima com as compostas, sendo considerado seu grupo irmão (LUNDBERG; BREMER, 2003).

Considera-se que a classificação de Asteraceae iniciou quando Cassini (1813a-c) apud FUNK et al. (2009) dividiu a família em 11 seções. Este mesmo autor, anos mais tarde Cassini (1819a) apud FUNK et al. (2009) delimita 20 tribos para família, sendo que muitas destas mantêm-se até hoje com as mesmas características (FUNK et al., 2009). Bentham (1873a) apud FUNK et al. (2009) reduziu o número de tribos para 13, tendo sido esta



classificação a mais usada por muitos anos para níveis supragenéricos (FUNK et al., 2009). Cabe salientar que os trabalhos foram desenvolvidos independentemente, mas várias das tribos de Bentham correspondem às de Cassini.

Já o agrupamento das tribos de Asteraceae em subfamílias é relativamente recente, sendo iniciado com Carlquist (1976) que definiu, com base na morfologia, duas subfamílias Cichorioideae e Asteroideae. Posteriormente Bremer e Jansen (1992) elevam a subtribo Barnadesiinae de Mutisieae, pertencente a Cichorioideae (CARLQUIST, 1976), ao nível de subfamília em função da origem monofilética e, principalmente, pela ausência de uma inversão de 22 Kb no DNA cloroplastidial, comum a todos os outros membros de Asteraceae (JANSEN; PALMER, 1987). Deste modo, a usual classificação de Carlquist foi expandida para englobar Barnadesioideae (BREMER; JANSEN, 1992). Dois anos depois Bremer (1994) realizou uma análise cladística de Asteraceae, conservando a divisão da mesma em três subfamílias (Barnadesioideae, Cichorioideae e Asteroideae), além de agrupar os gêneros em 17 tribos. Esse novo sistema de classificação foi considerado um marco na história das compostas e se tornou um sistema dito tradicional para o grupo (FUNK et al., 2009).

A classificação mais recente de Asteraceae é a de Funk et al. (2009) que divide a família em 43 tribos, reunidas em 12 subfamílias: Barnadesioideae (Benth. e Hook. f.) K. Bremer e R.K. Jansen, Mutisioideae (Cass.) Lindley, Stifftioideae Panero, Wunderlichioideae Panero e V. A. Funk, Gochnatioideae (Benth. e Hook. f.) Panero e V. A. Funk, Hecastocleidoideae Panero e V. A. Funk, Carduoideae Cass. ex Sweet, Gymnarrhenioideae Panero e Funk, Cichorioideae (Juss.) Chev., Pertyoideae Panero e V. A. Funk Corymbioideae Panero e V. A. Funk, Asteroideae (Cass.) Lindley. Cabendo salientar que a subfamília Barnadesioideae se manteve como basal neste novo sistema de classificação (FUNK et al., 2009).

### 2.1.2 Aspectos econômicos

Asteraceae possui muitos representantes de interesse econômico, sendo utilizados pelo homem na alimentação (*Cichorium* spp., *Cynara* spp. e *Lactuca* spp.), como especiaria (*Artemisia* spp.), na fabricação de óleos vegetais (*Helianthus annuus*), bebidas (*Artemisia absinthium* e *Matricaria* spp.), látex (*Parthenium argentatum*), corantes (*Carthamus tinctorius*) e inseticidas (*Tanacetum cinerariifolium* e *Pulicaria* spp.), como ornamentais

(*Chrysanthemum* spp., *Tagetes* spp. e *Gerbera* spp.) e como fitoterápicos ( *Artemisia* spp., *Mikania* spp., *Eremanthus erythropappus*, *Bidens pilosa*) (PASSONI et al., 2002; DEMPEWOLF et al., 2008; LORENZI e MATOS, 2008; FUNK et al., 2009, JUDD et al., 2009). Cabe salientar que muitas espécies possuem interesse agrônômico em função de serem consideradas invasoras de cultivos, podendo ser citadas *Chromolaena odorata*, *Chrysanthemum myconis*, *Emilia sonchifolia* e *Vernonia nudiflora* (LORENZI, 2000; FUNK et al., 2009).

### 2.1.3 Micro-caracteres dos órgãos reprodutivos e filogenia de Asteraceae

Com relação aos micro-caracteres dos órgãos reprodutivos utilizados na filogenia de Asteraceae podem ser citados para as anteras a base da teca, que em Asteroideae não possui “spurs” enquanto quase todos os membros de Cichorioideae e Mutisioideae são “spurred” e o padrão de espessamento do endotécio utilizado na taxonomia de Senecioneae (FUNK et al., 2009), além de glândulas nos estames observados em Heliantheae, Helenieae e em membros de Astereae e Vernonieae (KING, ROBINSON, 1970 apud Funk et al., 2009). Os grãos de pólen são altamente utilizados na filogenia da família. No gineceu apenas o estilete recebeu atenção, sendo que Asteroideae possui uma linha de separação lateral distinta, mas a superfície estigmática é contínua em Cichorioideae, Mutisioideae, Tussilagineae (Senecioneae) e Helianthinae (Heliantheae). A presença de tricomas na base do estilete é quase restrita a tribo Eupatorieae e, por isso, é um caracter que podem ser utilizado na taxonomia da família (ROBINSON, 2009). Nesse contexto a cipsela também recebe grande atenção, pois no pericarpo podem estar presentes fitomelaninas e ausentes as ráfides, o contrário também é encontrado na família (ROBINSON, 2009). Fitomelaninas são comuns em Eupatorieae (ROBINSON, 2009). Ainda em relação as cipselas, sua superfície frequentemente é coberta por tricomas e glândulas capitadas de haste curta (ROBINSON, 2009).

#### 2.1.4 Aspectos embriológicos

O androceu é pentâmero e sinântero, que acaba formando um tubo em torno do estilete. Os estames possuem antera e filete, sendo as anteras bitecadas e tetrasporangiadas. O androsporângio formado por uma única camada epidérmica, endotécio fibroso, camada média efêmera e tapete binucleado do tipo glandular ou periplasmodial, as tétrades de andrósporos podem ser tetraédricas, isobilaterais ou decussadas e os grãos de pólen tricolporados, espinescentes e tricelulares no momento da dispersão (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992).

Apenas um trabalho para a família, com *Prenanthes brunoniana*, aborda o desenvolvimento inicial do rudimento seminal, sendo ele trizonado, bem como é o único a demonstrar a origem do tegumento, oriundo das camadas dérmica e subdérmica, além da terceira camada (SOOD; THAKUR, 1985).

Para o gineceu é descrito um único rudimento seminal anátropo, unitegmentado e tenuinucleado, o endotélio pode ser uni, bi ou multisseriado, uni ou binucleado, podendo ainda ser poliploide (DESHPANDE, 1962a; PULLAIAH, 1978a). O arquespório é geralmente unicelular e funciona diretamente como célula mãe de ginósporo, as tétrades podem ser lineares ou em forma de “T”, o saco embrionário, ou ginófito, é do tipo “*Polygonum*” (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992), contudo o desenvolvimento do tipo bispórico foi relatado para *Ammobium alatum* R.Br. (DAVIS, 1962b), *Chrysanthemum* spp. (HARLING, 1951a) e *Erigeron* spp. (HARLING, 1951b) e o tipo tetraspórico para *Rudbeckia bicolor* Nutt. (MAHESHWARIE; SRIVIVASAN, 1944), *Sanvitalia procumbens* Lam. (HJLMQVIST; HOLMBERG, 1961), *Vernonia cinerascens* Sch. Bip. (TIAGI; TAIMANI, 1960) e espécies de *Chrysanthemum* e *Erigeron* (HARLING, 1951a, b). Além disso, mais de um tipo de desenvolvimento do saco embrionário pode estar presente na mesma espécie (HARLING, 1951b; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992).

A maioria das sinérgides apresenta forma de gancho e estão projetadas para o interior da micrópila, as antípodas exibem grande variação interespecífica e intraespecífica, podendo estar presentes duas ou três antípodas (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992), quando somente duas, uma é binucleada, como em *Siegesbeckia orientalis* L. (MISRA, 1965), a condição multinucleada também é comum (MAHESHWARI, 1963), algumas são poliploides (PULLAIAH, 1978a) e, ainda, outras sofrem multiplicação secundária (DAVIS, 1962).

Cabe salientar que os diferentes tipos de desenvolvimento do saco embrionário apresentados entre as espécies de *Chrysanthemum* foram caracteres taxonômicos satisfatórios em nível de subgênero (HARLING, 1951a), bem como as diferenças embriológicas apresentadas entre *Gundelia tournefortii* e *Platycarpha carlinoides* que levaram Ahlstrand (1979c) a sugerir que os gêneros não teriam íntimas relações filogenéticas. Essa condição foi confirmada anos depois, pois *Gundelia* passou a fazer parte da tribo Cichorieae e *Platycarpha* de Platycarpeae (FUNK et al., 2009).

## 2.2 Caracteres reprodutivos na subfamília Barnadesioideae

Com relação aos caracteres reprodutivos em Barnadesioideae já foram descritos aspectos morfológicos da corola (STUESSY; URTUBEY, 2006), do pápus (CABRERA, 1959; CABRERA, 1974; BREMER, 1994; COSTA; OLIVEIRA, 2011), do estilete (PESACRETA; STUESSY, 1996), do estigma (papiloso em quase todas as espécies) (TORRES; GALETTO, 2007; FUNK et al., 2009) e da cipsela (CABRERA, 1959; CABRERA, 1974; BREMER, 1994). No entanto, quanto aos aspectos embriológicos somente trabalhos sobre a morfologia polínica possuem literatura relevante (WODEHOUSE, 1928; GAMERRO, 1985; URTUBEY; TELLERÍA, 1998; ZHAO et al., 2000) e não há informações sobre o desenvolvimento do rudimento seminal, ginosporângio e ginófito na subfamília.

Cabe ressaltar ainda que apesar de Asteraceae ser considerada uma das famílias com maiores ocorrências de apomixia, não há relatos deste tipo de reprodução assexuada em Barnadesioideae.

## 2.3 Os gêneros *Schlechtendalia* e *Dasyphyllum*

Análises cladísticas apresentam hipóteses sobre as relações intergenéricas de Barnadesioideae, sendo os gêneros *Schlechtendalia* e *Dasyphyllum* apontados como basais no grupo (CABRERA, 1959; BREMER, 1994; STUESSY et al., 1996; GUSTAFSSON et al., 2001; FUNK et al., 2009) e, de maneira geral, *Schlechtendalia luzulaefolia* é considerada irmã de todas as Asteraceae (STUESSY et al., 1996; STUESSY; URTUBEY, 2006; FUNK et al.,

2009). Contudo para alguns autores, *Dasyphyllum* é o gênero mais derivado entre os demais de Barnadesioideae (URTUBEY; STUESSY, 2001; GRUENSTAEUDL et al., 2009).

*Schlechtendalia* é um gênero monotípico e endêmico do sul do Brasil (MONDIN; BAPTISTA, 1996). Importante enfatizar que *Schlechtendalia luzulaefolia* está sob ameaça de extinção (RIO GRANDE DO SUL, 2002). Caracteriza-se por possuir porte herbáceo e ereto, folhas lineares de nervação paralela, filotaxia oposta, capítulos rodeados por brácteas involucrais e dispostos em cimeiras terminais, suas flores são amarelas e monoclinas, pápus paleáceo, corola pentasecta pseudobilabiada, androceu constituído por cinco estames epipétalos, gineceu formado por ovário bicarpelar, sincárpico, unilocular e ínfero e cipselas turbinadas densamente pilosas (CABRERA, 1974). O embrião é classificado como axial, contínuo do tipo espatulado, com o eixo hipocótilo-radícula curto e cotilédones crassos, plano-convexos (MELLO; FIOR; OLIVEIRA, 2009).

*Dasyphyllum brasiliense* é nativo do Rio Grande do Sul (CABRERA, 1959), utilizado na medicina popular para o tratamento de doenças bucais e de orofaringe na forma de chá, preparado a partir de folhas e espinhos, sendo sua atividade anti-inflamatória considerada significativa por Castelucci et al. (2007). Caracteriza-se por ser um arbusto sarmentoso com aspecto de liana, ramos jovens também tomentosos, sendo os velhos acinzentados e glabros. Apresenta espinhos axilares geminados, curtos ou curvos, ou alongados e retos, às vezes caducos, as folhas são subcoriáceas, curtamente pecioladas, elípticas ou obovadas, geralmente obtusas no ápice, ligeiramente apiculadas, arredondadas ou pouco atenuadas na base, sendo trinervadas, glabras em ambas as faces ou com alguns tricomas procumbentes. Os capítulos são muito numerosos, curtamente pedicelados, dispostos em panículas muito ramificadas, definidas e terminais, os pedicelos são tomentosos, cujo invólucro é turbinado, com brácteas glabrescentes, ciliadas, sendo as exteriores e médias mucronadas. O pápus é plumoso, a corola é pentasecta com uma ou mais incisões mais profundas do que as demais. As flores são brancas, amarelas ou pardo-violáceas ao secar, monoclinas ou pistiladas por atrofia do androceu e as cipselas são veludas (CABRERA, 1959; CABRERA; KLEIN, 1973). O embrião é classificado como cotiledonar, axial e contínuo do tipo espatulado, a radícula é relativamente curta e ínfera, os cotilédones são plano-convexos e justapostos e o endosperma é representado na maturidade da semente como uma única camada celular (COSTA; OLIVEIRA, 2011).

Costa e Oliveira (2011) e Mello, Fior e Oliveira (2009) descreveram a morfologia interna da cipselas maduras de *Dasyphyllum brasiliense* e *Schlechtendalia luzulaefolia*, respectivamente, cabendo salientar que em ambas foram observados caracteres que podem vir

a ser considerados basais para a família como pericarpo e tegumento seminal parenquimáticos e semente exalbuminada.

## 2.4 Objetivo geral

Analisar e caracterizar a ontogenia do rudimento seminal, a ginosporogênese e a ginogametogênese de *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. e *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera para contribuir com características morfológicas que sejam úteis nas análises taxonômicas e sistemáticas de Asteraceae.

### 2.4.1 Objetivos específicos

- Descrever a origem do rudimento seminal;
- Caracterizar a morfologia do rudimento seminal;
- Descrever as características cito-histológicas da formação do tegumento;
- Análisar a meiose e o padrão de organização dos ginósporos;
- Caracterizar a diferenciação do ginófito bem como caracterização do ginófito maduro;
- Análise comparada dos objetivos descritos acima entre *Dasyphyllum brasiliense* e *Schlechtendalia luzulaefolia*.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O processamento e a análise do material foram realizados no Laboratório de Botânica Estrutural do Departamento de Biologia, CCNE/ UFSM. O material botânico de *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. foi coletado no município de São Pedro do Sul, RS, Brasil, nas coordenadas geográficas 29° 35' 22,2'' S e 54° 49' 49,4'' W. O material botânico de *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng) Cabrera foi coletado no município de São Pedro do Sul, RS, nas coordenadas geográficas 29° 35' 08,4'' S e 54° 18' 52,8'' W e na localidade de Boca do Monte, no município de Santa Maria, RS, nas coordenadas geográficas 29° 38' 33,2'' S e 53° 54' 22,4'' W.

Inflorescências com botões florais em diversos estádios de desenvolvimento foram coletados e fotomicrografados em microscópio estereoscópico Leica M80 com sistema de captura digital de imagem DFC 295.

Para a análise em Microscopia de luz o material foi fixado em glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 (GABRIEL, 1982; MCDOWELL; TRUMP, 1976), no qual foi adicionado Tween20 2ml/L (FREUDENSTEIN; HARRIS; RASMUSSEN, 2002). Após a fixação o material foi submetido ao vácuo, seguido de lavagem em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 (GABRIEL, 1982) e desidratado em série etílica. Posteriormente à desidratação, o material foi submetido a soluções de clorofórmio e etanol absoluto (1:3, 1:1, 3:1, 1:1 e 1:3), finalizando a desidratação com uma etapa de etanol absoluto. O material foi pré-infiltrado com uma solução de hidroxietilmetacrilato (GERRITS; SMID, 1983) e etanol absoluto durante o período de 12h, seguido de infiltração em hidroxietilmetacrilato por cerca de 4h e emblocado com esta resina em suporte de Teflon até sua polimerização (GERRITS; SMID, 1983).

As seções realizadas variaram de 2 a 5µm de espessura, feitas em micrótomo de rotação Leica RM2245. Estas foram coradas com Azul de Toluidina O 0,05% pH 4.4 em tampão de benzoato de sódio (FEDER, O'BRIEN, 1968). As lâminas histológicas foram analisadas em microscópio Leica DM2000 com sistema de captura digital de imagem DFC 295.

Para a realização dos testes histoquímicos, as seguintes técnicas foram utilizadas: ácido periódico-Reativo de Schiff (PAS), para polissacarídeos totais (O'BRIEN; MCCULLY, 1981); vermelho de rutênio para mucopolissacarídeos ácidos e ácidos pécnicos (JENSEN, 1962); Sudan

Black B, para a localização de lipídios (SASS, 1951) e Coomassie Blue 0.1%, para compostos proteicos (HESLOP-HARRISON et al., 1973).

Para a análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) o material foi processado conforme Gersterberger e Leins (1978) e submetido à secagem através de ponto crítico com o uso do equipamento BAL-TEC, CPD 030, no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CME/UFRGS). Em seguida, as amostras foram montadas em suportes de alumínio e recobertas com ouro no aparelho metalizador BAL-TEC, SCD 050. A análise e as eletromicrografias foram realizadas em microscópio JEOL 6060, sob 20kV (CME/UFRGS).



## 4 RESULTADOS

### 4.1 Características gerais

*Sclechtendalia luzulaefolia* possui porte herbáceo e as folhas são rosuladas e eretas (Figura 1A). As inflorescências são compostas, cuja estrutura primária é cimosa, sendo os ramos laterais encimados por capítulos homogâmicos (Figura 1A, B, C), e envoltos por brácteas involucrais quando imaturas (Figura 1B), as quais permanecem na base da inflorescência na antese (Figura 1B, C). As flores são tubulares (Figuras 1B, C, D), o pápus é do tipo cerdoso, a corola apresenta coloração amarelada (Figuras 1B-D), o androceu é sinântero e extrorso (Figura 1D), e o ovário é recoberto por tricomas tectores (Figura 1D).

*Dasyphyllum brasiliense* possui porte arbustivo (Figura 2A), mas seu aspecto é de liana. As inflorescências são compostas, sendo a estrutura primária paniculada, cujos ramos secundários possuem um capítulo terminal (Figura 1B). Os capítulos são envoltos por brácteas involucrais (Figura 2B) e são homogâmicos, compreendendo apenas flores tubulares (Figuras 2B, 2C). A corola possui coloração amarelo-claro e o pápus é do tipo plumoso (Figura 2D).

O ovário em *Sclechtendalia luzulaefolia* e em *Dasyphyllum brasiliense* é ínfero, bicarpelar, gamocarpelar e unilocular, ambos contêm um único rudimento seminal anátropo e unitegumentado (Figuras 1E, 2E) de placentação basal. Cabe salientar que em duas flores do mesmo indivíduo, mas de inflorescências diferentes de *D. brasiliense*, foram observados dois rudimentos seminiais em um mesmo lóculo (Figura 7A), ambos compartilhando de mesma região de inserção ovariana. Tais rudimentos seminiais encontravam-se em estágio de célula arquesporrial.

Os diferentes estádios de desenvolvimento embriológico foram correlacionados ao comprimento de botões florais e flores de ambas as espécies (Tabela 1).

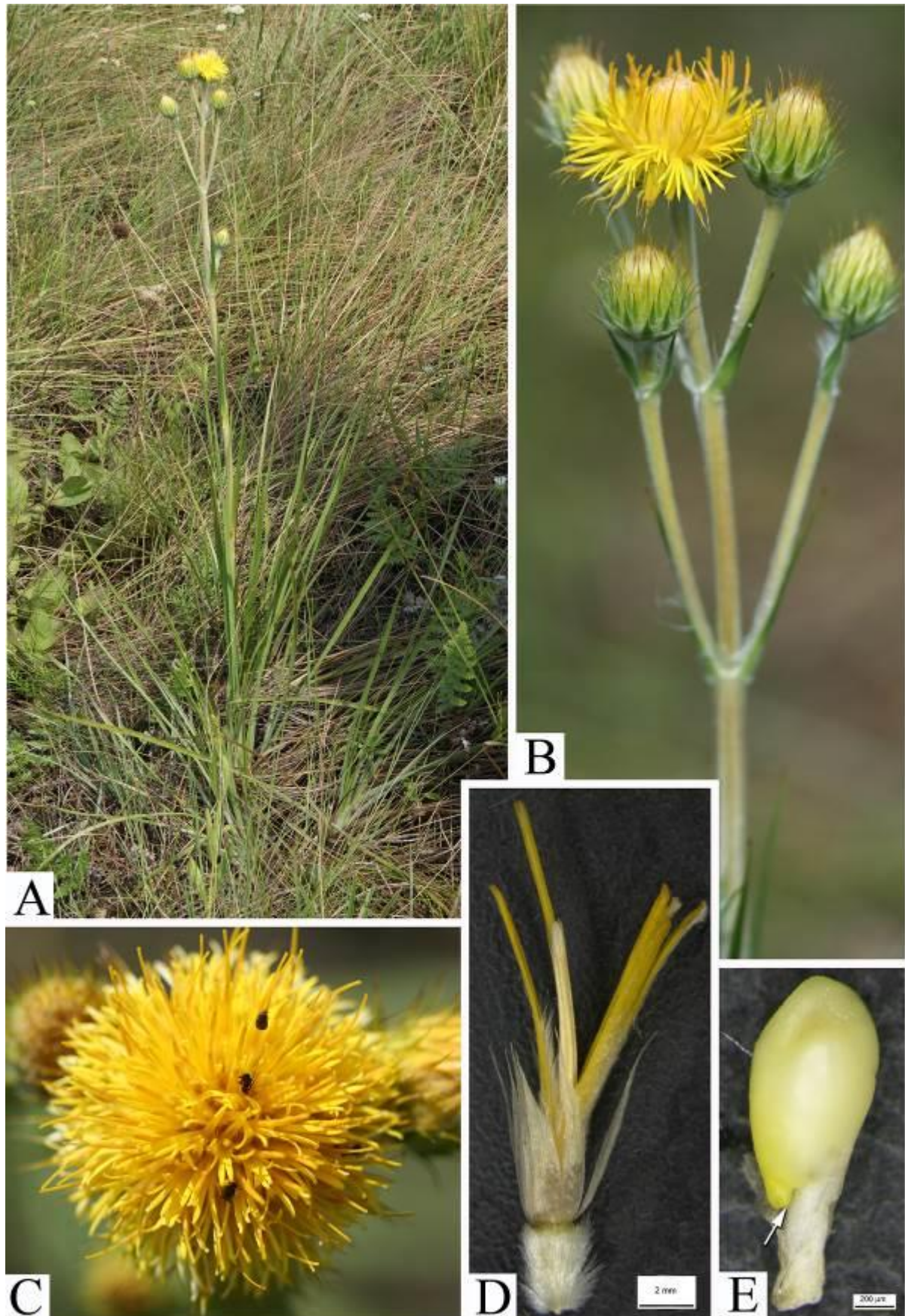


Figura 1 - *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). A. Aspecto geral do indivíduo a campo. B. Inflorescência composta, com estrutura primária rimosa e ramos laterais encimados por capitulos. C. Detalhe do capitulo homogâmico. D. Detalhe de flor tubular de ovário infero. E. Detalhe do rudimento seminal em estereomicroscópio. Seta: micrópila.

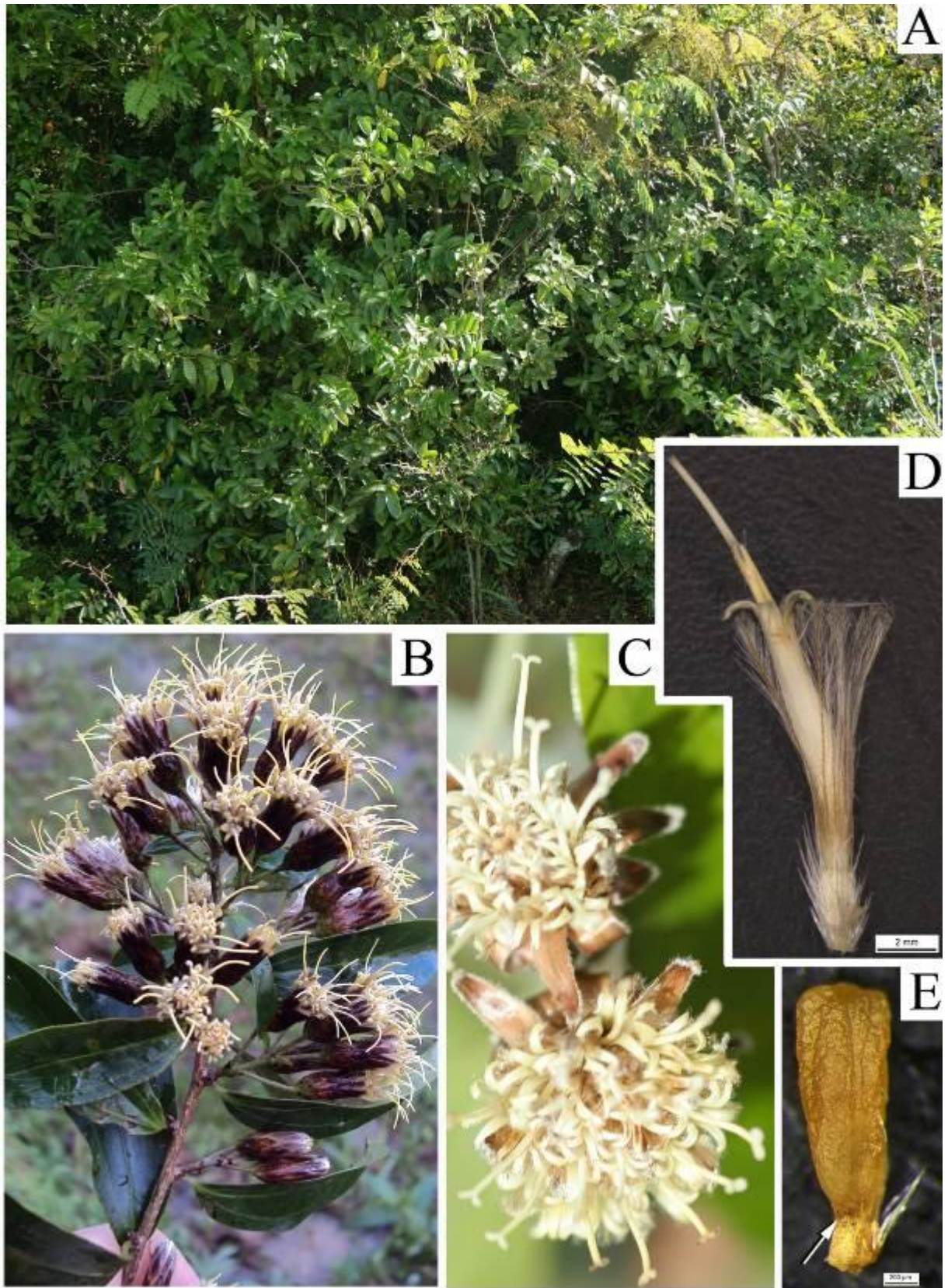


Figura 2 - *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). A. Aspecto geral do indivíduo a campo. B. Inflorescência composta, com estrutura primária paniculada e ramos laterais encimados por capitulos. C. Detalhe do capitulo homogâmico. D. Detalhe de flor tubular de ovário infero. E. Detalhe do rudimento seminal, já fixado, em estereomicroscópio. Seta: micrópila.

**Tabela 1** - Relação entre o comprimento, em centímetros, de botões florais e flores em antese com estádios de desenvolvimento embriológico para *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense*.

Estádio do desenvolvimento	Comprimento (cm)	
	<i>S. luzulaefolia</i>	<i>D. brasiliense</i>
CA	0,55	0,12
CMG	0,72 – 0,9	0,4 – 0,45
Díade		0,42 – 0,51
Tecido esporofítico (Tétrade)	1,1	0,42 – 0,51 Ginósporos binucleados
Ginósporo funcional	1,27	0,55 – 0,65
Ginófito uninucleado	1,27	-----
Ginófito binucleado		0,7
Ginófito trinucleado	1,25 – 1,35	-----
Ginófito tetranucleado	1,44	
Ginófito octonucleado	1,46	0,8
Ginófito maduro	1,5 - 1,515	

CA: célula arquesporrial; CMG: célula-mãe de ginósporos.

## 4.2 Organogênese floral

Em *S. luzulaefolia* o primeiro verticilo floral a surgir é a corola, seguida por androceu (Figura 3A), cálice (pápus) (Figura 3B) e gineceu (Figura 3C, 4A).

Em *D. brasiliense* a ordem de formação das peças florais difere, sendo iniciada pela corola e seguida pelo cálice (pápus) (Figura 5B), androceu e gineceu (Figura 5A).

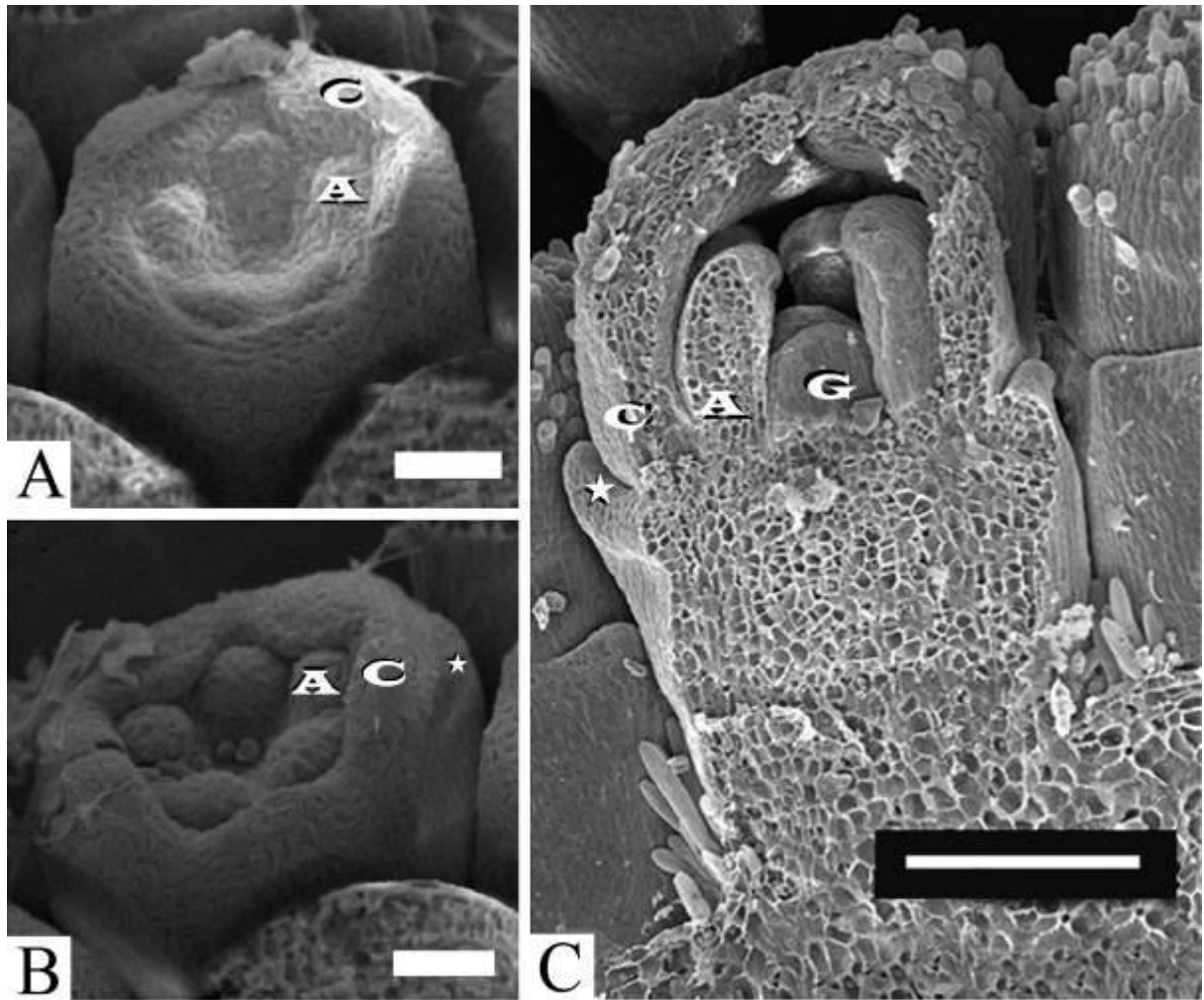


Figura 3 - *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). A-C. Microscopia eletrônica de varredura, organogênese floral. A. Início da formação da corola (C) e androceu (A), o pápus e o gineceu não originados. B. Início da formação do pápus (estrela), gineceu ainda não originado. C. Flor seccionada longitudinalmente, corola fechada e gineceu (G) em formação. Barras: A-B: 100  $\mu\text{m}$ , C: 200  $\mu\text{m}$ .

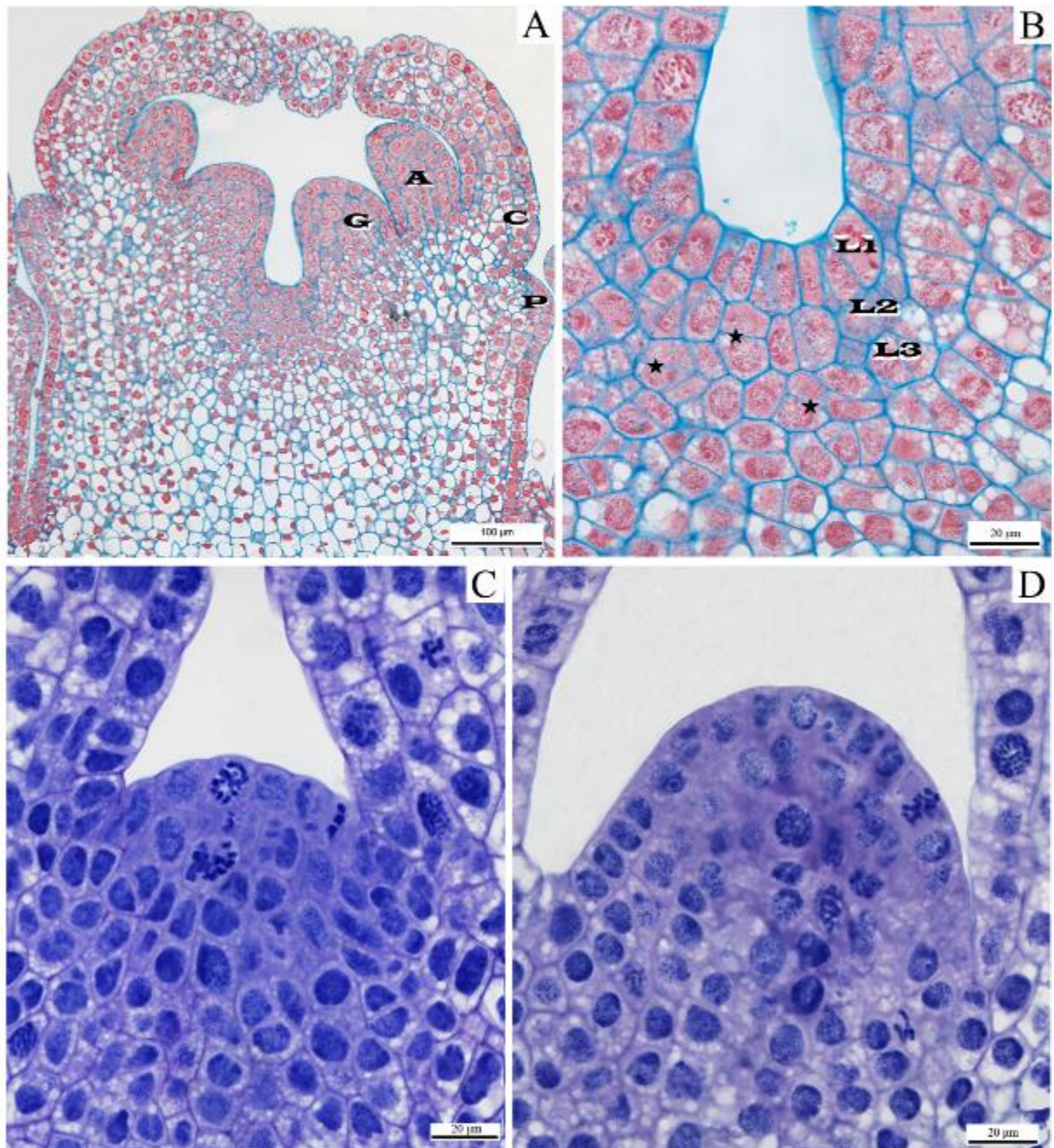


Figura 4 - *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). A-D. Microscopia de luz, desenvolvimento inicial do rudimento seminal. A. Vista geral do botão floral em seção longitudinal. B. Detalhe da região placentária com camada dérmica (L1), subdérmica (L2) e camada central (L3), nas duas últimas ocorrem divisões periclinais (estrela). C. Primórdio de rudimento seminal em forma de domo. D. Rudimento seminal em início de alongamento. C: corola. E. estame. P. Pápus. G. Gineceu.

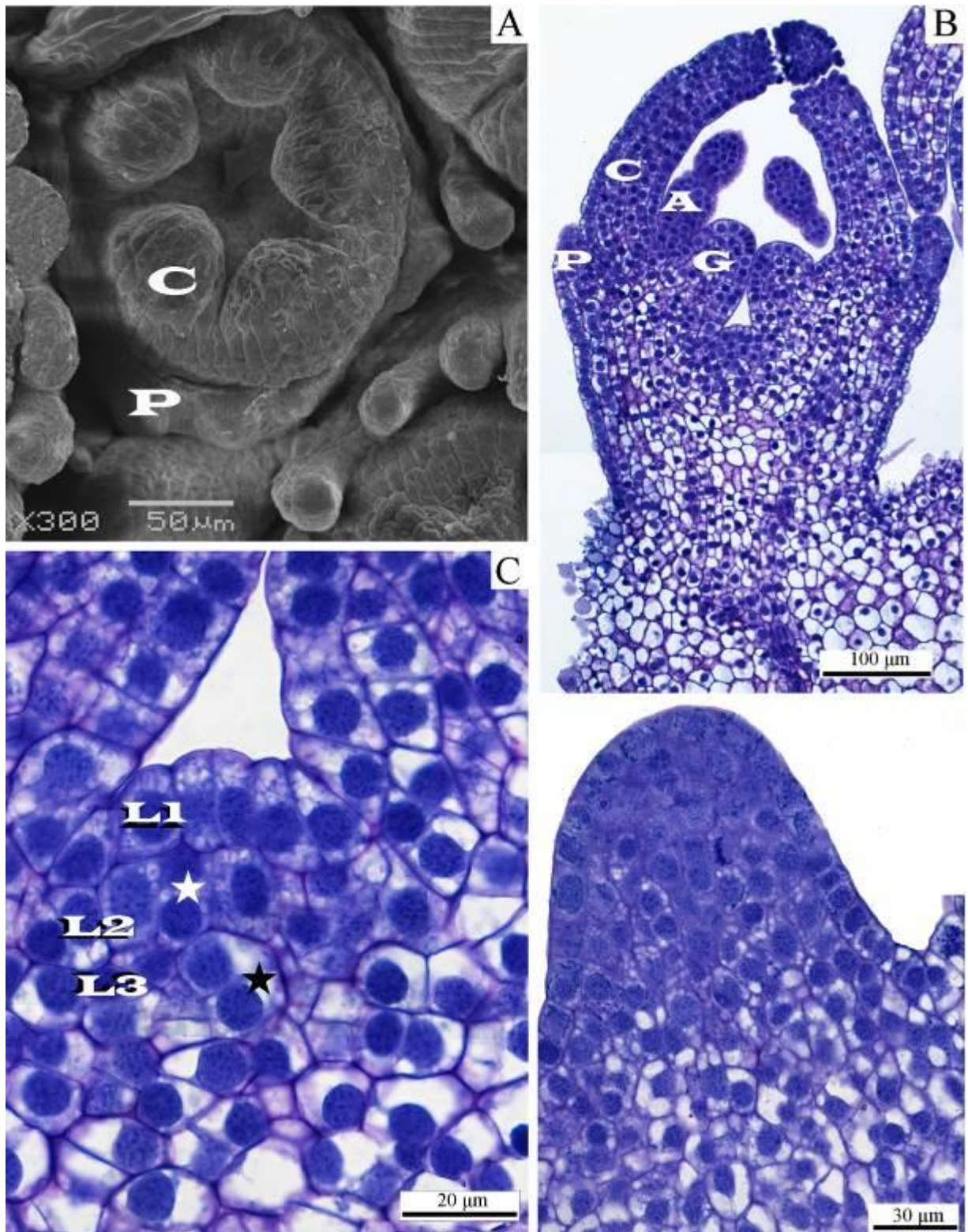


Figura 5 - *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Organogênese floral e início da formação do rudimento seminal. A. Microscopia eletrônica de varredura. B-D. Microscopia de luz, secções longitudinais. A. Início da formação da corola (C) e pápus (P), androceu e gineceu ausentes. B. Visão geral do botão floral, corola (C), pápus (P), androceu (A) e gineceu (G). C. Detalhe da região placentária, com camadas dérmica (L1), subdérmica (L2) e camada central (L3), onde são observadas divisões periclinais nas camadas L2 e L3 (estrela). D. Rudimento seminal em início de alongamento.

### 4.3 Formação do primórdio de rudimento seminal e ginosporogênese

#### 4.3.1 Formação do primórdio de rudimento seminal

Os rudimentos seminais de ambas as espécies surgem a partir de uma massa celular com características meristemáticas (Figuras 4A, 5B). Tais células são discerníveis das demais por não apresentarem vacuolação e por possuírem volume celular relativamente menor, a exceção da camada L1 que apresenta alongamento anticlinal (Figuras 4 B, 5B).

Em *S. luzulaefolia* e em *D. brasiliense* foram observadas divisões periclinais na camada subdérmica (L<sub>2</sub>) e na terceira camada (L<sub>3</sub>). A camada dérmica divide-se apenas anticlinalmente (Figura 4B, 5C). Tais divisões formam um primórdio de rudimento seminal inicialmente em domo (Figura 4C) e posteriormente alongado axialmente (Figuras 4D, 5D).

No momento de estabelecimento da célula arquesporial percebe-se início da curvatura do rudimento seminal (Figura 7B), em decorrência do maior alongamento no sentido axial das células da face convexa em relação às células da face côncava (Figura 7B). Posteriormente a assimetria no crescimento é mantida e, conseqüentemente, o rudimento seminal encontra-se hemítropo (Figuras 6A,B, 7C), sendo esta característica do desenvolvimento mais proeminente no momento em que tegumento inicia a cobertura nucelar (Figuras 6C, 7E). Nesse período também é possível observar que a epiderme funicular da face côncava apresenta seqüência de divisões celulares não seguidas de crescimento, de modo que as paredes tangenciais apresentam-se curtas em relação às radiais (Figuras 6C, D, 7D). Este alongamento radial será mantido no decorrer do desenvolvimento, bem como potencializado no grupo de células que ficará em contato com o nucelo e nas células que se diferenciarão em obturador.

#### 4.3.2 Ginosporogênese

Em *D. brasiliense* foi possível observar o estabelecimento da célula arquesporial no momento em que ocorrem as primeiras divisões celulares para a formação do tegumento (Figura 7B). Tal célula possui localização no ápice nucelar, é maior em relação as demais



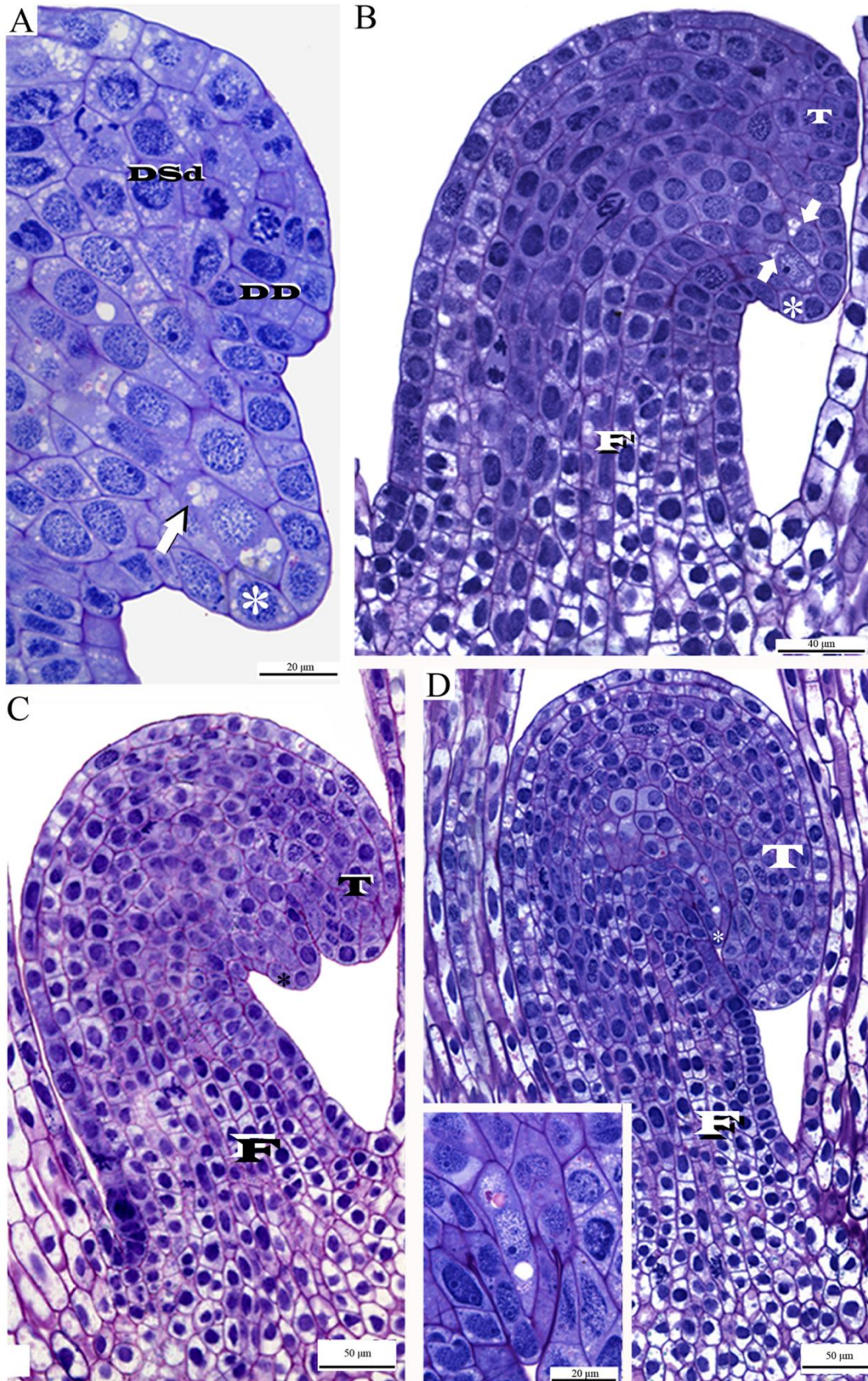


Figura 6 - *Slechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). A-D. Microscopia de luz, estágio de célula arquesporial e formação do tegumento. A, B. Origem dérmica e subdérmica do tegumento. C. Início da cobertura nucelar pelo tegumento. D. Rudimento anátropo com tegumento cobrindo o nucelo, detalhe: célula arquesporial em intérfase. [DSd: derivadas subdérmicas, DD: Derivadas dérmicas, F: funículo, T: tegumento, Setas: células arquesporiais, Asterisco: epiderme nucelar.]

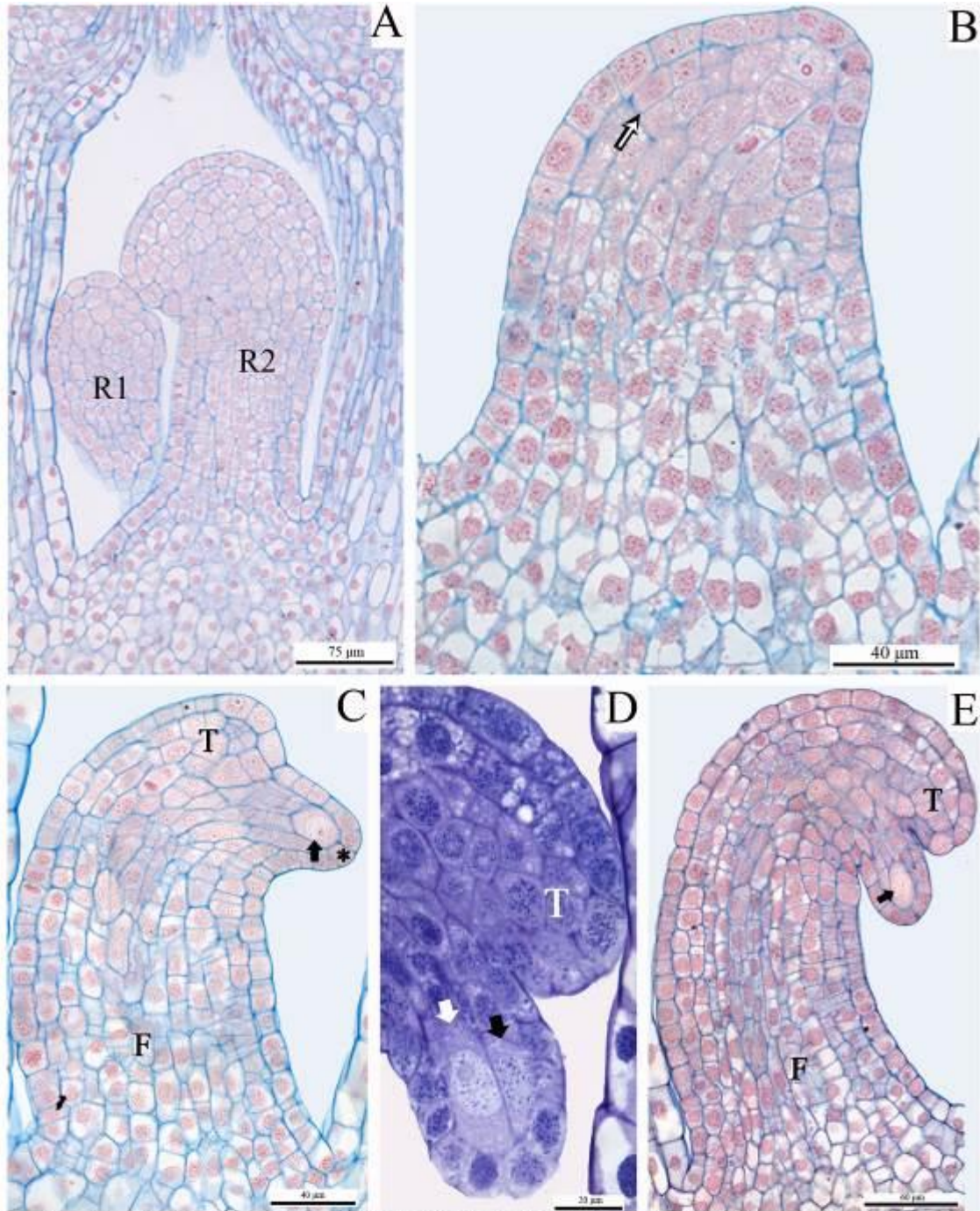


Figura 7 - *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). A-E. Microscopia de luz, estágio de célula arquesporial e formação do tegumento. A. Ovário com dois rudimentos seminiais (R1 e R2). B. Rudimento seminal no momento de determinação da célula arquesporial e primeiras divisões periclinais da camada subdérmica para formação do tegumento (seta branca). C. Rudimento seminal com uma única célula arquesporial. D. Rudimento seminal com duas células arquesporiais. E. Início da cobertura nucelar pelo tegumento. [F: funículo, T: tegumento, setas pretas: células arquesporiais, asterisco: epiderme nucelar]

células e possui pequenos vacúolos dispersos, citoplasma denso e um núcleo proeminente, assim como o nucléolo que possui vacúolos nucleolares (Figura 7B). Posteriormente a célula arquesporial alonga-se, o nucléolo perde a vacuolação nucleolar, os vacúolos do citoplasma não se fazem mais presentes e observa-se uma estrutura em clava no ápice calazal da célula, mas as demais características são mantidas (Figura 7C-E). Tais características celulares indicam diferenciação celular pré-meiótica (PCD), típicas das células arquesporais (CA) ou arquespório.

Nos rudimentos seminiais de *S. luzulaefolia* e de *D. brasiliense* uma ou raramente duas células arquesporais podem ser observadas (Figuras 6A, B, 7B-E). A CA de *S. luzulaefolia* possui vários pequenos vacúolos de conteúdo péctico em suas extremidades celulares (Figuras 6A, B), sendo ausentes em *D. brasiliense* (Figuras 7B-D).

Em *S. luzulaefolia* e em *D. brasiliense* uma única CA alonga-se, no sentido anticlinal, e passa a funcionar diretamente como célula-mãe de ginósporos (CMG) (Figuras 8A-G, 9A-C, F). Contudo, somente em *D. brasiliense*, quando presentes duas CA, ambas podem funcionar como CMG (Figura 9E).

A CMG de *D. brasiliense* não apresenta vacúolos (Figuras 9A-C, F), diferente da CMG de *S. luzulaefolia*, que possui vacúolos dispersos com conteúdo péctico (Figuras 8A, C, F). O plasma da CMG desta espécie na região antes compreendida pelo núcleo possui polissacarídeos dissolvidos (Figuras 7A, C, F).

Durante a prófase o núcleo da célula-mãe de ginósporos de *D. brasiliense* apresenta leve deslocamento em direção a micrópila (Figuras 9A, C, F). Quando duas CMG estão presentes uma possui núcleo micropilar e a outra calazal (Figura 9E). Em *S. luzulaefolia* o núcleo permanece central (Figuras 8A-G).

Cabe salientar que em fases iniciais da prófase meiótica da CMG de *S. luzulaefolia* o ápice tegumentar alcança a região placentária (Figura 8B). Enquanto em *D. brasiliense* o tegumento atinge esta região apenas no estágio de ginósporo funcional (Figura 12C).

Ao final da meiose I em *S. luzulaefolia*, ocorre formação de parede celular no sentido transversal, formando a díade de ginósporos (Figura 10A). Cabe salientar que a derivada calazal herda um volume citoplasmático um pouco maior (Figuras 10A, B). Após a meiose II uma tétrade de ginósporos é formada, tendo os ginósporos derivados volumes distintos, dentre os quais o calazal é maior (Figura 10C, D). Geralmente a tétrade formada é linear (Figura 10C), contudo tétrades com os dois esporos centrais posicionados lado a lado (tétrade pareada) também foram observadas (Figura 10D). O citoplasma dos ginósporos conserva a densidade observada na CMG, bem como os vacúolos dispersos pelo citoplasma que

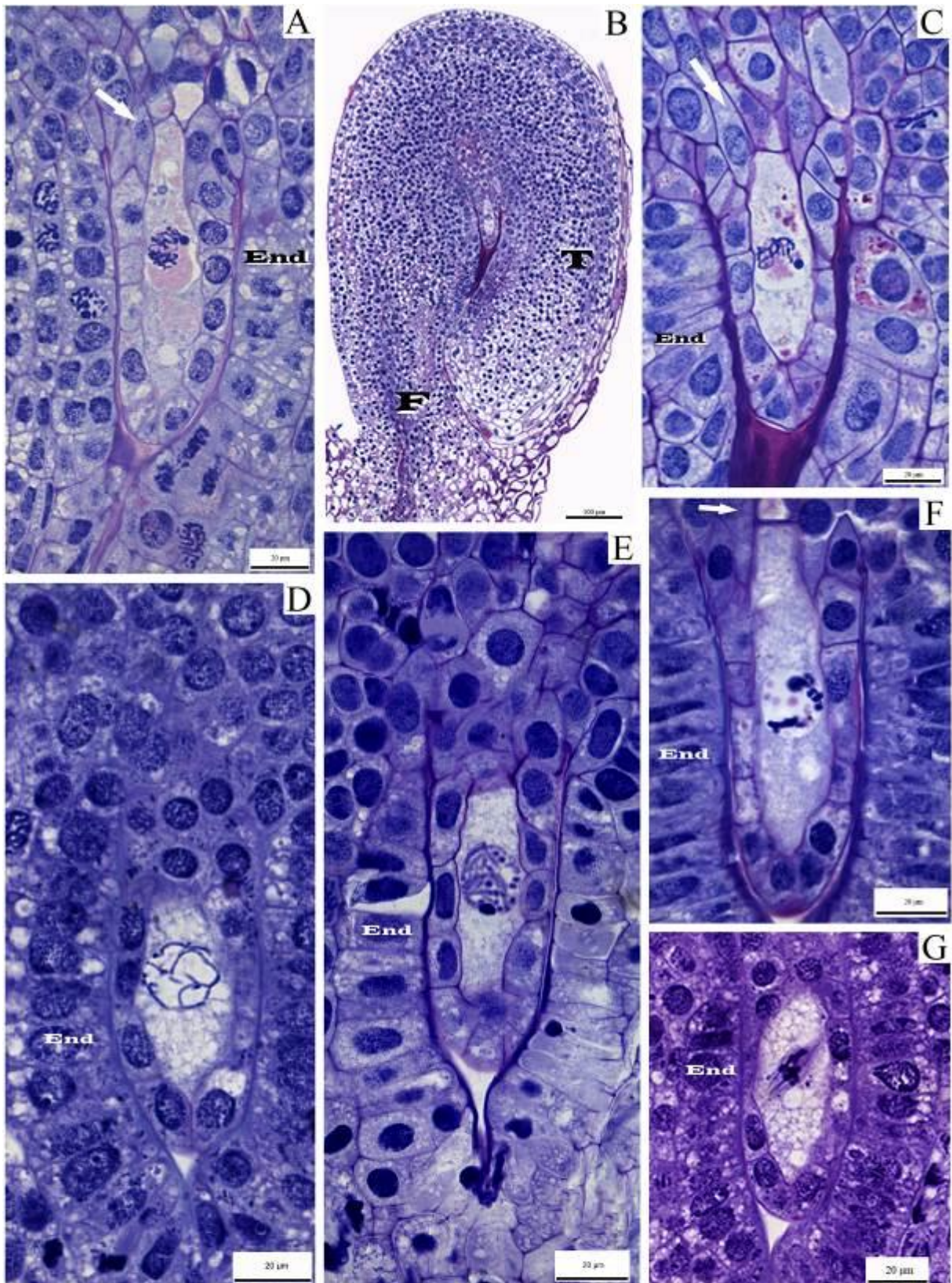


Figura 8 - *Slechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). A-G. Microscopia de luz, estágio de célula-mãe de ginósporos (CMG). A-C. CMG em início da prófase meiótica e início da formação do endotélio (End). A. Células nucleares (seta branca), endotélio em início de diferenciação. B. Rudimento seminal anátropo com tegumento próximo a placenta. C. CMG ainda no início da prófase, células endoteliais com alongamento mais pronunciado. D. Célula-mãe de ginósporos no leptóteno da prófase I. E. Célula-mãe de ginósporos no zigóteno da prófase I. F. Célula-mãe de ginósporos no paquíteno da prófase I. G. Célula-mãe de ginósporos em metáfase.

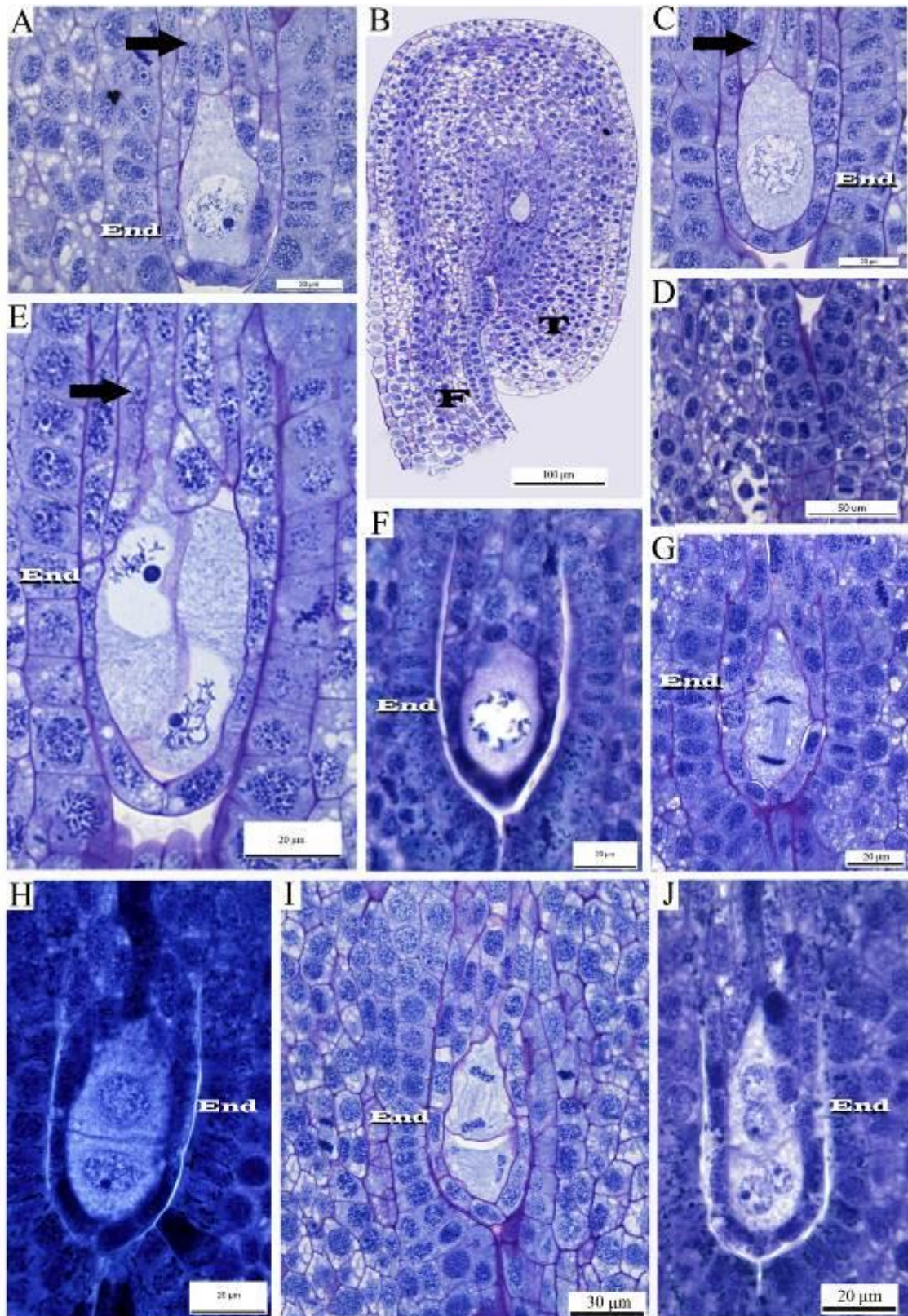


Figura 9 - *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). A-K. Microscopia de luz, célula-mãe de ginósporos (CMG) e ginósporigênese. A-C. CMG em fases iniciais da prófase I e início da formação do endotélio (End). A. Células nucleares (seta preta), endotélio em início de diferenciação. B. Rudimento seminal anátropo, tegumento ainda não atingiu a região placentária. C. Células nucleares (seta preta), endotélio em início de diferenciação. D. Células tegumentares e funiculares presentes entre o nucelo e o obturador no CMG. E. Duas CMG em um mesmo nucelo. F. CMG em fases finais da prófase I. G. CMG em anáfase. H. Diade de ginósporos. I. Ginósporos da diade em anáfase II. J. Cenócitos binucleados. [Seta: células nucleares, F: Funiculo, T: Tegumento]

umentam em quantidade no momento em que se determina o ginósporo funcional (Figura 10E).

O ginósporo calazal é o funcional (Figura 10E), os micropilares degeneram a medida que este cresce (Figuras 10F, G). O ginósporo funcional decorrente da tétrade pareada não foi observado.

Em *Dasyphyllum brasiliense* a meiose I é acompanhada pela citocinese e resulta em uma díade de ginósporos (Figuras 9G, H), já a meiose II não é acompanhada pela formação da parede celular, assim, resulta em uma díade de ginósporos binucleados (Figuras 9I, J). O citoplasma dos ginósporos é menos denso em relação as células nucelares e vacúolos não se fazem presentes. O ginósporo calazal (GC) possui seus núcleos alinhados, enquanto o ginósporo micropilar possui núcleos pareados (Figura 9J).

#### 4.4 Formação e estrutura do tegumento

Em ambas as espécies o tegumento inicia o desenvolvimento concomitante com o estabelecimento da célula arquesporrial (Figuras 6A, B, 7B-E, 11). As divisões periclinais que resultam na formação desta estrutura foram observadas apenas no lado convexo subterminal do rudimento seminal, gerando uma estrutura assimétrica (Figuras 6A, B, 7B-E, 11). Divisões periclinais para a formação do tegumento em *S. luzulaefolia* ocorrem nas camadas L1 e L2 (Figuras 6A, B, 11), já em *D. brasiliense* tais divisões periclinais ocorrem apenas na camada L2 (Figuras 7B-E, 11), fazendo com que a L1 apenas acompanhasse o crescimento da L2.

Em *S. luzulaefolia* a camada dérmica participa da origem tegumentar com divisões periclinais, sendo que suas derivadas, incluindo a camada mais externa irão contribuir com a formação do ápice do tegumento (Figuras 6A-D, 8B). As derivadas internas passam a contribuir com o alongamento tegumentar através de eventos de crescimento e divisão celulares (Figura 8B, 11). Durante este mesmo período são observadas divisões periclinais nas células protodérmicas da porção basal do tegumento que ficam voltadas para o nucelo (Figuras 6C, D). A derivada externa irá compor, inicialmente, a epiderme propriamente dita, e as derivadas internas sofrem mais divisões periclinais, contribuindo com o espessamento tegumentar (Figuras 8B). Ressalta-se que nesta espécie é possível identificar a contribuição da camada subdérmica, e de suas derivadas, para o alongamento e espessura do tegumento, sendo que tal grupo celular compõe, principalmente, a porção basal do tegumento (Figuras 6D, 11A-C). Em

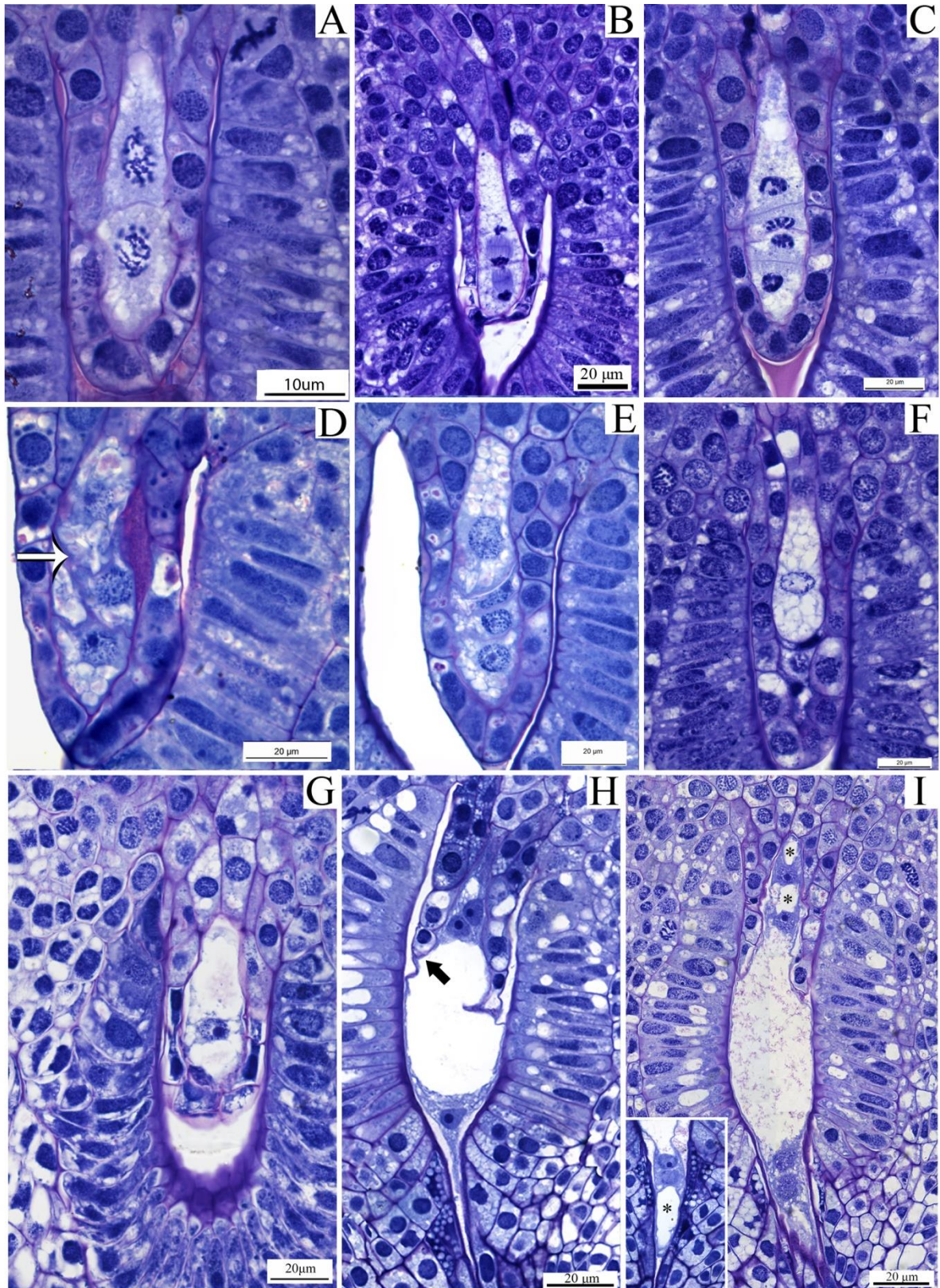


Figura 10 - *Slechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). A-I. Microscopia de luz, ginosporigênese e ginogametogênese. A. Díade de ginósporos. B. Díade de ginósporos em anáfase II. C. Tétrade linear de ginósporos. D. Tétrade com ginósporos pareados. E. Tétrade linear com ginósporo calazal funcional. F. Ginósporo calazal funcional em crescimento e ginósporos micopilares em degeneração. G. Ginófito uninucleado. H. Condição trinucleada do ginófito, porção micopilar da epiderme nucelar reabsorvida. I. Ginófito tetranucleado, detalhe: canal micopilar. [Seta branca: parede entre os ginósporos, asterisco: vacuolação nos extremos calazal e micopilar, seta preta: epiderme nucelar]

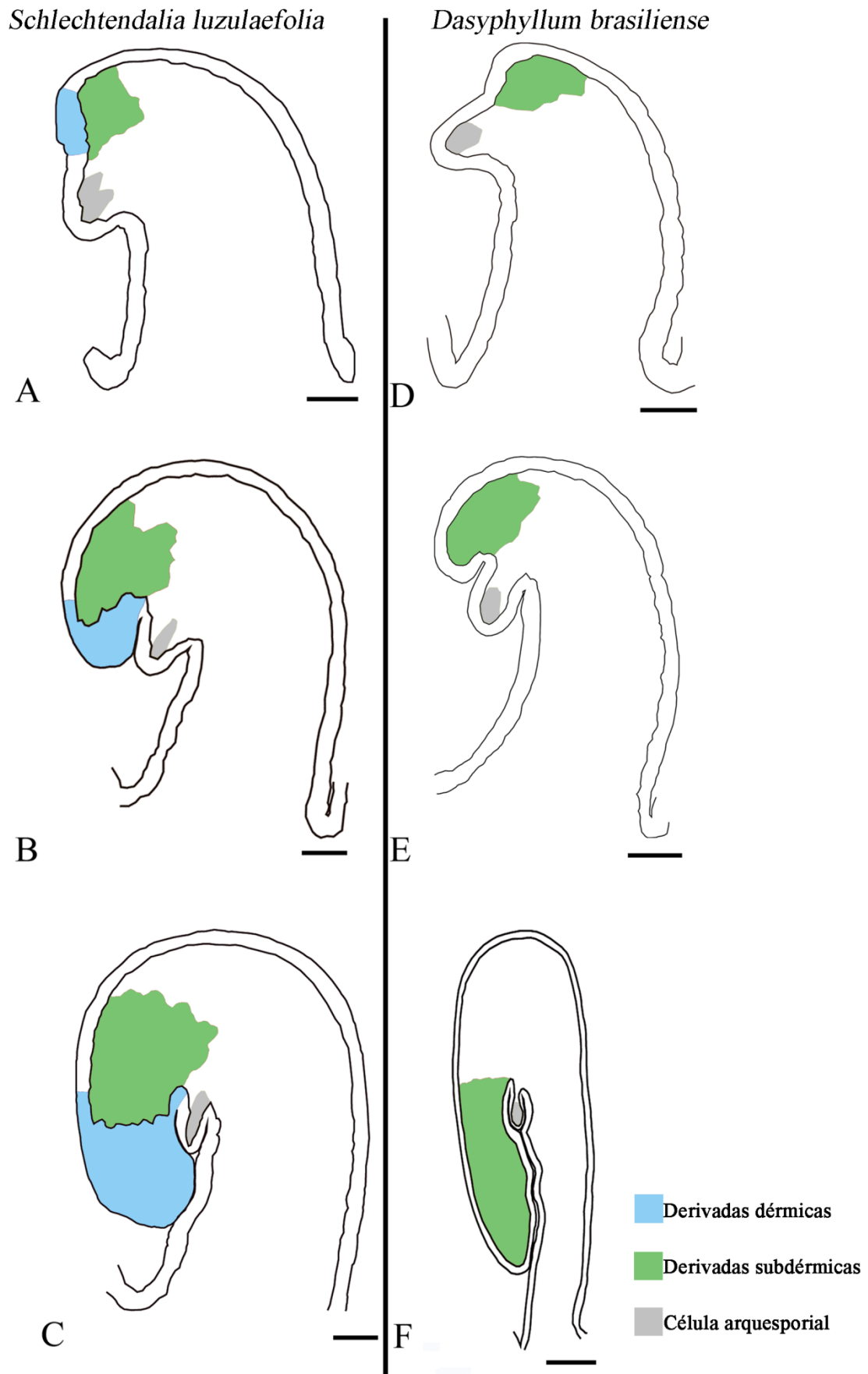


Figura 11 - Representações esquemáticas demonstrando a formação do tegumento. A-C. *Schlechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). D-F. *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). Barras: A: 40  $\mu$ m. B-C: 100  $\mu$ m. D-E: 40  $\mu$ m. F: 100  $\mu$ m.



relação às derivadas da camada dérmica se observa que formam o tecido que compõe, de maneira geral, a porção terminal do tegumento (Figura 11A-C).

Em *D. brasiliense* as derivadas subdérmicas crescem e também se dividem periclinalmente, originando um estoque de células que irão contribuir com o alongamento do tegumento (Figuras 7B-E). No início do alongamento tegumentar, são observadas divisões periclinais na camada dérmica voltada para o nucelo (Figura 7E), sendo formada uma camada externa, que não sofre divisões posteriores e diferenciando-se como epiderme interna tegumentar, e uma camada interna, que se divide novamente e suas derivadas contribuem com o espessamento do tegumento (Figura 9B, D).

A sequência do desenvolvimento tegumentar em *S. luzulaefolia* mostra o tegumento atingindo a base funicular durante a prófase I da meiose (Figura 8B) e em *D. brasiliense* no início da gametogênese (Figura 12C).

Nas duas espécies estudadas o rudimento seminal, em decorrência do modo de crescimento do funículo, seguido do crescimento do tegumento em direção a placenta, apresenta uma curvatura anátropa já no estágio de CMG (Figuras 8B, 9B). Salienta-se que a direção de crescimento do tegumento está associada com o reduzido espaço locular, que orienta o crescimento e morfologia final do rudimento seminal.

#### **4.5 Estrutura do nucelo**

Em *Schlechtendalia luzulaefolia*, no estágio de prófase da CMG, o nucelo é constituído de uma camada de células epidérmicas, por uma CMG subdérmica e por células nos flancos da CMG apenas em sua porção calazal (Figuras 8A, C, F). O nucelo de *D. brasiliense* é constituído de uma camada epidérmica, uma ou duas CMG subdérmicas e duas a quatro séries de células nucleares localizadas entre a CMG e linha da base do tegumento (Figuras 9A-C, E, F).

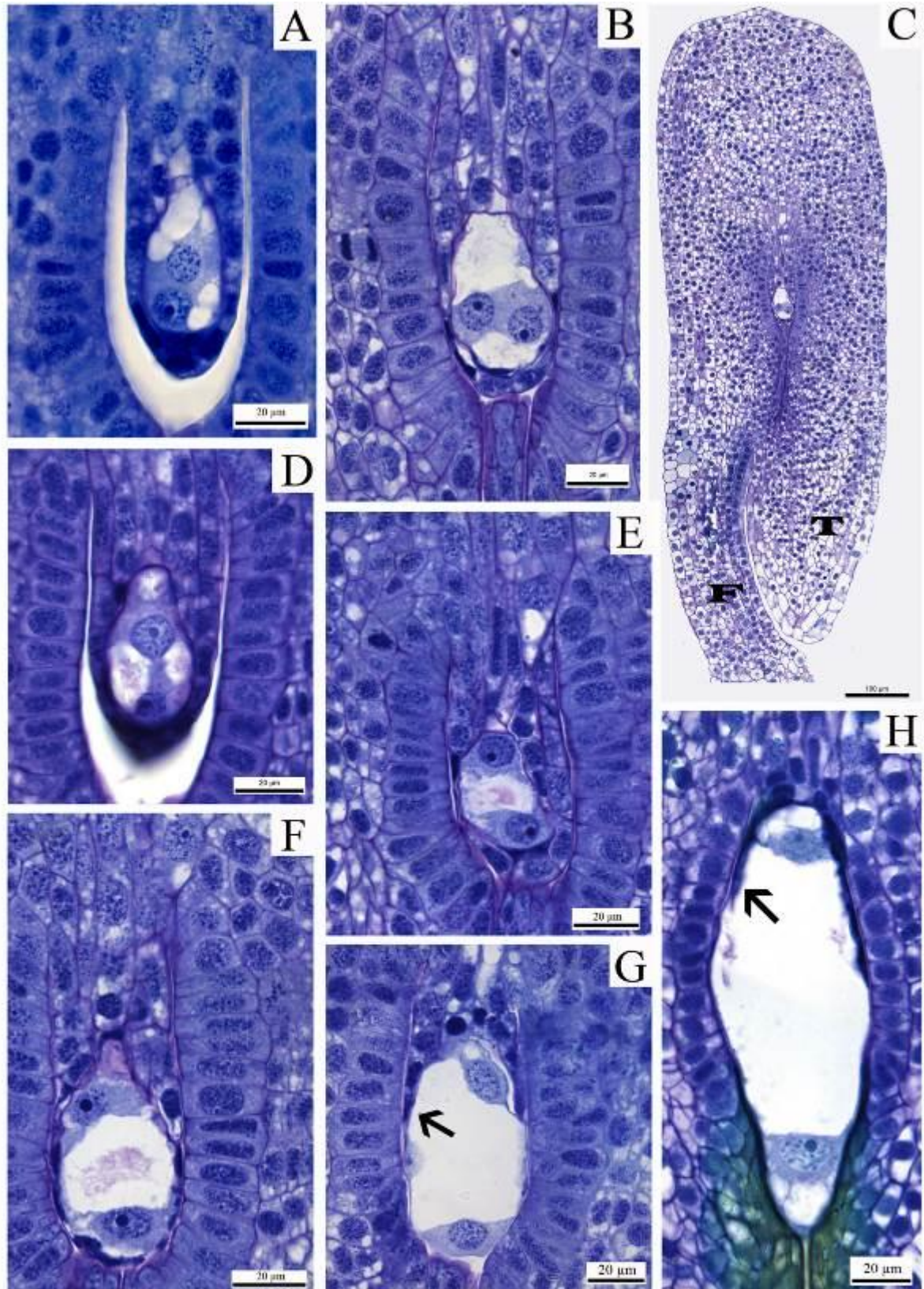


Figura 12 - *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). A-H. Microscopia de luz, ginósporo funcional e transição para a ginogametogênese. A. Ginósporo funcional calazal e ginósporo micropilar degenerado. B. Início da vacuolação. C. Rudimento seminal com tegumento próximo a região placentária. D. Início da polarização dos núcleos. E-H. Formação e crescimento de um vacúolo na região central do ginófito e degeneração da epiderme nucelar. G. Epiderme nucelar da porção micropilar do ginófito reabsorvida, estando presente apenas na porção calazal. Seta: epiderme nucelar como camada e/ou película celular. Asterisco: vacuolação dos extremos calazal e micropilar do ginófito.

#### 4.6 Determinação do ginósporo funcional e transição para a gametogênese

Em *S. luzulaefolia* a primeira característica celular a aparecer que permite identificar o ginósporo calazal como funcional é o seu pronunciado tamanho e maior volume nuclear, não sendo percebido, neste momento, sinais de degeneração dos demais ginósporos; além disso, como característica comum aos ginósporos, se percebe vacuolação citoplasmática, embora esta seja mais acentuada no ginósporo calazal (Figura 10E). Posteriormente, o ginósporo calazal aumenta ainda mais seu tamanho e os ginósporos micropilares apresentam sinais de degeneração, bem como compressão, em função do crescimento do ginósporo funcional (Figura 10F). A degeneração dos ginósporos micropilares é completada no estágio de ginófito uninucleado, quando o mesmo ocupa o volume antes ocupado pela tétrade (Figura 10G).

Em *D. brasiliense* o ginósporo calazal também é o funcional, o ginósporo micropilar degenera (Figuras 12A, B). O ginósporo funcional cresce e ocupa, também, o espaço antes ocupado pelo ginósporo micropilar (Figuras 9J, 12A, B). É observada grande vacuolação nos extremos do ginósporo, com os núcleos ocupando uma porção comum de citoplasma (Figura 12A, B).

Em ambas as espécies o crescimento do ginósporo funcional acaba por comprimir as células da epiderme nucelar da região micropilar, onde tais células apresentam-se alongadas axialmente, com núcleo e citoplasma densos. (Figuras 10F, G, 12A-C).

#### 4.7 Ginogametogênese

Em *S. luzulaefolia* a gametogênese inicia com um ginófito uninucleado, o qual possui vacúolos maiores em relação ao ginósporo funcional, conteúdo citoplasmático periférico, bem como núcleo mais volumoso e nucléolo desenvolvido (Figura 10G). A vacuolação observada no ginófito uninucleado é resultante de crescimento e fusão dos vacúolos que se desenvolveram durante a gametogênese (Figuras 10A, C-E, G, I, J).

Ao final do segundo ciclo mitótico um ginófito tetranucleado é formado (Figura 10I), o qual não é sincronizado entre os polos (Figura 10H). Assim, na maioria dos rudimentos seminiais a divisão nuclear é mais rápida na região calazal (Figura 10H). Neste momento parte do conteúdo citoplasmático do cenócito encontra-se no interior do canal micropilar,

aparentemente como uma consequência do aumento acentuado do vacúolo central do ginófito em conjunto com a reabsorção da epiderme nucelar e perda de resistência do esporângio em relação ao crescimento do gametófito (Figura 10H, I).

Os núcleos micropilares e calazais do ginófito tetranucleado estão alinhados, estando os micropilares alocados no canal micropilar (Figuras 10I). A vacuolação do gametófito nesta fase difere da anterior em função do aparecimento de vacúolo no canal micropilar, assim como os núcleos do pólo calazal (Figura 10I).

Somente em *S. luzulaefolia* ocorre um terceiro ciclo mitótico, que origina o ginófito octonucleado (Figuras 14A-F). No pólo calazal estão presentes três núcleos, dois pareados no extremo calazal e um voltado para a micrópila, formando um “T” (Figura 14B). Os núcleos polares migram para o centro do ginófito e se encontram na porção média do mesmo; tais núcleos sempre ocorrem periféricos, são volumosos e com nucléolo denso, com vacúolos nucleolares ausentes (Figuras 14C). Os núcleos micropilares encontram-se no interior do canal micropilar (Figuras 14A). De maneira geral, os núcleos calazais possuem heterocromatina evidente, sob microscopia de luz, ao contrário dos núcleos polares e micropilares que possuem estrutura homogênea (Figuras 14A-F).

Em *D. brasiliense* a gametogênese inicia com um ginófito binucleado (Figura 12A-C), no qual os núcleos estão sendo polarizados, devido a formação de vacúolos nos extremos micropilar e calazal, os quais, aparentemente, migram perifericamente para a porção média do gametófito e se fusionam na região central do mesmo (Figuras 12B, D, E). Ao final desta etapa os núcleos acabam ocupando as posições micropilar e calazal (Figura 12E). Após, o vacúolo central aumenta de tamanho (Figuras 12F-H). À medida que o volume do ginófito aumenta, ocorre a compressão da epiderme nucelar que desaparece, ainda nesta fase, nas porções média e micropilar (Figuras 12A-H).

Em *D. brasiliense* dois ciclos mitóticos resultam na formação do ginófito octonucleado, onde os núcleos derivados se mantêm polarizados (Figura 13A, B). Ressalta-se que o segundo evento mitótico é sincronizado (Figuras 13A). O arranjo dos núcleos em formação possui posicionamento muito próximo a dos núcleos constituídos no gametófito celularizado (Figuras 13D, E). Na região calazal do ginófito a epiderme nucelar pode ser observada como uma película de restos celulares (Figura 13A).

Em ambas as espécies a compressão e a absorção da epiderme nucelar são graduais e associadas ao crescimento do gametófito (Figuras 15B-D, 16C).

Após término dos ciclos mitóticos, em ambas as espécies, são iniciados os processos de celularização e organização celular, onde os três núcleos calazais formam as antípodas, os

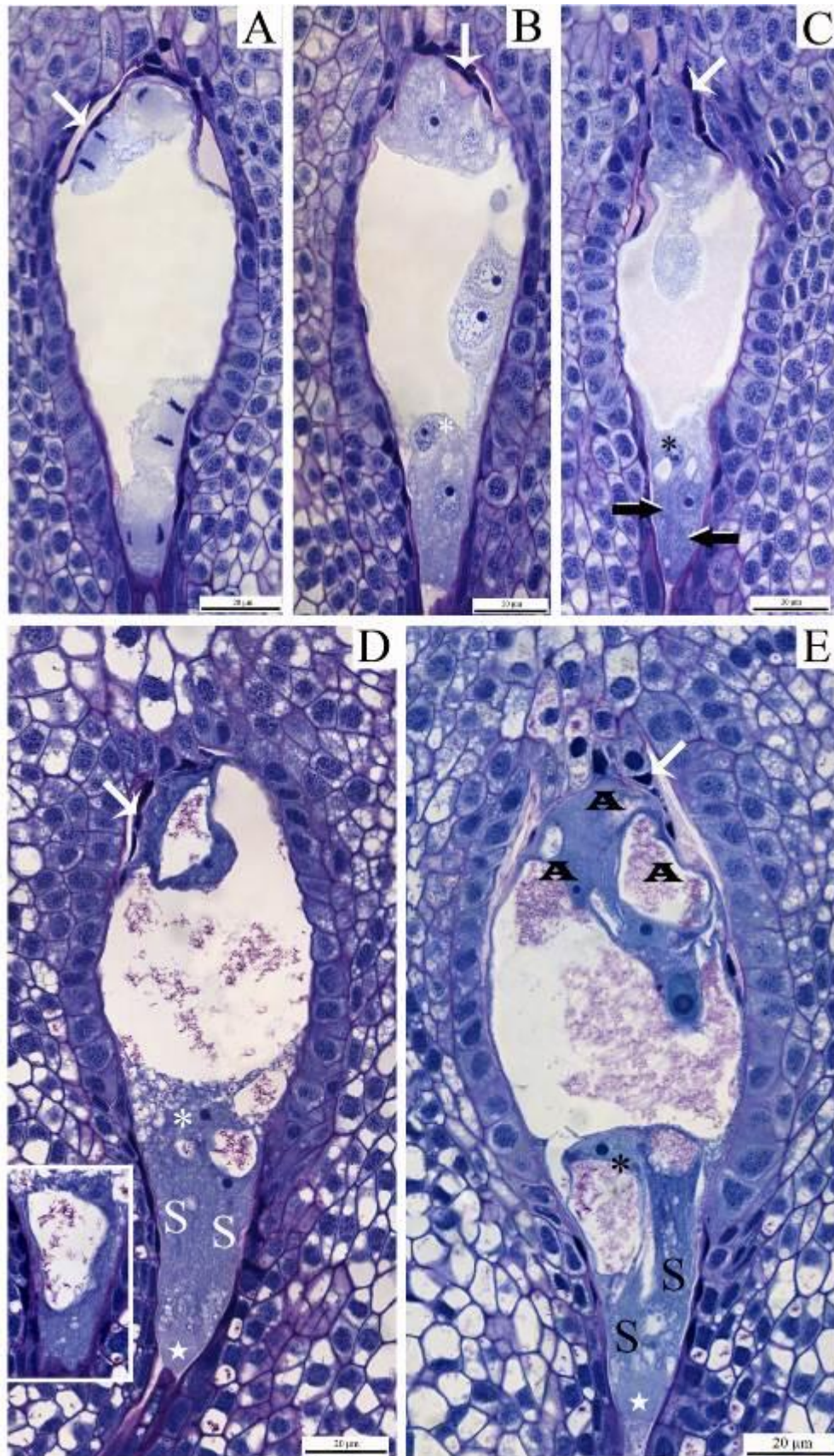


Figura 13 - *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). A-E. Microscopia de luz, ginogametogênese, celularização e maturação celular. A. Núcleos do ginófito tetranucleado em anáfase. B. Ginófito octanucleado. C. Celularização simultânea entre nos polos do ginófito. D. Polarização das células gametofíticas e aparecimento do aparelho fibrilar (estrela). Detalhe: Oosfera. E. Núcleo secundário da célula média. Setas brancas: pellicula nuclear. [Setas pretas: sinérgides, S: sinérgide, asterisco: oosfera, A: antípoda].

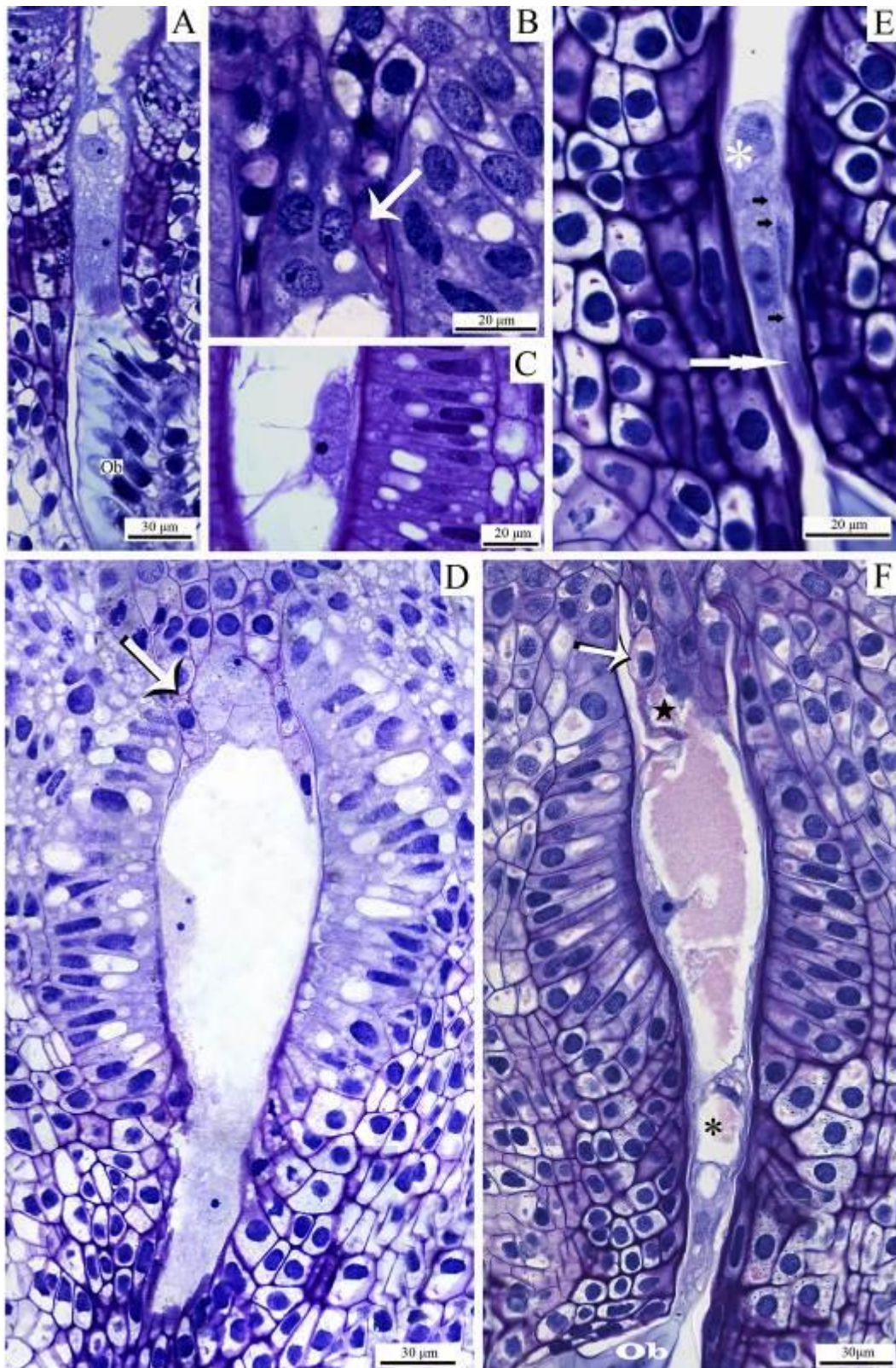


Figura 14 - *Slechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). A-F. Microscopia de luz, ginogametogênese, celularização e maturação celular. A-C. Detalhes do ginófito octonucleado. A. Dois núcleos no canal micropilar. B. Três núcleos calazais. C. Núcleos polares. D. Celularização não simultânea do ginófito com celularização inicial para formação das antípodas e arranjo das antípodas em forma de "T" invertido. E. Início da celularização das células do aparelho oosférico, presentes no interior do canal micropilar, início da formação do aparelho fibrilar (seta branca dupla). F. Polarização das células gametofíticas, núcleo secundário e degeneração das antípodas. [Seta branca: epiderme nucelar, asterisco: Oosfera, setas pretas: parede comum entre as sinérgides, estrela: antípoda em degeneração, setas brancas: epiderme nucelar, Ob: Obturador].

três micropilares originam as células do aparelho oosférico e os dois núcleos centrais formam a célula central (Figuras 13B-E, 14A-F).

#### 4.7.1 Celularização e maturação celular

Em *S. luzulaefolia* a celularização das antípodas é anterior à celularização do aparelho oosférico. Cobrindo o ápice calazal podem ser observadas as três antípodas em um arranjo de “1”, sendo que estas possuem paredes pécticas e citoplasma de densidade similar ao das células endoteliais (Figura 14D). Neste momento observa-se apenas núcleos no pólo micropilar, bem como os núcleos polares que permanecem visíveis na porção média do ginófito (Figura 14D).

A fusão dos núcleos polares ocorre durante o processo de celularização das células do aparelho oosférico, no centro do ginófito, originando o núcleo secundário, que possui um nucléolo volumoso e densamente corado (Figura 14F). Este último migra em direção a micropila, sendo observado na maturidade do ginófito próximo à oosfera (Figura 16C).

Com relação à formação do aparelho oosférico, o núcleo mais próximo ao ápice micropilar, ainda no canal micropilar, origina a oosfera (Figura 14A, E) e os demais originam as sinérgides (Figura 14E). O formato da oosfera nesse momento é, aproximadamente, esférico (Figura 14E). A oosfera possui núcleo central, ocupando a maior parte da célula, e citoplasma apresentando vários pequenos vacúolos dispersos (Figura 14E). As sinérgides são claviformes, com núcleo central e elipsoide, e com citoplasma levemente mais denso em relação à oosfera (Figura 14E). A parede celular do ápice micropilar das sinérgides é relativamente mais espessada, principalmente na região de contato entre essas células (Figura 14E). Importante salientar que nesse estágio as antípodas não foram observadas, nem mesmo na forma de restos celulares.

Posteriormente, a oosfera apresenta-se com um vacúolo volumoso e a maior parte do citoplasma voltado para a região calazal do gametófito, juntamente com núcleo (Figura 14F). As sinérgides estão dispostas lado a lado apresentando núcleo central e um vacúolo calazal (Figura 14F). O citoplasma de tais células apresenta-se relativamente denso e com pequenos vacúolos dispersos e concentrados na porção micropilar da célula (Figura 14F). Salienta-se que as paredes celulares dos ápices das sinérgides possuem maior espessamento quando comparadas com as demais regiões celulares (Figura 14F). O término da maturação

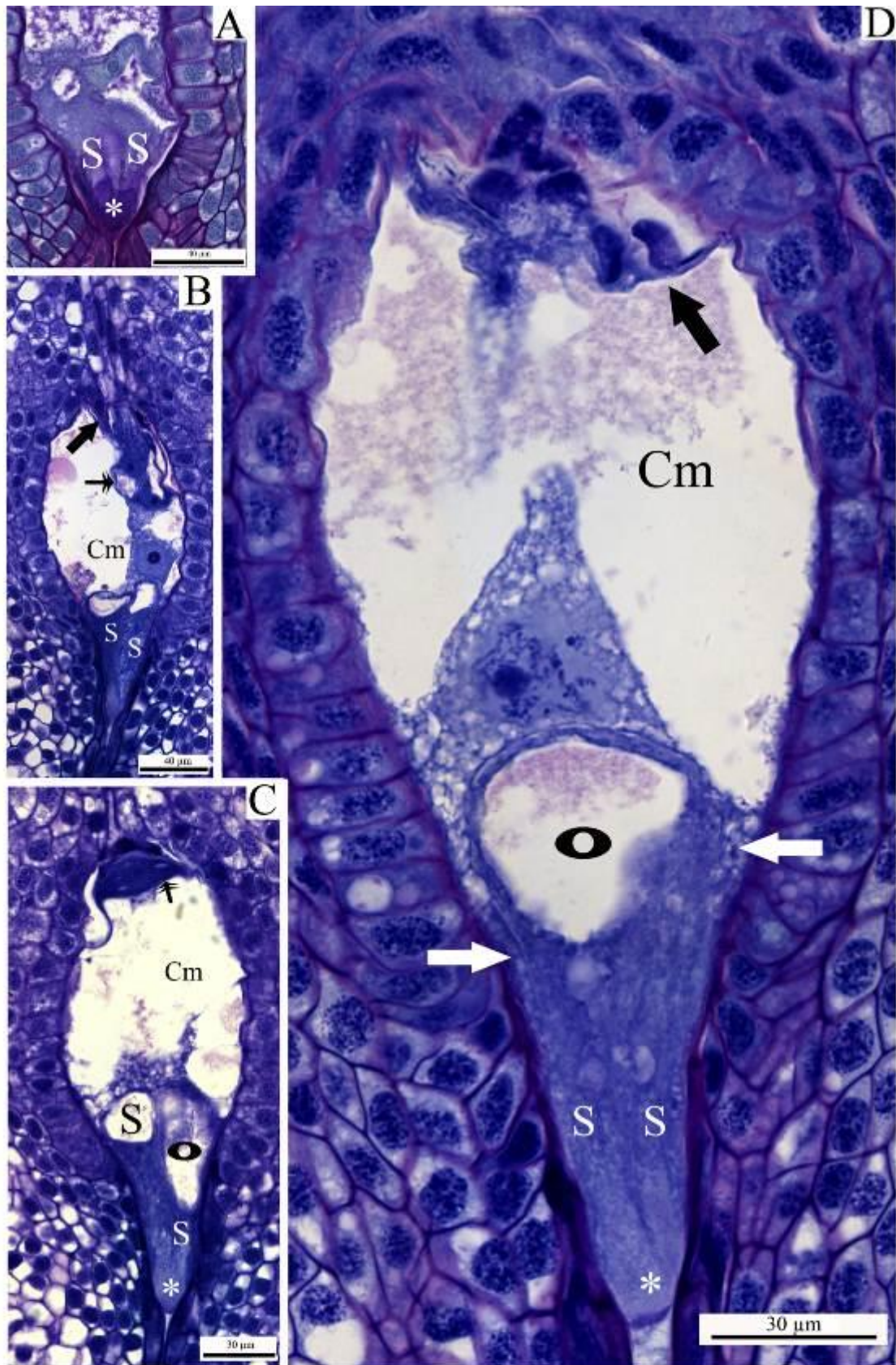


Figura 15 - *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). A-D. Microscopia de luz, ginófito maduro. A. Aparelho oosférico, sinérgides com aparelho fibrilar formado (asterisco). B. Degeneração das antípodas, núcleo secundário próximo ao aparelho oosférico e vista das sinérgides com aparelho fibrilar homogêneo. C. Degeneração das antípodas e organização do aparelho oosférico. D. Ginófito maduro, antípodas degeneradas, célula média circundando o aparelho oosférico (setas brancas) e aparelho fibrilar (asterisco). [Setas pretas: epiderme nucelar, setas pretas duplas: antípodas em degeneração, Cm: Célula média, S, sinérgides, O, oosfera].



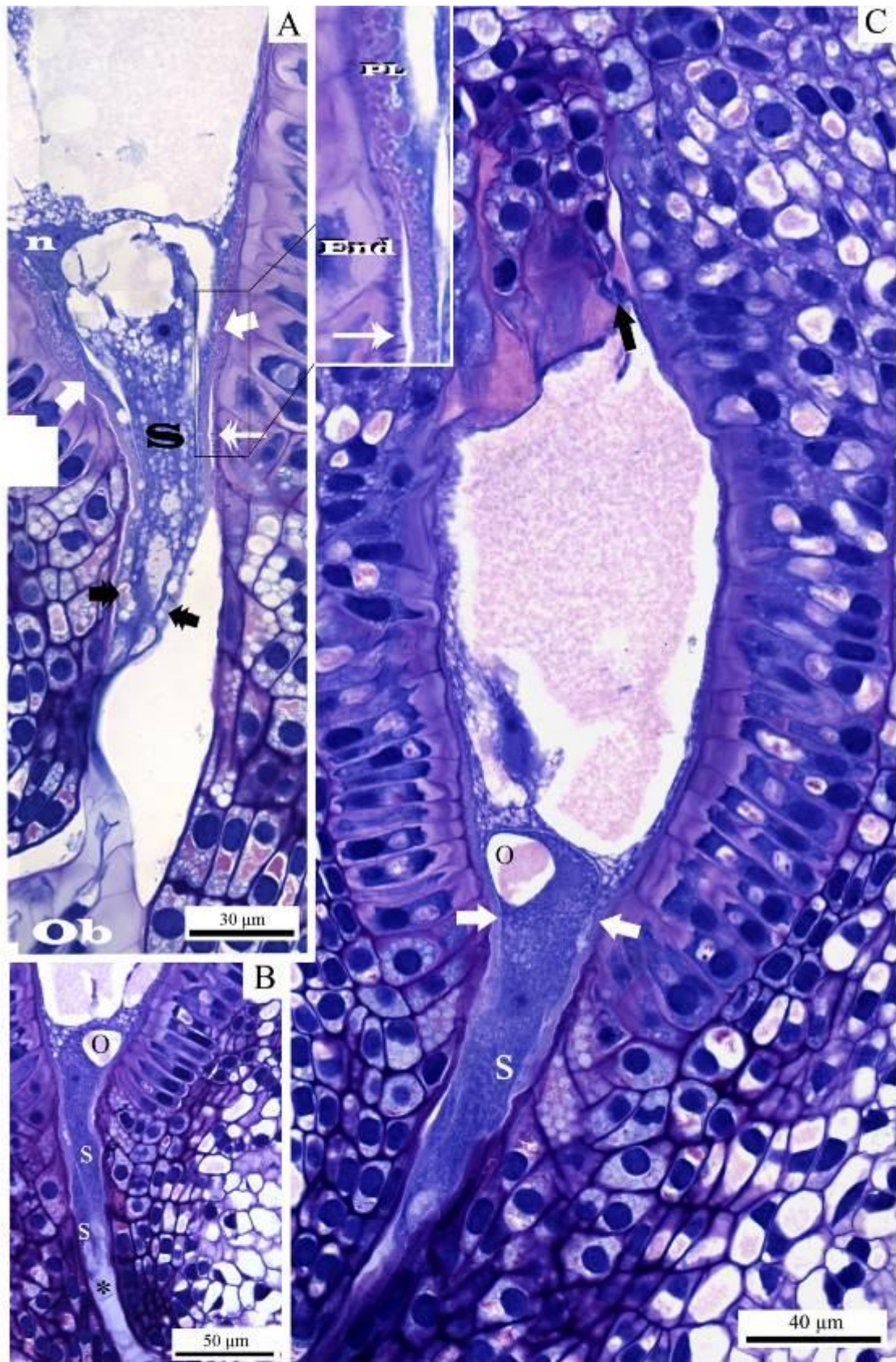


Figura 16 - *Slechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). A-C. Microscopia de luz, ginófito maduro. A. Aparelho oosférico, núcleo da célula média próximo ao aparelho oosférico, citoplasma da célula média circundando quase todo o aparelho oosférico, detalhe: região de contato das paredes da célula média e endotélio. B. Aparelho fibrilar em contato com o obturador (Ob). C. Ginófito maduro com antípodas ausentes. [S: sinérgides, O: oosfera, asterisco: aparelho fibrilar, seta preta: epiderme nucelar, seta preta dupla: célula média, seta branca: paredes labirinticas, seta branca dupla: paredes em flange, PL: paredes labirinticas, End: endotélio].

celular decorre de um crescimento acentuado das sinérgides, que acaba por empurrar a oosfera em direção a região calazal, de modo que no ginófito maduro tal célula encontra-se no extremo micropilar do ginófito e não no canal micropilar (Figuras 14F, 16B, C). Cabe salientar que uma das sinérgides cresce mais sendo observada ao lado da oosfera (Figuras 16B, C, 21B), enquanto a outra tem seu crescimento, em direção ao ginófito, limitado pela oosfera (Figuras 16B, C, 21B).

Uma única antípoda ainda pode ser observada, embora em processo de degeneração (Figura 14F). Tal célula apresenta citoplasma e núcleo periféricos embora o núcleo esteja voltado para a porção calazal (Figura 14F).

Em *D. brasiliense* a celularização do gametófito é simultânea (Figura 13C). As antípodas ocupam a região calazal do ginófito e são observadas em um mesmo nível, de modo que as três células tocam o ápice calazal, sendo considerado seu arranjo como horizontal (Figura 13B, C).

Logo após a celularização, o citoplasma das antípodas apresenta-se com uma densidade maior em relação à fase anterior (Figuras 13B, C). O núcleo é central, mais compacto e denso em relação à fase anterior, com nucléolo também denso; o citoplasma não é vacuolado (Figura 13C). As células do aparelho oosférico encontram-se no canal micropilar, sendo a oosfera relativamente lateralizada e de localização mais próxima ao ápice micropilar do ginófito. Neste momento a polarização da oosfera é iniciada onde se observa um vacúolo voltado para a micrópila. As sinérgides são paralelas e apresentam um vacúolo voltado para o centro do ginófito e núcleo central. O citoplasma das células do aparelho oosférico é denso.

A célula média possui um vacúolo volumoso, citoplasma periférico e núcleos polares no centro do ginófito, próximos a periferia e ligados aos pólos por um cordão citoplasmático (Figura 13B). Os nucléolos dos núcleos polares são relativamente periféricos, densos e não vacuolados (Figura 13B).

O desenvolvimento posterior mostra que as antípodas são polarizadas, com núcleos voltados para o centro do ginófito e um vacúolo volumoso ocupando a maior parte da célula (Figuras 13D, E). O vacúolo possui conteúdo péctico e o citoplasma é periférico e denso (Figuras 13D, E).

A oosfera é piriforme e apresenta um vacúolo volumoso, micropilar, e de conteúdo péctico (Figura 13D). As sinérgides são alongadas, possuem um vacúolo calazal de conteúdo péctico, núcleo subvacuolar e o aparelho fibrilar na porção micropilar (Figura 13D). O citoplasma das sinérgides é denso com pequenos vacúolos concentrado, principalmente, próximos ao aparelho fibrilar (Figura 13D). A célula média apresenta maior parte do seu

citoplasma próximo ao aparelho oosférico, onde pequenos vacúolos também são observados, todos com conteúdo péctico (Figura 13D). Os núcleos polares permanecem livres (não mostrado).

Os núcleos polares fusionam-se no centro do ginófito, próximos a periferia e originam o núcleo secundário que é denso e possui um nucléolo com vacúolos nucleolares (Figura 13E). Neste momento pode-se observar um aumento da área ocupada pelo aparelho fibrilar (Figura 13E).

Ao término da diferenciação das antípodas observa-se que elas ocupam toda a porção calazal do ginófito (Figura 13E). O tamanho de tais células é maior ou similar ao tamanho da oosfera, com morfologia irregular, onde esta se mantém com vacúolo volumoso contendo pectinas (Figuras 13E, 17G). Os núcleos das antípodas estão voltados para o centro do ginófito (Figura 13E). As antípodas em degeneração apresentam acúmulo de pectinas (Figura 15A), não tendo sido detectado proteínas e lipídios (Figuras 18E, 19B). A parede celular é completa e composta por pectinas e polissacarídeos totais (Figuras 17G, 18A) (Tabela 2). Ressalta-se que as antípodas são efêmeras e degeneram antes da fecundação (Figuras 15B-D).

#### 4.7.2 Ginófito maduro

Em ambas as espécies o ginófito maduro é constituído por quatro núcleos e quatro células, ou seja, por uma célula média, uma oosfera e duas sinérgides (Figuras 15A-D, 16A-C). As antípodas são efêmeras e degeneram antes da fecundação, podendo ser observadas como restos celulares ou células degeneradas ou, usualmente, não são observáveis (Figuras 15D, 16C). Uma fina camada lipídica está presente no limite entre o tecido esporofítico e o ginófito nas espécies (Figuras 19B-D, 20A-C) (Tabela 2).

O ginófito maduro de *S. luzulaefolia* é fusiforme, sendo os ápices calazal e micropilar retos (Figuras 16B, 20A,B). As células endoteliais da porção micropilar do ginófito e as células do epitélio do canal micropilar até o obturador apresentam espessamento de parede tipo flange (Figura 16A). Tal estrutura é composta por pectinas (Figura 21B), polissacarídeos totais (Figura 17E) e proteínas (Figuras 21D-F) (Tabela 2). Neste estágio é observado acúmulo de pectinas na parede das células esporofíticas do entorno do ginófito, sendo tais células PAS positivas (Figura 17A).

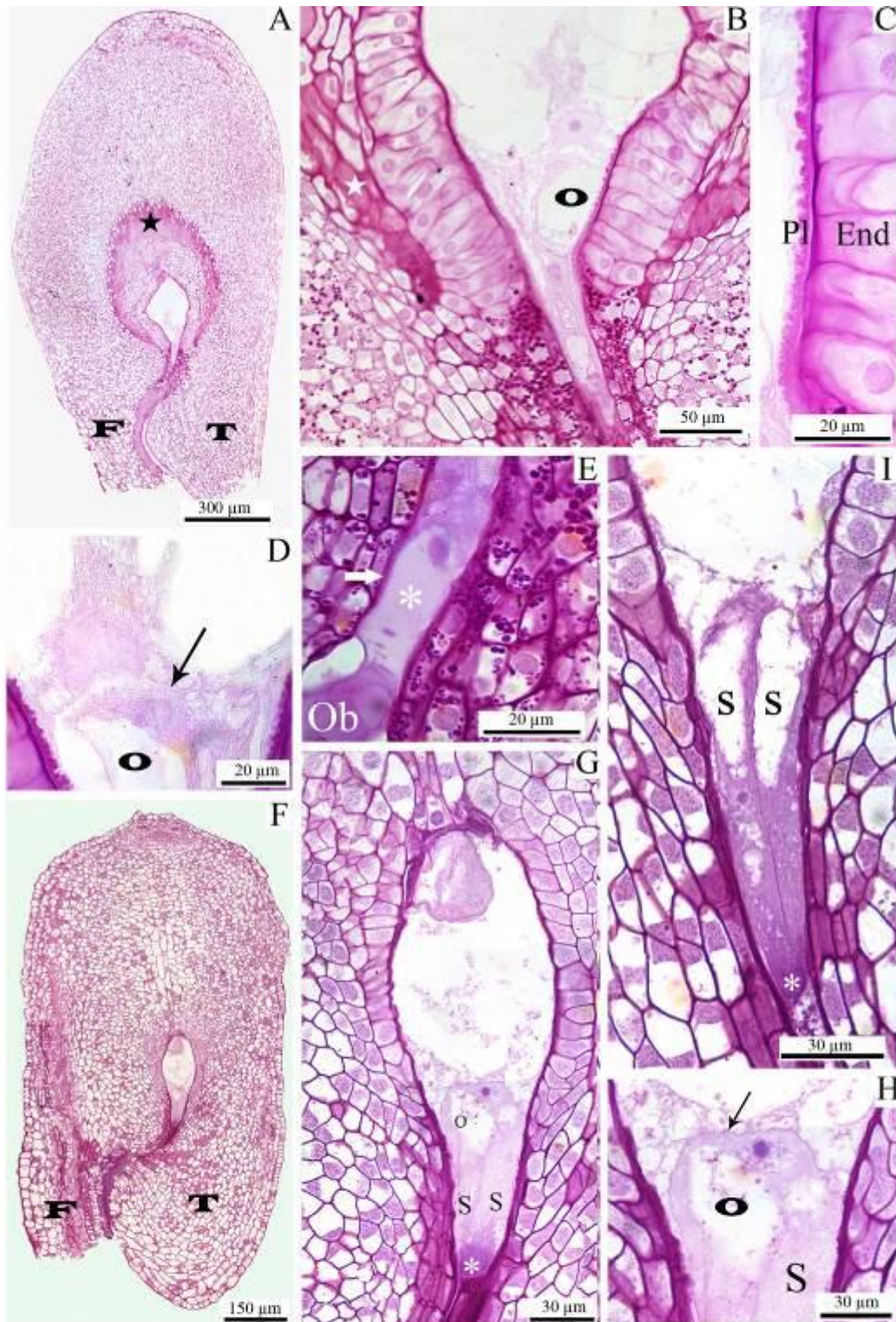


Figura 17 - A-I. PAS em rudimentos seminais maduros, Microscopia de luz. A-E. *Slechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). F-I. *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). A. Aspecto geral do rudimento seminal, células esporofíticas ao redor do ginófito com paredes espessadas compostas por polissacarídeos totais (estrela). B. Grãos de amido no tecido esporofítico, principalmente nas células do canal micropilar, e/ou próximas, presentes entre o ginófito e o obturador, citoplasma das células do aparelho oosférico e célula média com polissacarídeos. C. Detalhe porção da parede da célula média com projeções labirínticas positivas. D. Limites entre células do aparelho oosférico e entre estas e a célula média PAS negativas. E. Detalhe do aparelho fibrilar (asterisco) e parede em flange (seta branca) com reação positiva. F. Aspecto geral do rudimento seminal. G. Células gametofíticas com citoplasma, parede celular e conteúdo vacuolar positivos. H. Limites entre células do aparelho oosférico e entre estas e a célula média PAS positivas. I. Aparelho fibrilar PAS positivo. [PL: parede labiríntica, End: endotélio].

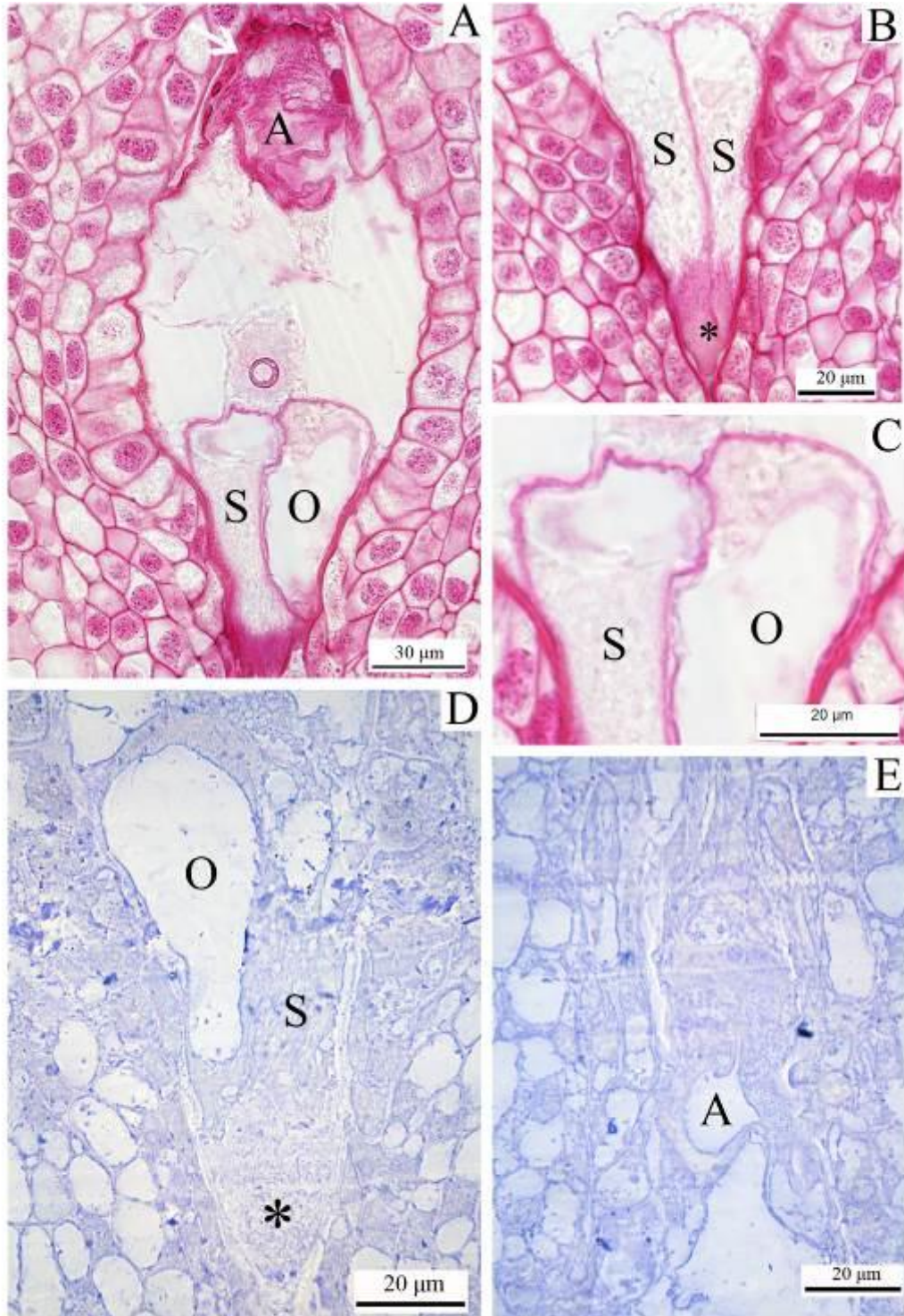


Figura 18 - *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). A-F. Microscopia de luz. A-C. Vermelho de rutênio. D, E. Azul de Comassie. A. Antípodas em degeneração com parede celular e citoplasma positivos, nucléolo da célula média com reação positiva, paredes celulares e conteúdo vacuolar das células do aparelho oosférico positivas, citoplasma com reação negativa. B. Detalhe do aparelho fibrilar positivo para vermelho de rutênio. C. Detalhe de células do aparelho oosférico. D. Citoplasma das células do aparelho oosférico e da célula média e aparelho fibrilar positivos. E. Parede celular de uma antípoda em degeneração positiva. [Asterisco: aparelho fibrilar, O: oosfera, S. sinérgides, A. antípoda, seta branca: epiderme nucelar].

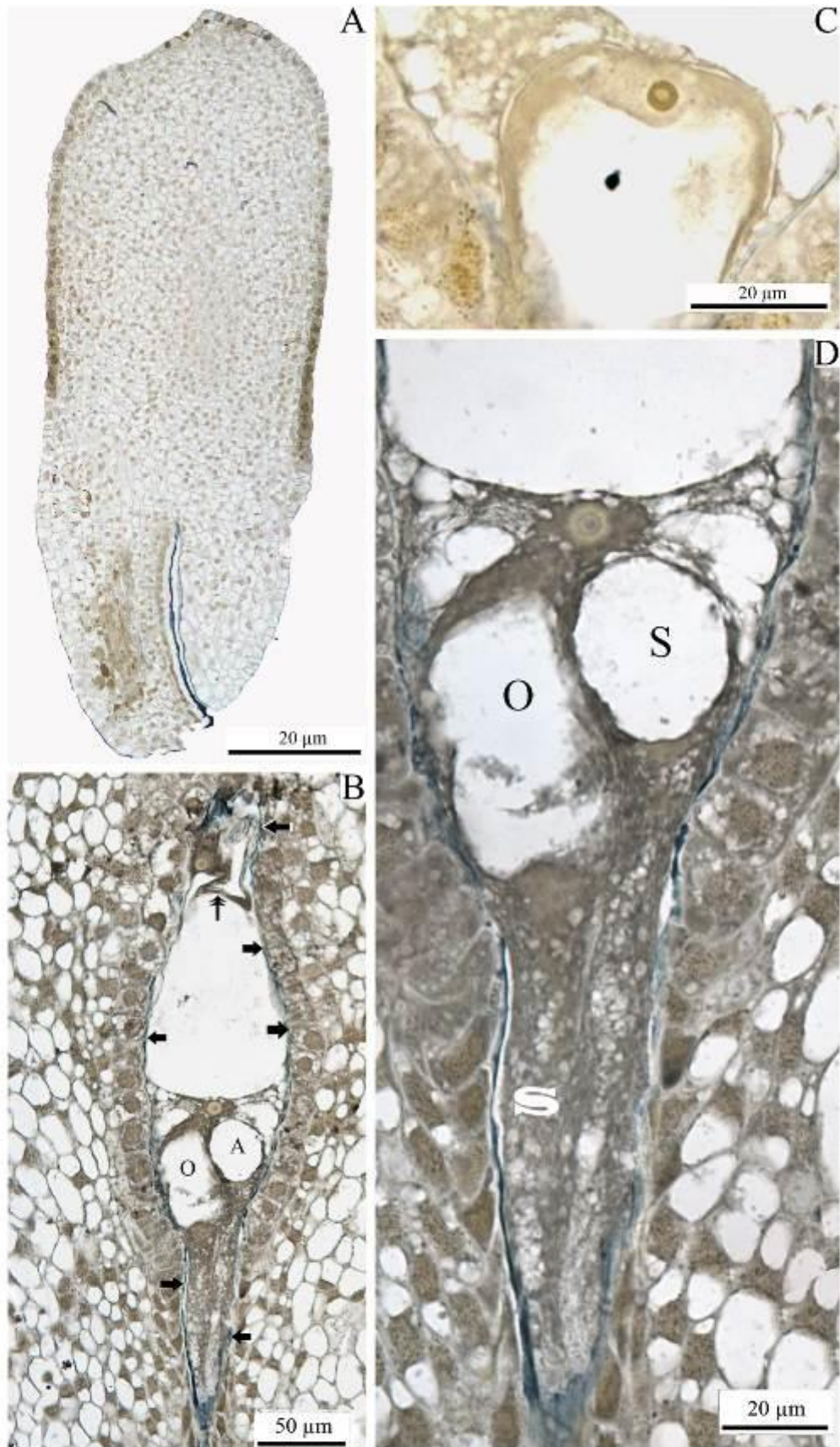


Figura 19 - *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). A-D. Microscopia de luz, Sudan Black B. A. Visão geral do rudimento seminal, epiderme e obturador com reação positiva. B. Detalhe da oosfera com limite celular de reação negativa. C. Presença de uma cutícula ao redor de todo o ginófito (setas pequenas), parede celular das antípodas e das células do aparelho oosférico com reação negativa. D. Limites entre células do ginófito negativas e entre estas e o esporófito de reação positiva. [Seta dupla: antípodas, O: oosfera, S: sinérgides].

Tabela 2 – Testes Histoquímicos

		Vermelho de rutênio		PAS		Azul de coomassie		Sudan Black B	
		SL	DB	SL	DB	SL	DB	SL	DB
<b>Sinérgides</b>	Parede labiríntica	+	na	+	na	+	na	-	na
	Parede celular	-	+	-	+	-	-	-	-
	Citoplasma	+	-	+	?	+	+	-	-
	Vacúolo	+	+	+	+	-	-	-	-
	Aparelho fibrilar	+	+	?	+	?	+	-	-
<b>Oosfera</b>	Parede labiríntica	+	na	+	na	+	na	-	na
	Parede celular	-	+	-	+	-	-	-	-
	Citoplasma	+	-	+	?	+	+	-	-
	Vacúolo	+	+	+	?	-	-	-	-
<b>Endotélio</b>	Parede celular	+	+	+	+	+	-	+	+
	Citoplasma	+	+	+	-	+	+	-	-
	Vacúolo	+	-	+	+	+	-	-	-
<b>Especialização de parede tipo flange</b>		+	na	+	na	+	na	-	na
<b>Célula média</b>	Parede labiríntica	+	na	+	na	+	na	-	na
	Parede celular	+	+	+	+	-	-	+	+
	Citoplasma	+	+	+	+	+	+	-	-
	Vacúolo	+	+	+	+	-	-	-	-
<b>Antípodas</b>	Parede celular	?	+	?	+	?	-	-	_*
	Citoplasma	?	+	?	?	?	+	-	-
	Vacúolo	?	?	?	+	?	-	-	-
<b>Obturador</b>		+	+	+	+	?	+	+	+

SL: *Schlechtendalia luzulaefolia*. DB: *Dasyphyllum brasiliense*. na: não se aplica. +: Reação positiva. -: Reação negativa. ?: não foi feito o teste.

O ginófito maduro de *D. brasiliense* é, aproximadamente, ovado, sendo a porção calazal arredondada e a micropilar alongada (Figura 15B-D). Nesta espécie paredes tipo flange não foram observadas.

#### 4.7.3 Célula média

A célula média em *S. luzulaefolia* ocupa grande parte do volume do gametófito, preenchendo quase toda a região calazal, toda a porção média, parte da porção micropilar e canal micropilar, onde compartilha espaço com as sinérgides (Figuras 16A, C). A presença de um vacúolo volumoso é característica de tal célula, sendo responsável pela localização periférica do seu citoplasma e núcleo, embora cordões citoplasmáticos sejam observados conectando o citoplasma do entorno nuclear com o periférico (Figura 17B). No vacúolo foram observados pectinas e polissacarídeos totais (Figuras 17B-D, 21A, B). O maior volume citoplasmático da célula média se encontra em torno do aparelho oosférico (Figuras 16A, C). O núcleo secundário localiza-se próximo a oosfera (Figura 16A, C).

A parede celular da célula média de *S. luzulaefolia*, em toda a sua extensão de contato com o esporófito, é pecto-celulósica (Figuras 17A-D, 21A, B, G). Projeções labirínticas são observadas desde a porção média dessa célula, a partir da qual aumenta em complexidade progressivamente, até próximo ao ápice das sinérgides (Figura 16A). As projeções labirínticas apresentaram reação positiva para polissacarídeos totais, pectinas e proteínas (Figuras 17B-D, 21A, B, D, E) (Tabela 2).

A célula média de *D. brasiliense* também preenche quase toda a região calazal, toda a porção média, parte da porção micropilar, envolvendo o aparelho oosférico até o primeiro terço do canal micropilar (Figuras 15D, 17G, H). Um vacúolo volumoso, com conteúdo péctico e com polissacarídeos totais, está presente de modo que o citoplasma encontra-se periférico (Figuras 15B-D, 17G-I). Cordões citoplasmáticos também estão presentes na célula média desta espécie (Figuras 15B-D, 19B,D). O núcleo secundário encontra-se próximo a oosfera, juntamente com a maior parte do citoplasma, no qual vacúolos menores estão dispersos (Figuras 15B, D, 19D). O citoplasma possui compostos pécticos (Figura 18A), proteínas (Figura 18D) e polissacarídeos totais imersos (Figuras 17G-I); a parede celular é pecto-celulósica em toda a sua extensão de contato com o esporófito (Figuras 17F-I, 18A-C, F).





Figura 20 - *Slechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). A-C. Microscopia de luz, Sudan Black B. A. Aspecto geral do rudimento seminal, epiderme e obturador com reação positiva, presença de uma cutícula ao redor de todo o ginófito. B. Limite entre aparelho fibrilar (asterisco) e obturador de positivo. C. Detalhe da camada cuticular presente entre o endotélio e a célula média. Seta preta: camada cuticular.

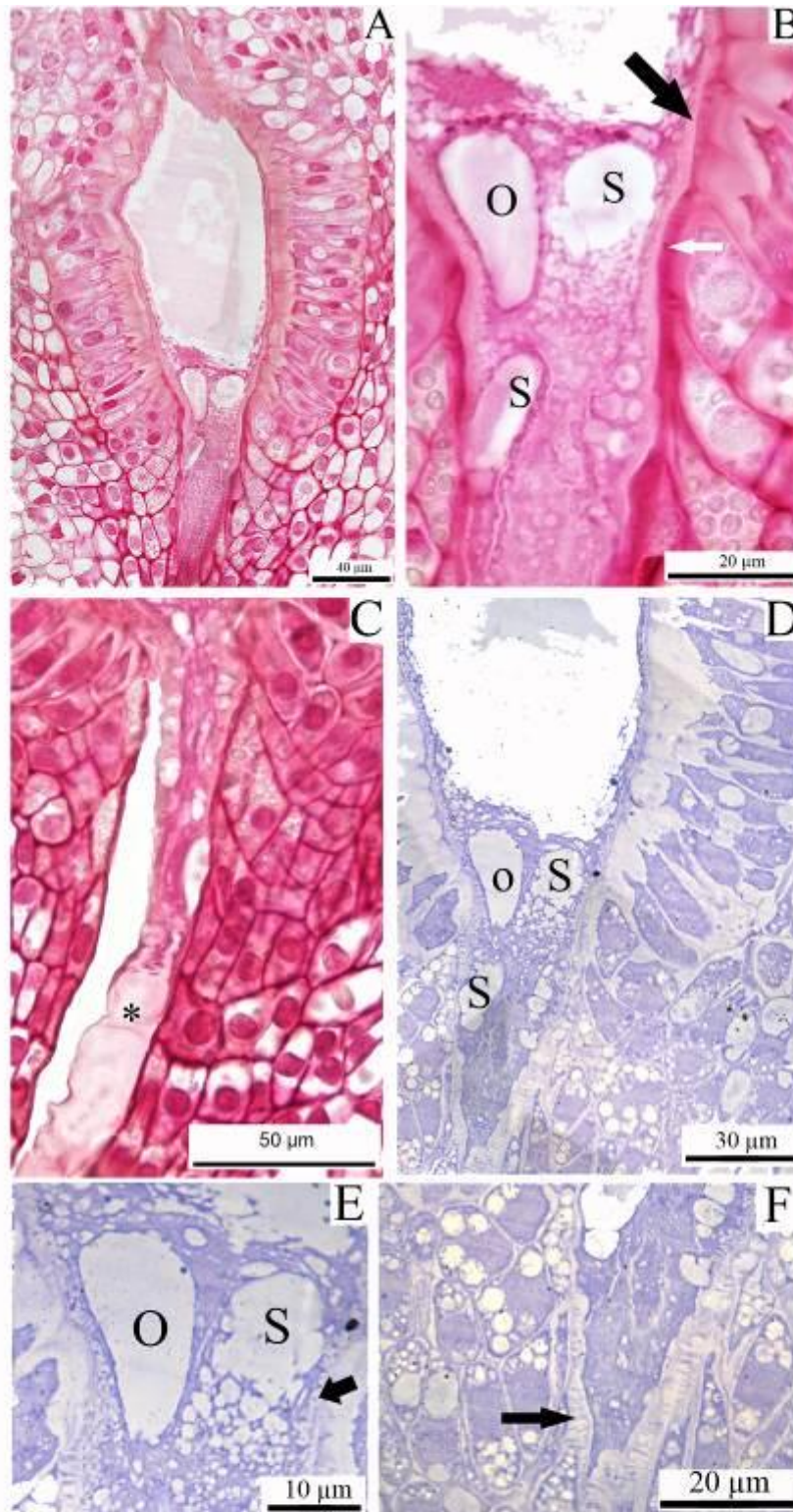


Figura 21 - *Slechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). A-G. Microscopia de luz. A-C. Vermelho de rutênio. D-F. Azul de Comassie. A. Parede celular das células endoteliais, citoplasma e núcleo da célula média com presença de pectinas. B. Limites entre as células do aparelho oosférico de reação negativa, paredes labirínticas (seta preta) e em flange (seta branca) positivas. C. Citoplasma das sinérgides de reação positiva, a reação no aparelho fibrilar (asterisco) é levemente positiva. D. Citoplasma das células do aparelho oosférico e da célula média, de reação positiva. E. Detalhe da oosfera e sinérgide e reação positiva para a parede labiríntica (seta preta). F. Detalhe da porção micopilar das sinérgides e canal micopilar, com aparelho fibrilar e paredes em flange com reação positiva. F. Ginófito demonstrando celulose na parede das células esporofíticas e ausente nas células do aparelho oosférico. [Asterisco: aparelho fibrilar, O. oosfera, S. sinérgide].

#### 4.7.4 Oosfera

A oosfera de *S. luzulaefolia* é piriforme e menor em relação às sinérgides (Figura 16B, C, 17B, 21B, D, E). Este gameta localiza-se no extremo micropilar juntamente com as sinérgides e na maturidade do ginófito não ocupa mais o canal micropilar (Figura 16B, C, 17B, 21C-E). A oosfera é paralela a uma das sinérgides e de posição calazal em relação a outra sinérgide (Figura 16B, C, 17B). O núcleo e a maior parte do citoplasma são periféricos e calazais, sendo a maior parte da célula ocupada por um vacúolo volumoso que apresenta conteúdo péptico (Figuras 16B, C, 17B, D). O citoplasma possui compostos pépticos, polissacarídeos totais e proteínas (Figuras 21A, B, D, E, 17B, D) (Tabela 2). Não foram identificados compostos pépticos, proteicos, lipídicos e celulósicos na parede celular da oosfera (Figuras 21A, B, D, E, G, 17B, D) (Tabela 2).

A oosfera de *D. brasiliense* também é piriforme e possui menor tamanho em relação às demais células do aparelho oosférico (Figuras 15C, 18D). Localiza-se na periferia do ginófito na região compreendida pelo ápice micropilar (Figuras 15C, 18D). O ápice micropilar da célula oosférica chega a invadir o canal micropilar (Figura 18D). A organização celular e o conteúdo do vacúolo são iguais aos descritos para *S. luzulaefolia* (Figuras 17G, H, 18A, C). Contudo a parede celular está presente, sendo de estrutura péptica (Figuras 18A, C) e negativa para polissacarídeos totais (Figuras 17B, D) e negativa para proteínas (Figuras 18D). O citoplasma possui polissacarídeos totais (Figuras 17G, H) e proteínas principalmente junto ao vacúolo (Figura 18D). Pectinas não foram detectadas (Figuras 18A, C).

#### 4.7.5 Sinérgides

As sinérgides de *S. luzulaefolia* são maiores do que a oosfera e possuem forma de funil, sendo o ápice micropilar das células achatado (Figura 16A-C), onde 1/3 localiza-se no extremo micropilar do ginófito e os outros 2/3 no canal micropilar. A polarização das sinérgides é invertida em relação a oosfera, cujos vacúolos possuem conteúdo péptico, sendo a maior parte da célula preenchida por um denso citoplasma, onde compostos pépticos, polissacarídeos totais e proteínas são detectados (Figuras 16A-C, 17A, B, D, E, 21A-F). O núcleo, geralmente, localiza-se próximo ao vacúolo (Figura 16A). Junto a delimitação das células do aparelho oosférico não foram detectadas compostos pépticos ou proteínas (Figuras

17B, D, 21A-G). Contudo no ápice micropilar das sinérgides projeções de parede constituem o aparelho fibrilar (Figuras 16B, 17E, 21C).

O aparelho fibrilar está presente nas sinérgides como uma projeção homogênea da parede celular primária em direção ao citoplasma, de modo a ocupar o ápice micropilar das sinérgides, sempre em contato com a parede das células do obturador (Figuras 16A, B, 17E, 21C). Projeções digitadas não foram observadas. Quanto à constituição química, o aparelho fibrilar apresenta reação positiva para polissacarídeos totais e pectinas, porém a reação é relativamente fraca, principalmente quando comparada ao próprio citoplasma (Figuras 17E, 21B), ou com o aparelho fibrilar de *D. brasiliense* (Figuras 17E, G).

A maior porção das sinérgides de *D. brasiliense* é observada no interior do canal micropilar (Figuras 15A-C, 17G, I, 18B, D). As sinérgides possuem forma de funil (Figuras 15B, C, 17I, 18B). O citoplasma não apresenta pectinas em sua constituição, contudo proteínas e polissacarídeos totais foram identificados (Figuras 17G, H, 18A-D). As sinérgides apresentam um vacúolo volumoso na extremidade calazal, que contém pectinas e polissacarídeos totais (Figuras 17I, 18A-C). A parede celular é formada por compostos pectícos e polissacarídeos totais (Figuras 17G, H, 18A-C, F).

A porção micropilar das sinérgides de *D. brasiliense* é coberta pelo aparelho fibrilar que geralmente possui estrutura homogênea, mas projeções digitadas também podem ser observadas nessa estrutura (Figuras 15A, 17G). Vacúolos menores podem ou não estar presentes, espalhados pelo citoplasma e/ou próximos ao aparelho fibrilar (Figura 15A). O aparelho fibrilar é constituído por pectinas, proteínas, polissacarídeos totais (Figuras 17G, I, 18B).

#### **4.8 Formação do endotélio**

Em *S. luzulaefolia*, durante as fases iniciais da prófase I, a porção de células da epiderme interna do tegumento e da epiderme ventral funicular, que circundam o ginospórângio, passam de isobilaterais a alongadas radialmente (Figuras 8A-E). O alongamento celular torna-se mais pronunciado no paquíteno da prófase I (Figura 8F). Nesta espécie a parede tangencial externa funicular e tegumentar apresentam leve incremento parietal no início da prófase e são mais espessadas do que as demais (Figuras 8D, E). O

citoplasma apresenta-se denso e com vacúolos dispersos, e o núcleo é proeminente e denso (Figuras 8A-F).

Em *D. brasiliense* o mesmo grupo de células enfatizado acima já se apresenta levemente alongadas radialmente no início da prófase (Figura 9A, C). Suas paredes apresentam a mesma espessura, embora, a constituição química entre as paredes tangenciais e radiais seja diferente (Figuras 9A-F). As células possuem citoplasma denso, com pequenos vacúolos dispersos e núcleo denso (Figuras 9A, C, E, F).

Devido às características descritas acima para o grupo de células enfatizadas, se torna possível denominar as mesmas como endoteliais, as quais compõem o endotélio em parte tegumentar e parte funicular.

Em *D. brasiliense* durante a transição da esporogênese para a gametogênese observa-se crescimento radial das células endoteliais, além de proliferação por meio de divisões anticlinais (Figura 12A-G). Ao final deste processo as células endoteliais parecem menores do que na fase anterior devido crescimento acentuado do ginófito (Figura 12G, H).

Em *S. luzulaefolia* durante os estádios compreendidos pela esporogênese ocorre diferenciação celular percebida, principalmente, por meio do alongamento celular e vacuolação do citoplasma. O espessamento parietal, ocorrido no início durante a prófase, não se altera até o início do alongamento do ginósporo funcional (Figuras 10A-I).

Na condição trinucleada do ginófito de *S. luzulaefolia*, quando a epiderme nucelar foi perdida em parte do nucelo, as células endoteliais apresentam vacúolos maiores e espessamento parietal mais pronunciado, principalmente junto às porções média e micrópila do gametófito (Figura 10H). Nesta espécie tais células completam seu desenvolvimento no estágio de ginófito maduro, sendo bastante alongadas radialmente e com paredes tangenciais curtas, com núcleo conspícuo e, por vezes, contendo mais de um nucléolo, além de paredes celulares espessadas (Figura 16A-C). A parede tangencial externa apresenta-se mais espessada do que as demais (Figura 16A-C). As células endoteliais podem apresentar um ou dois grandes vacúolos, quando dois estão localizados nos flancos do núcleo, de modo que esse assume posição central na célula (Figura 16B-C). Quando apenas um vacúolo está presente este pode estar voltado para a parede tangencial interna ou para a parede tangencial externa (Figura 16C).

O endotélio, no ginófito maduro, em *D. brasiliense* possui células alongadas radialmente, com paredes celulares levemente espessadas, principalmente a parede tangencial externa, núcleo volumoso e denso e citoplasma denso com alguns vacúolos dispersos (Figuras 15A-C).

As células endoteliais de ambas as espécies apresentam paredes celulares de constituição pecto-celulósica (Figuras 17A-C, F, G, H, 18A-C, F, 21A, B, G) e vacúolos com substâncias pécticas (Figuras 17A-C, F-I).

Entre o ginófito e as células endoteliais uma evidente camada de cutícula está presente (Figuras 19B, C, D, 20A-C). Tal estrutura possui origem dupla, pois corresponde a união da cutícula das células endoteliais adnatas a cutícula das células nucelares que foram reabsorvidas durante o processo reprodutivo (Figura 20A-C).

O endotélio diferencia-se ao redor de todo o ginófito, onde permanece unisseriado e uninucleado durante todo o desenvolvimento, em ambas as espécies (Figuras 15A-D, 16A-C).

#### 4.9 Canal micropilar e estruturas funiculares

Em fases iniciais da prófase da meiose I da CMG observam-se, nas duas espécies, divisões periclinais das células do tegumento e do funículo localizadas na região micropilar proximal ao nucelo, ou seja, são das células presentes entre o obturador e o nucelo (Figuras 8A, B, 9D). Tais divisões continuam a ocorrer em estádios posteriores do desenvolvimento, acompanhando o crescimento do rudimento seminal.

No estágio de ginófito maduro as paredes celulares das células da região descrita acima, até quatro camadas distantes do canal micropilar são espessadas, tendo predominância de compostos pécticos (Figuras 15, 16, 17B, E, G, I). Essas células são relativamente alongadas longitudinalmente e possuem citoplasma mais denso em comparação com as células do seu entorno (Figuras 15, 16). Em *S. luzulaefolia* uma grande quantidade de grãos de amido é observada (Figuras 17A, B), ao contrário de *D. brasiliense* onde neste estágio os grãos foram totalmente consumidos (Figuras 17E, G-I). Cabendo salientar que em rudimentos seminais mais jovens os grãos de amido estão presentes nessa região em ambas as espécies.

O canal micropilar de *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense* é aberto durante todos os estádios do desenvolvimento (Figuras 8B, 9B, 12C, 17A, F, 19A, 20A).

Em *S. luzulaefolia* durante os estádios de desenvolvimento identifica-se um contínuo alongamento celular radial e espessamento da parede tangencial externa das células que se diferenciarão em obturador (Figuras 22A-C), principalmente das células mais próximas ao nucelo (Figuras 22A-C). O início do espessamento de parede é observado no estágio de CMG (Figura 22A). Ao final da ginospogênese as células do obturador são mais alongadas

radialmente, com espessamento da parede tangencial externa pronunciado, além de espessamento das paredes periclinais em menor escala, bem como estão presentes um ou mais vacúolos com conteúdo péctico e um núcleo conspícuo (Figura 22B).

No ginófito maduro o obturador apresenta células ainda mais alongadas radialmente e com espessamento de parede mais pronunciado e os vacúolos permanecem nas células (Figura 22C). Cabe ressaltar que a parede celular das células presentes no ápice do obturador são ligadas ao aparelho fibrilar (Figuras 16A, B, 17E, 21C, E). A parede celular das células do obturador é pécto-celulósica (Figuras 22E, F) e uma cutícula espessa também pode ser observada (Figuras 20A, 21D).

Em *D. brasiliense* no estágio de CMG as células que irão formar o obturador apresentam alongamento radial, mais pronunciado nas células próximas ao nucelo, e pequenos vacúolos dispersos pelo citoplasma (Figura 22H). Nos estádios compreendidos pela ginospogênese, tais células permanecem com a morfologia descrita acima, contudo entre o estágio de ginófito funcional e o estabelecimento do ginófito binucleado estas células desenvolvem espessamento da parede celular tangencial externa (Figura 22I). No ginófito maduro as células que compõem o obturador permanecem alongadas radialmente, com vacúolos pequenos dispersos pelo citoplasma e parede tangencial externa espessada (Figura 22J). Uma cutícula espessa pode ser observada externamente a parede celular das células do obturador (Figuras 19A, 22J). A parede celular é pécto-celulósica, o citoplasma possui reação positiva ao vermelho de rutênio e ao PAS (Figuras 22L, M, J), bem como apresenta grãos de amido dispersos (Figura 22M).

Grupamentos celulares com espessamentos parietais helicoidais e reticulados, próximos ao feixe vascular, podem ser observados da base funicular até a altura do obturador em ambas as espécies (Figuras 22G, J, L, M). Em *D. brasiliense* foi possível identificar que o número de células é maior, além disso, os espessamentos secundários apresentam reação positiva ao PAS (Figura 22M) e negativa aos demais testes realizados no presente estudo (Figura 22L).

#### 4.10 Feixe vascular

Em ambas as espécies quando o primórdio de rudimento seminal inicia mudança na simetria, antes do estabelecimento do nucelo, se observa um grupo de células alongadas longitudinalmente localizadas no centro do primórdio, tais células marcam o início da formação do feixe vascular (FV), cabendo salientar que as mesmas ainda não se encontram em contato com o FV do receptáculo. O contato do FV do primórdio com o receptáculo ocorre, no estágio de CA, onde as células progressivamente mais próximas à margem dorsal funiculares são estimuladas a diferenciar-se em células vasculares para que posteriormente possam acompanhar o alongamento tegumentar (Figuras 6B, D, 7E). Assim, em estágios posteriores do desenvolvimento, identifica-se uma curva no feixe vascular, demarcando o momento em que o mesmo passa de central para periférico no rudimento seminal (Figuras 6D, 8B, 9B, 12C, 17F). Salienta-se que o FV durante o desenvolvimento do rudimento seminal ultrapassa a região calazal e acompanha o crescimento do tegumento, de modo que é observado próximo ao ápice tegumentar na maturidade do rudimento seminal.



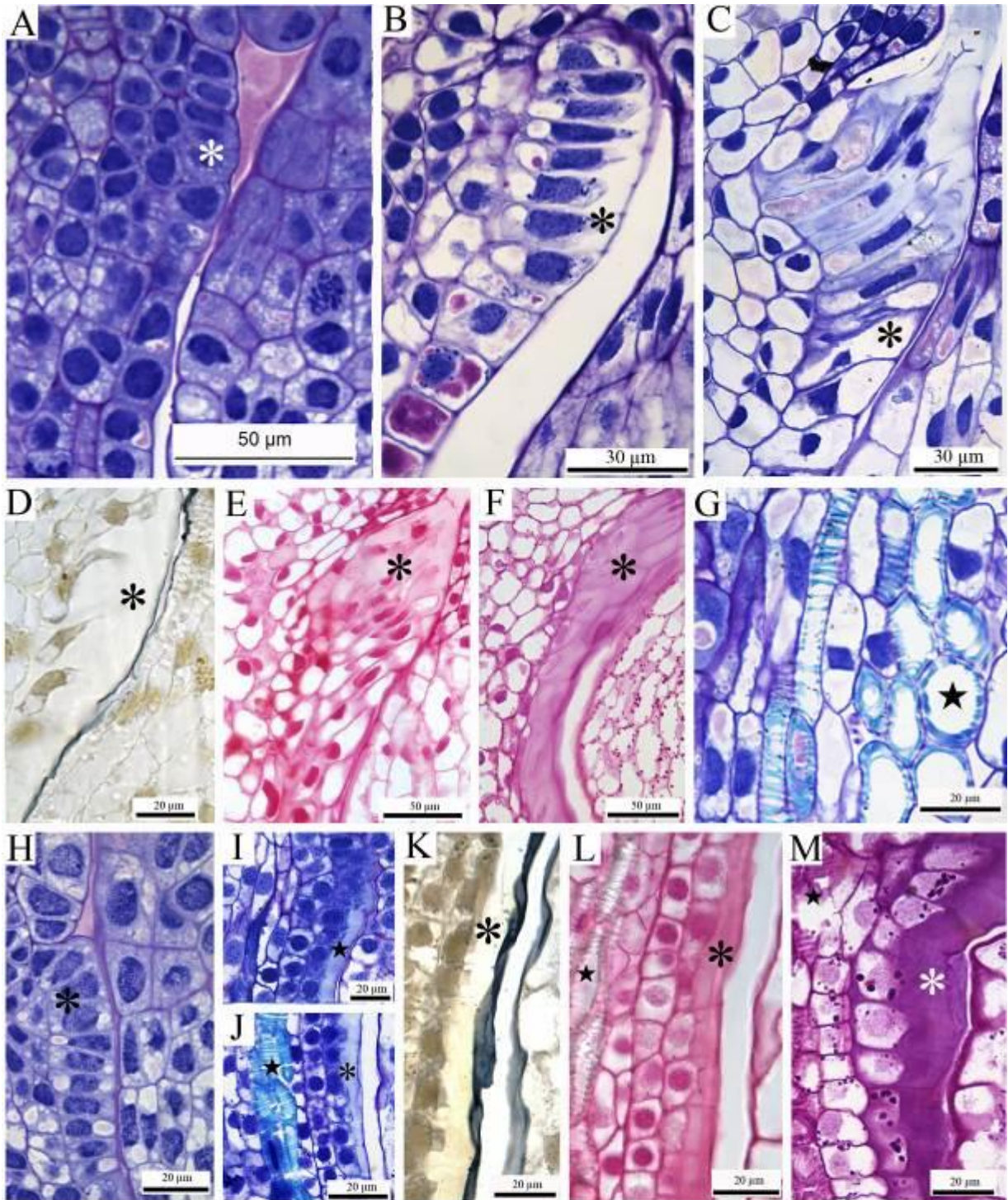


Figura 22 – A-M. Microscopia de luz, Obturador. A-G. *Slechtendalia luzulaefolia* Less. (Asteraceae). H-M. *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng.) Cabrera (Asteraceae). A. Início da diferenciação do obturador, estágio de Célula-mãe de ginósporos. B. Final da ginosporigênese. C. Ginófito maduro, células do obturador com alongamento radial e espessamento de parede pronunciados e presença de vacúolos. D. Camada cuticular no obturador. E. Obturador com reação positiva ao vermelho de rutênio. F. Obturador com reação positiva ao PAS. G. Presença de grupamentos celulares com espessamento parietal no funículo (estrela). H. Início da diferenciação do obturador, estágio de célula-mãe de ginósporos. I. Final da ginosporigênese. J. Ginófito maduro, células do obturador com alongamento radial e espessamento de parede pronunciados. K. Camada cuticular no obturador. L. Obturador com reação positiva e grupamentos celulares com espessamento parietal de reação negativa ao vermelho de rutênio. M. Obturador e grupamentos celulares com espessamento parietal de reação positiva ao PAS. [Asterisco: Obturador funicular, estrela: grupamentos celulares com espessamentos parietais helicoidais e reticulados].

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Características gerais

A presença de um único rudimento seminal anátropo, unitegmentado e tenuinucelado encontrado no presente estudo, é comum e esperado para Asteraceae (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Entretanto em *D. brasiliense* foi observada a presença de dois rudimentos seminais por lóculo, como relatado para diferentes espécies de Asteraceae como *Tagetes patula* L. (VENKATESWARLU; MAHESWARI DEVI, 1955), *Helianthus annuus* L. (GOTELLI; GALATI; MEDAN, 2008) e *Helichrysum rupestre* (Rafin.) DC. var. *messerii* Pignatti (VILLARI, 1987). Em *Helianthus annuus* L. foram encontrados ovários com mais de um lóculo (GOTELLI; GALATI; MEDAN, 2008). Ao serem analisados os relatos da variabilidade, se percebe que aspectos do desenvolvimento inicial são importantes, tendo sido descritos rudimentos seminais parcialmente fusionados em um mesmo lóculo, ou rudimentos seminais que compartilham apenas a região placentária, onde um encontrava-se em esporogênese e o outro em gametogênese, bem como exemplos de ovários com mais de um lóculo. Cabe salientar que a provável causa para tais variações morfológicas não foi relatada nos trabalhos.

### 5.2 Organogênese floral

Com relação as sequências organogênicas descritas para Asteraceae (HARRIS, 1995) as pétalas são, usualmente, as primeiras peças florais a surgir, seguidas de estames e, após, carpelos. O momento de surgimento do pápus (cálice) difere entre as espécies sendo, portanto, responsável pela variabilidade observada na família.

Segundo Funk et al. (2009) o clado basal de Asteraceae é constituído por Mutiseae (*sensu* Cabrera), Cardueae e Pertyeae (FUNK et al., 2009). O presente estudo aborda espécies, pertencentes à Mutiseae (*sensu* Cabrera), estas diferem em relação a sequência organigênica. *Dasyphyllum brasiliense* possui a mesma ordem de formação das peças florais de *Mutisia*

*coccinea* (Mutiseae), *Trixis chiapensis* e *T. inuleaea* (Nassauvieae), assim como, *S. luzulaefolia* possui sequência organogênica igual a *Ainsliaia áptera* (Pertyeae) (Tabela 3). Além destas espécies sabe-se que em *Acourtia runcinata* (Nassauvieae) a corola e o cálice surgem ao mesmo tempo seguidos pelo androceu e gineceu (Tabela 3). Sendo assim sugere-se que a sequência corola, androceu, cálice e gineceu seja considerada basal para Asteraceae e que variações deste estado de caráter, comum para a família (Tabela 3), aconteça ainda em espécies pertencentes ao clado basal.

Quanto a ordem de iniciação floral nos táxons mais derivados há muita variação, não podendo ser estabelecido um padrão nem mesmo para as tribos. Na tabela 3 pode-se observar que os táxons citados pertencentes a Aliança Heliantheae, em que a organogênese floral foi estudada, apresentam a sequência corola, androceu, cálice e gineceu, contudo não se pode determinar esta como sendo característica do grupo, pois Harris (1995) relata outras sequências de formação das peças florais em outras espécies da aliança.



Importante ressaltar que os trabalhos que abordam a ordem de formação das peças florais em Asteraceae são poucos quando comparados com o número de espécies existentes, sendo que em algumas tribos nenhuma espécie foi estudada, portanto para que conclusões filogenéticas sejam abordadas um incremento nos trabalhos organogênicos na família é necessário.

### **5.3 Formação do primórdio de rudimento seminal e ginosporogênese**

#### **5.3.1 Formação do primórdio de rudimento seminal**

Em Asteraceae estudos sobre a formação do primórdio de rudimento seminal não são usuais, sendo que quase a totalidade dos trabalhos embriológicos inicia no estágio da célula arquesporial em diferenciação ou já diferenciada. Deste modo pode ser citado apenas o trabalho com *Prenanthes brunoniana* que possui rudimento seminal trizonado (SOOD; THAKUR, 1985), o que não seria usual para rudimentos seminais tenuinucelados (BOUMAN, 1984).

**Tabela 3** - Organogênese floral, características do rudimento seminal e aspectos da ginosporigênese em Asteraceae.

Espécie	OF	Origem do tegumento	Nº CA	Nº CMG	Arranjo da tétrade	GF	Esporigênese	Referências
<b>BARNADESIOIDEAE</b>								
BARNADESIEAE								
<i>Dasyphyllum brasiliense</i>	C, K, A, G	SD	1[2]	1[2]		CL	Bispórica	Presente trabalho
<i>Schlechtendalia luzulaefolia</i>	C, A, K, G	D + SD	1[2]	1		CL	Monospórica	Presente trabalho
<b>PERTYOIDEAE</b>								
PERTYEAE								
<i>Ainsliaea áptera</i>	C, A, K, G	N	1	1	Linear	CL	Monospórica	Kapil; Sethi, 1962
<b>CICHORIOIDEAE</b>								
CICHORIEAE								
<i>Cichorium intybus</i>	n	N	1	1	Linear	CL	Monospórica	Chehregani; Mohsenzadeh; Ghanad, 2011
<i>Cicerbita alpina</i>	n	N	1	1	Linear	CL	Monospórica	Pullaiah; Lakshmi, 1984
<i>Gundelia tournefortii</i>	n	N	1[2]	1	Linear	CL	Monospórica	Ahlstrand, 1979c

Continua

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*\*: autor descreve a tétrade como tétrade de ginósporos centrais dispostos lado a lado. \*: A tétrade isobilateral corresponde à tétrade pareada. /: ou. [ ] ocasionalmente. ⊥: tétrade em forma de T invertido. A: androceu. C: corola. CA: célula arqueosporial. CMG: célula-mãe de ginósporos. CL: ginósporo calazal. D: tegumento dérmico. G: gineceu. GF: ginósporo funcional. K: cálice (pápus). M: ginósporo micropliar. Mult: arqueosporio multicelular. n: não mencionado. OF: ordem de formação das peças florais. SC: ginósporo subcalazal. SD: tegumento subdérmico. T: tétrade em forma de T. V: variável.

**Tabela 3** - Organogênese e algumas características do rudimento seminal e da ginosporigênese em Asteraceae.

Espécie	OF	Origem do tegumento	Nº CA	Nº CMG	Arranjo da tétrade	GF	Esporigênese	Referências
<b>CICHORIOIDEAE</b>								
CICHORIEAE								
<i>Hieracium caespitosum</i> (subgênero <i>brevipilum</i> )	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Yurukova-Grancharova; Robeva-Davidova; Vladimirov, 2006
<i>Hieracium transylvanicum</i> (subgênero <i>Hieracium</i> )	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Yurukova-Grancharova; Robeva-Davidova; Vladimirov, 2006
<i>Hieracium pavichii</i> (subgênero <i>Pilosella</i> )	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Yurukova-Grancharova; Robeva-Davidova; Vladimirov, 2006
<i>Helichrysum rupestre</i> var. <i>messerii</i> Pignatti	C, K, A, G	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Villari, 1987
<i>Lactuca sativa</i>	C,K-A,G	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Jones, 1927
<i>Launaea nudicaulis</i>	n	n	1 [2-8]	1	Linear	CL	Monospórica	Chikkannaiah; Hiremath, 1982
<i>Leontodon autumnalis</i>	n	n	1	1	linear/ Tríade linear	CL	Monospórica	Yurukova-Grancharova, 2004
<i>Prenanthes brunoniana</i>	n	L1,L2,L3	1	1	Linear	CL	Monospórica	Sood; Thakur, 1985

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*\*: autor descreve a tétrade como tétrade de ginósporos centrais dispostos lado a lado. \*: A tétrade isobilateral corresponde à tétrade pareada. /: ou. [ ] ocasionalmente. ⊥: tétrade em forma de T invertido. A: androceu. C: corola. CA: célula arqueosporial. CMG: célula-mãe de ginósporos. CL: ginósporo calazal. D: tegumento dérmico. G: gineceu. GF: ginósporo funcional. K: cálice (pápus). M: ginósporo micropliar. Mult: arqueosporio multicelular. n: não mencionado. OF: ordem de formação das peças florais. SC: ginósporo subcalazal. SD: tegumento subdérmico. T: tétrade em forma de T. V: variável.

**Tabela 3** - Organogênese e algumas características do rudimento seminal e da ginosporogênese em Asteraceae.

Espécie	OF	Origem do tegumento	Nº CA	Nº CMG	Arranjo da tétrade	GF	Esporogênese	Referências
<b>CICHORIEAE</b>								
<b>PLATYCARPHEAE</b>								
<i>Platycarpha carlinoides</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Ahlstrand, 1979c
<b>ASTEROIDEAE</b>								
<b>SENECIONEAE</b>								
<i>Crepis bithynica</i>	n	n	1	1	Linear	CL- [CL+M]	Monospórica	Yurukova-Grancharova; Robeva-Davidova; Vladimirov, 2006
<i>Emilia flammea</i>	n	n	1	1	Linear[T]	CL	Monospórica	Prakasa-Rao; Sundari; Narayana, 1979
<i>Emilia sonchifolia</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Pullaiah, 1983
<i>Gynura nítida</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Pullaiah, 1983
<i>Notonia grandiflora</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Pullaiah, 1983
<i>Senecio ambiguus</i>	n	n	1	1	T, ⊥	V	Monospórica	Gramuglio, 1981
<i>Senecio gibbosus</i>	n	n	1	1	Decussada	CL	Monospórica	Gramuglio, 1981
<i>Senecio tenuifolius</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Lakshmi; Pullaiah, 1987
<b>CALENDULEAE</b>								
<i>Calendula officinalis</i>	n	n	1/2	1	Linear	CL	Monospórica	Ao, 2007
<b>GNAPHALIEAE</b>								
<i>Anaphalis busna</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Pullaiah, 1979

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*\*: autor descreve a tétrade como tétrade de ginósporos centrais dispostos lado a lado. \*: A tétrade isobilateral corresponde à tétrade pareada. /: ou. [ ] ocasionalmente. ⊥: tétrade em forma de T invertido. A: androceu. C: corola. CA: célula arquesporiar. CMG: célula-mãe de ginósporos. CL: ginósporo calazal. D: tegumento dérmico. G: gineceu. GF: ginósporo funcional. K: cálice (pápus). M: ginósporo micropliar. Mult: arquespório multicelular. n: não mencionado. OF: ordem de formação das peças florais. SC: ginósporo subcalazal. SD: tegumento subdérmico. T: tétrade em forma de T. V: variável.

**Tabela 3** - Organogênese e algumas características do rudimento seminal e da ginosporigênese em Asteraceae.

Espécie	OF	Origem do tegumento	Nº CA	Nº CMG	Arranjo da tétrade	GF	Esporogênese	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>								
<b>ANTHEMIDEAE</b>								
<i>Chrysanthemum leucanthemum</i>	n	n	[1] 2-6	1-6	Linear	C-[SC]	Monospórica	Martin; Smith, 1955
<i>Chrysanthemum multicaule</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Deng et al., 2010
<i>Chrysanthemum viscosum</i>	n	n	1	1	Cenócito	-	Tetraspórica	Battaglia, 1951
<i>Cotula australis</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Davis, 1961
<i>Opisthopappus taihangensis</i>	n	n	1	1	Linear	M	Monospórica	Li et al., 2009
<b>ASTEREAE</b>								
<i>Aster novae-Angliae</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Chamberlain, 1895
<i>Brachycome ciliaries</i>	n	n	1/2	1	Díade não reduzida	CL	n	Davis, 1964
<i>Conyza stricta</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Sharma; Murty, 1978
<i>Felicia bergeriana</i>	n	n	1[2]	1	Linear	CL	Monospórica	Sharma; Murty, 1978
<i>Erigeron bonariensis</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Sharma; Murty, 1978
<i>Grindelia arizonica</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Howe, 1975
<i>Grindelia lanceolata</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Howe, 1975
<i>Grindelia stricta</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Howe, 1975
<i>Prionopsis ciliata</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Howe, 1975
<i>Solidago canadenses</i> var. <i>canadenses</i>	n	n	1	1	cenócito	-	Tetraspórica	Smith; Johnson, 1980

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*\*: autor descreve a tétrade como tétrade de ginósporos centrais dispostos lado a lado. \*: A tétrade isobilateral corresponde à tétrade pareada. /: ou. [ ] ocasionalmente. ⊥: tétrade em forma de T invertido. A: androceu. C: corola. CA: célula arquesporial. CMG: célula-mãe de ginósporos. CL: ginósporo calazal. D: tegumento dérmico. G: gineceu. GF: ginósporo funcional. K: cálice (pápus). M: ginósporo micropliar. Mult: arquespório multicelular. n: não mencionado. OF: ordem de formação das peças florais. SC: ginósporo subcalazal. SD: tegumento subdérmico. T: tétrade em forma de T. V: variável.

**Tabela 3-** Organogênese e algumas características do rudimento seminal e da ginospogênese em Asteraceae.

Espécie	OF	Origem do tegumento	Nº CA	Nº CMG	Arranjo da tétrade	GF	Esporogênese	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>								
<b>ASTEREAE</b>								
<i>Solidago graminifolia</i> var. <i>Nuttallii</i>	n	n	1	1	Linear	C[SC]	Monospórica	Smith; Johnson, 1980
<i>Xantisma texanum</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Berger; Feeley; Witkus, 1956
<b>INULEAE</b>								
<i>Blumea malabarica</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Pullaiah, 1979
<i>Blumea membranacea</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Pullaiah, 1979
<i>Helichrysum rupestre</i> var. <i>messerii</i> Pignatti	C, K, A, G	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Villari, 1987
<i>Lagascea mollis</i>	n	n	Mult	1	Linear	CL	Monospórica	Pullaiah, 1981
<i>Laggera pterodonta</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Pullaiah, 1979
<i>Vicoa auriculata</i>	n	n	1	1	Linear, isobilateral	CL	Monospórica	Pullaiah, 1979
<b>Aliança Heliantheae</b>								
<b>HELENIEAE</b>								
<i>Gaillardia picta</i>	n	n	1	1	cenócito	-	Tetraspórica	Venkateswarlu; Maheswari Devi, 1955

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*\*: autor descreve a tétrade como tétrade de ginósporos centrais dispostos lado a lado. \*: A tétrade isobilateral corresponde à tétrade pareada. /: ou. [ ] ocasionalmente. ⊥: tétrade em forma de T invertido. A: androceu. C: corola. CA: célula arquesporial. CMG: célula-mãe de ginósporos. CL: ginósporo calazal. D: tegumento dérmico. G: gineceu. GF: ginósporo funcional. K: cálice (pápus). M: ginósporo micropliar. Mult: arquespório multicelular. n: não mencionado. OF: ordem de formação das peças florais. SC: ginósporo subcalazal. SD: tegumento subdérmico. T: tétrade em forma de T. V: variável.



**Tabela 3** - Organogênese e algumas características do rudimento seminal e da ginosporogênese em Asteraceae.

Espécie	OF	Origem do tegumento	Nº CA	Nº CMG	Arranjo da tétrade	GF	Esporogênese	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>								
<b>Aliança Heliantheae</b>								
<b>COREOPSIDEAE</b>								
<i>Bidens pilosa</i>	C, A, K, G	n	Mult	1	Linear	CL	Monospórica	Maheswari Devi, 1963
<i>Coreopsis tinctoria</i>	C, A, K, G	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Maheswari Devi, 1963
<i>Cosmos sulphureus</i>	C, A, K, G	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Maheswari Devi, 1963
<b>TAGETEAE</b>								
<i>Flaveria australasica</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Venkateswarlu; Maheswari Devi, 1955
<i>Tagetes patula</i>	n	n	1	1	Linear	C/C+M	Monospórica	Venkateswarlu; Maheswari Devi, 1955
<b>HELIANTHEAE</b>								
<i>Ambrosia artemissifolia</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Chen et al., 2013
<i>Ambrosia trifida</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Chen et al., 2013
<i>Blainvillea rhomboidea</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Rajan, 1971
<i>Eclipta erecta</i>	C, A, K, G	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Bhargava, 1934
<i>Helianthus annuus</i>	C, A, K, G	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Maheswari Devi, 1963
<i>Helianthus debilis</i>	C, A, K, G	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Maheswari Devi, 1963
<i>Macraea laricifolia</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Eliasson, 1972

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*\*: autor descreve a tétrade como tétrade de ginósporos centrais dispostos lado a lado. \*: A tétrade isobilateral corresponde à tétrade pareada. /: ou. [ ] ocasionalmente. †: tétrade em forma de T invertido. A: androceu. C: corola. CA: célula arquesporial. CMG: célula-mãe de ginósporos. CL: ginósporo calazal. D: tegumento dérmico. G: gineceu. GF: ginósporo funcional. K: cálice (pápus). M: ginósporo micropliar. Mult: arquespório multicelular. n: não mencionado. OF: ordem de formação das peças florais. SC: ginósporo subcalazal. SD: tegumento subdérmico. T: tétrade em forma de T. V: variável.

**Tabela 3** - Organogênese e algumas características do rudimento seminal e da ginosporogênese em Asteraceae.

Espécie	OF	Origem do tegumento	Nº CA	Nº CMG	Arranjo da tétrade	GF	Esporogênese	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>								
<b>Aliança Heliantheae</b>								
<b>HELIANTHEAE</b>								
<i>Rudbeckia bicolor</i>	n	n	1	1	Cenócito	-	Tetraspórica	Maheshwari; Srinivasan, 1944
<i>Siegesbeckia orientalis</i>	n	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Misra, 1965
<i>Spilanthes acmilla</i>	n	n	1[2]	1	Pareada**	1[2]	Monospórica	Rajan, 1974
<i>Tithonia rotundifolia</i>	n	n	1	1	Linear, isobilateral*	CL	Monospórica	Pullaiah, 1978
<i>Xanthium strumarium</i>	C, A, K, G	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Maheswari Devi, 1963
<i>Zinnia angustifolia</i>	n	n	Mult	1	Linear	CL	Monospórica	Pullaiah, 1981
<i>Zinnia pauciflora</i>	C, A, K, G	n	1	1	Linear	CL	Monospórica	Maheswari Devi, 1963
<b>MILLERIEAE</b>								
<i>Galinsoga parviflora</i>	n	n	1	1	Linear	1[2]	Monospórica	Pullaiah, 1981

### Conclusão

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*\*: autor descreve a tétrade como tétrade de ginósporos centrais dispostos lado a lado. \*: A tétrade isobilateral corresponde à tétrade pareada. /: ou. [ ] ocasionalmente. ⊥: tétrade em forma de T invertido. A: androceu. C: corola. CA: célula arquesporial. CMG: célula-mãe de ginósporos. CL: ginósporo calazal. D: tegumento dérmico. G: gineceu. GF: ginósporo funcional. K: cálice (pápus). M: ginósporo micropliar. Mult: arquespório multicelular. n: não mencionado. OF: ordem de formação das peças florais. SC: ginósporo subcalazal. SD: tegumento subdérmico. T: tétrade em forma de T. V: variável.

O potencial ontogenético do primórdio ovular trizonado é maior que o bizonado (BOUMAN, 1984), pois a terceira camada de células do meristema floral é mais profunda e conseqüentemente possui maior número de células. Tais células irão se dividir e formarão um maior estoque celular que será utilizado na formação do rudimento seminal. Por esse motivo rudimentos seminiais maiores são geralmente associados a primórdios de rudimentos seminiais trizonados e rudimentos seminiais bizonados são conseqüentemente pequenos (BOUMAN, 1984).

Neste contexto rudimentos seminiais crassinucelados são, geralmente, oriundos de primórdios seminiais trizonados e os tenuinucelados de bizonados, o que vai de encontro aos resultados observados para *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense*, onde os rudimentos seminiais são tenuinucelados e divisões na camada subdérmica e na terceira camada foram observadas, típico de rudimentos seminiais trizonados. Cabe salientar que apesar de tenuinucelados os rudimentos seminiais destas espécies são grandes e possuem um tegumento massivo, sendo assim as divisões periclinais em duas camadas subdérmicas seria uma alternativa para aumentar o estoque celular necessário a construção do rudimento seminal. Portanto, o modo de iniciação do rudimento seminal estaria associado ao tamanho do rudimento seminal e não a um padrão de desenvolvimento inicial.

### 5.3.2 Ginosporogênese

Segundo Pozner (2001) meiócitos potenciais, ou seja, células com características de expressão da PCD até a fase de interfase pré-meiótica, podem ser chamadas de células arquesporiais (CA) ou arquespório. Uma ou duas células subepidérmicas nucleares do primórdio de rudimento seminal de *D. brasiliense* e *S. luzulaefolia* apresentam características de expressão de PCD, tais como, posição subdérmica no final micropilar do rudimento seminal e tamanho celular, densidade citoplasmática, núcleo e nucléolos maiores.

Em Asteraceae a presença de tecido arquesporial unicelular é usual (PULLAIAH, 1984; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992) (Tabela 3), contudo, não raramente, uma ou duas células arquesporiais podem ser encontradas no primórdio de rudimento seminal como demonstrado na tabela 3 por uma espécie de Cichorioideae e duas espécies de Asteroideae, além de *Anthemis ruthenica* Bieb. (Asteroideae), *Ormenis mixta* (L.) Dum. (Asteroideae) (HARLING, 1950), *Chrysanthemum millefoliatum* L. (Cichorioideae)

(HARLING, 1951a), *Erigeron acer* L. (Asteroideae) (HARLING, 1951b). Outras variações como de uma até seis células arquesporais foram relatadas para *Chrysanthemum leucanthemum* (MARTIN; SMITH, 1955) e um arquespório múltiplo para três espécies de Asteroideae (tabela 3). Evolutivamente, se considera que o arquespório unicelular derivou de uma condição multicelular ancestral (CRONQUIST, 1988), deste modo o arquespório multicelular presente em algumas asteráceas, consideradas derivadas, pode ser uma reversão. Segundo Herr (1984) o número de células arquesporais figura como um importante caractere taxonômico, contudo em Asteraceae não foi possível observar padrões deste caractere nas diferentes subfamílias.

Nas espécies descritas acima, apenas em *C. leucanthemum* foi observada a presença de uma a seis CMG (MARTIN; SMITH, 1955), nas demais uma única célula arquesporial diferencia-se em CMG (Tabela 3) (AHLSTRAND, 1979c; DAVIS, 1964; HARLING, 1951a; HARLING, 1951b), assim como observado em *S. luzulaefolia*. Tal afirmação se deve ao fato de que não foi observado em nenhum nucelo duas CMG, ou duplas de díades ou tétrades, ou, ainda, dois ginófitos. Em *D. brasiliense*, quando presente um arquespório bicelular, as duas CA podem diferenciar-se em CMG, contudo não foram encontrados rudimentos seminiais em estágio posterior do desenvolvimento com duplas de díades binucleadas ou dois ginófitos. Nucelo com arquespório uni ou bicelular, e que diferencia duas CMG, foi relatado para *Erigeron uniflorus* L. (HARLING, 1951b).

É comum em asteráceas com arquespório multicelular, o aparecimento de várias CMG que podem corresponder ao número de CA antes presentes (HARLING, 1950; HARLING, 1951a; HARLING, 1951b; MARTIN; SMITH, 1955). A quantidade de CMG varia, tanto entre as espécies, como entre os rudimentos seminiais da mesma espécie (HARLING, 1950; HARLING, 1951a; HARLING, 1951b).

Estabelecer quando uma CA assume padrões morfológicos diferenciados e passa a funcionar como CMG, não é fácil, contudo Pozner (2001) conseguiu solucionar este problema, pois estabelece que quando o meiócito potencial (célula arquesporial) atinge o final da fase G2 da intérfase pré-meiótica passa a ser chamado de meiócito (célula-mãe de ginósporo). O referido autor levou em consideração o fato deste momento do desenvolvimento ser o ponto de não reversão da meiose, também chamado de ponto de compromisso da meiose (ITO; TAKEGAMI, 1982; NINNEMANN; EPEL, 1973). Ressalta-se, ainda, que Pozner (2001) relata a não possibilidade de identificar as fases do ciclo celular no contexto dos estudos histológicos usuais, sendo possível apenas identificar os meiócitos maduros (CMG) já em prófase I ou em fase posterior da meiose I. Portanto, no presente

trabalho, foram designados como CMG os meiócitos que se encontravam nas referidas fases. Salienta-se que indiferente do tipo de rudimento seminal o crescimento celular da CMG é marcante, quando comparada com a CA. Segundo RAGHAVAN (1997), a expansão celular ocorrida é produto da multiplicação de organelas que causam crescimento citoplasmático, havendo ainda um rearranjo das mesmas, de modo que a célula torna-se polarizada, similar ao descrito em *Zea mays* L. (RUSSELL, 1979) e em *Ginkgo biloba* L. (STEWART; GIFFORD, 1967), onde grandes quantidades de retículo endoplasmático e poucos plastídios e mitocôndrias foram encontrados na metade micropilar da CMG e a metade calazal apresentava distribuição contrária de organelas, ou seja, grandes quantidades de plastídeos e mitocôndrias e pouca quantidade de retículo endoplasmático.

A literatura demonstra que todas as CMG podem sofrer meiose, bem como somente algumas, ou uma única, onde as demais CMG degeneram (HARLING, 1950; MAHESHWARI, 1950; HARLING, 1951a; HARLING, 1951b; MARTIN; SMITH, 1955). Ressalta-se ainda que em *Chrysanthemum leucanthemum* L. (MARTIN; SMITH, 1955) a meiose é heterocrônica e que ao final deste evento as CMG com desenvolvimento mais rápido originam esporos e as demais sofrem processo de morte celular. Nesta espécie mais de um esporo pode tornar-se funcional, contudo apenas um avança nos estádios de desenvolvimento e origina um ginófito (MARTIN; SMITH, 1955). Nas demais espécies de Asteraceae com arqueosporio múltiplo, independentemente do estádio em que a morte celular ocorre, um único esporo torna-se funcional e forma o ginófito (HARLING, 1950; HARLING, 1951a; HARLING, 1951b).

A meiose I é desigual nas duas espécies estudadas, sendo assim, o ginósporo proximal da díade é sempre maior. A meiose II de *S. luzulaefolia* também é desigual, sendo o ginósporo calazal relativamente maior. Tal característica é relevante, já que o ginósporo de maior volume é o que irá germinar e originará um ginófito. A meiose I em *Sonchus asper* (L.) Hill e *Sonchus arvensis* L. usualmente forma duas células iguais, contudo algumas díades apresentaram ginósporo calazal maior (KAUL; DATHAN; SINGH, 1975). Segundo Herr (1984) o tamanho relativo dos ginósporos é uma característica importante taxonomicamente.

A estrutura em clava da região proximal do ginósporo calazal de *D. brasiliense* é resultado do crescimento da CA entre três células nucleares, esta região é comum à parede celular das três células, sendo assim, tal morfologia é apenas acentuada com o crescimento da CMG. Salienta-se que o pareamento dos núcleos do ginósporo calazal da díade de ginósporos é possível devido à estrutura em clava, além da meiose desigual, pelo maior volume que estas proporcionam no sentido axial. Como o eixo axial do ginósporo calazal é menor o espaço para

os dois núcleos é maior no sentido radial, portanto estes se apresentam alinhados. *Chrysanthemum anethifolium* Brouss. Ex WILLD., *C. foeniculaceum* (Willd.) Seud, *C. jacobaeifolium* (Sch. Bip.) Christ, *C. webbii* Masf. e *C. rubellum* Sealy (HARLING, 1951a) e *Erigeron frigidus* Boiss e *E. glabellus* Nutt. (HARLING, 1951b) também apresentam díades de ginósporos binucleados, contudo os núcleos do ginósporo micropilar e os núcleos do ginósporo calazal apresentam-se pareados (HARLING, 1951a; HARLING, 1951b). Os núcleos dos ginósporos de uma das díades binucleadas de *C. frutescens* L. são pareados e na outra díade são quase alinhados (HARLING, 1951a). *Aster salguginosus* Richards, apresenta três ginósporos, sendo o calazal e o mediano uninucleados e o micropilar binucleado, com arranjo dos núcleos pareados (HARLING, 1951b). Cabe salientar que em todas as espécies descritas acima a meiose I origina dois ginósporos de igual tamanho (HARLING, 1951a; HARLING, 1951b), diferente de *D. brasiliense*.

A divisão meiótica transversal e citocinética da CMG de *S. luzulaefolia* forma uma tétrade linear de ginósporos, típica de Asteraceae (PULLAIAH, 1984; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992) (Tabela 3). Tétrades pareadas também foram observadas em alguns esporângios de *S. luzulaefolia*, devido à divisão meiótica oblíqua em ambos os ginósporos da díade. Pullaiah (1978a, 1979) nomeia tal tétrade como isobilateral, contudo Maheshwari, (1950) não utiliza um termo para identificar as tétrades com ginósporos centrais localizados lado a lado, assim como Rajan (1974) quando relatou a presença deste tipo de tétrade de ginósporos em *Spillanthes acmilla* Murr., sendo assim para facilitar nomeamos tal estrutura como tétrade pareada, em referência aos ginósporos centrais que encontram-se lado a lado. A presença usual de tétrades lineares, com relatos da presença de tétrades pareadas também foi observada em *Tithonia rotundifolia* Blake (PULLAIAH, 1978a) e *Vicoa auriculata* Cass (PULLAIAH, 1979), já a presença eventual de tétrades em forma de “T”, na família, foi descrita para espécies de Asteroideae somente como demonstrado na tabela 3, além de *Chrysocoma coma-aurea* L. (HARLING, 1951b). Cabe ressaltar também que *Sonchus ambiguus* (Biv.) DC. apresenta tétrades em forma de “T” e outras em forma de “⊥” e que em *S. gibbosus* (Guss.) DC foram observadas tétrades decussadas (GRAMUGLIO et al., 1983), sendo que ambas as espécies também estão inseridas na subfamília Asteroideae.

#### 5.4 Formação e estrutura do tegumento

*Dasyphyllum brasiliense* e *Schlechtendalia luzulaefolia* apresentam um único tegumento, atributo usual para Asteraceae, bem como para Sympetaleae (MAHESHWARI, 1950; BOUMAN, 1994; JUDD et al., 2009; ENDRESS, 2011). O tegumento é assimétrico, característica inédita para a família. Os rudimentos seminais que apresentam o tegumento externo assimétrico, sendo denominados, portanto, semi-anelares, são comuns em táxons considerados primitivos como em Nymphaeales (YAMADA; IMAICHI; KATO, 2001). Cabe salientar que possivelmente esta característica não tenha sido descrita para outra espécie da família devido à ausência de trabalhos que abordem o desenvolvimento do tegumento, desde a sua origem, pois na maturidade do rudimento seminal a projeção do funículo na região entre o ginófito e o obturador lembra um lobo tegumentar. Em *Helianthus annuus* foi descrito um tegumento envolvendo todo o ginófito, bem como formando todo o canal micropilar (YAN; YANG; JENSEN, 1991), nas demais espécies estudadas do ponto de vista embriológico (tabela 3, 4) o lobo ventral do tegumento não é descrito, mas aborda-se o endotélio sempre como oriundo apenas da epiderme interna do tegumento.

Segundo Bouman (1984), existem três modos para a formação de um único tegumento. O mais simples seria a supressão do desenvolvimento de um dos tegumentos (interno ou externo), o segundo modo seria a fusão dos primórdios tegumentares, que acontece quando a formação dos dois tegumentos inicia ao mesmo tempo, e no terceiro modo, denominado ‘integumentary shifting’, que ocorre em rudimentos seminais com tegumento interno dérmico e tegumento externo subdérmico. O primeiro e o segundo caminhos para a unitegmia correspondem as duas diferentes formas de desenvolvimento descritas por Endress (2011) que resultam em rudimentos seminais unitegmentados.

Para alguns autores a quantidade de tegumentos indica a posição evolutiva de uma família, onde a unitegmia está associada a famílias simpétalas e a bitegmia às dicotiledôneas polipétalas (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Ressalta-se que Endress (2011) correlaciona a condição unitégmica filogeneticamente, onde em angiospermas basais a unitegmia seria resultado da redução ou perda de um dos tegumentos, provavelmente o externo (IGERSHEIM; ENDRESS, 1998) e em angiospermas derivadas, como as asterídeas e algumas outras eudicotiledôneas, o único tegumento seria resultado de uma estrutura evolutivamente complexa em que ambos os tegumentos participam, embora não possam ser distinguíveis morfológicamente (ENDRESS, 2011).

Seguindo as rotas descritas por Bouman (1994), para unitegmia, o tegumento de ambas as espécies estudadas enquadram-se no segundo caminho. Cabe salientar que o autor relata que o tegumento apresenta-se massivo, característica comum ao tegumento de *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense*, quando originado por meio de fusão de dois tegumentos. Neste contexto podemos classificar também ambos os tegumentos como multiplicativos, pois eles aumentam em tamanho durante o desenvolvimento do rudimento seminal (CORNER, 1976).

A fusão dos dois tegumentos explicaria o motivo de rudimentos seminais anátropos apresentarem apenas um tegumento, pois como defendido por Endress (2011) a curvatura do rudimento seminal e a bitegmia estão funcionalmente ligados, sendo o tegumento externo o responsável pela curvatura.

Cabe salientar que a direção de crescimento do tegumento em *D. brasiliense* e *S. luzulaefolia* está associada com o reduzido espaço locular que orienta o crescimento e morfologia final do rudimento seminal.

## 5.5 Estrutura do nucelo

Endress (2011) relata que o melhor estágio para a determinação da estrutura do nucelo é a prófase da meiose da CMG, já que os tecidos nucelares ainda estão preservados, sendo assim, a estrutura nucelar, no presente estudo foi caracterizada neste período. Observou-se que, nas duas espécies, a CMG localiza-se subdermicamente, deste modo o rudimento seminal de ambas as espécies pode ser classificado como tenuinucelado (MAHESHWARI, 1950; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Em ambas as espécies o nucelo pode ser caracterizado como tenuinucelado incompleto (ENDRESS, 2011), apesar de o nucelo de *S. luzulaefolia* ser relativamente menor ao nucelo de *D. brasiliense*. A literatura cita o rudimento seminal de Asteraceae como tenuinucelado apenas (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992), contudo sugere-se uma nova avaliação do espessamento nucelar, nas espécies da família, para classificá-lo conforme Endress (2011).



## 5.6 Determinação do ginósporo funcional

Os fatores que determinam a escolha do ginósporo funcional ainda não são bem conhecidos (BHOJWANI; SOH, 2001), mas acredita-se que dentre os prováveis fatores a presença da calose seja importante na determinação dos ginósporos abortivos (RODKIEWICZ, 1970), o rompimento das conexões citoplasmáticas de um ginósporo abortivo com o outro, bem como com as células nucelares (RUSSELL, 1979) e polarização citoplasmática, mais pronunciada em espécies monospóricas e bispóricas, onde existem produtos mitóticos abortivos (BHOJWANI; SOH, 2001), lembrando que tal polarização ocorre na CMG, posteriormente esta sofre meiose e como consequência o conteúdo citoplasmático dos ginósporos é distribuído de forma desigual. Em *Zea mays* L. (RUSSELL, 1979) e em *Ginkgo biloba* L. (STEWART; GIFFORD, 1967) os ginósporos abortivos apresentam uma grande quantidade de retículo endoplasmático e o ginósporo funcional grandes quantidades de plastídeos e mitocôndrias.

O ginósporo calazal é o funcional na maioria das asteráceas (Tabela 3) (PULLAIAH, 1984), embora em *Crepis bithynica* por vezes o calazal e o micropilar tornam-se funcionais (YURUKOVA-GRANCHAROVA; DIMITROVA; VLADIMIROV, 2006). Em *Senecio ambiguus* (GRAMUGLIO, 1981), *Spilanthes acmilla* (RAJAN, 1974) e *Galinsoga parviflora* (PULLAIAH, 1981) o ginósporo funcional é variável, em *Chrysanthemum leucanthemum* às vezes é o ginósporo subcalazal (MARTIN; SETHI, 1955), *Opisthopappus taihangensis* é o micropilar (LI et al., 2009), *Solidago graminifolia* var. *Nuttalli* é o calazal ou o subcalazal (SMITH; JOHNSOM, 1980) e em *Tagetes patula* o ginósporo funcional é calazal ou o calazal e o micropilar (VENKATESWARLU; MAHESHWARI, 1955).

## 5.7 Ginogametogênese

Segundo Pullaiah (1984), Asteraceae é a família mais interessante, do ponto de vista embriológico, pois sete tipos diferentes de desenvolvimento do ginófito foram descritos para a mesma. Apesar de a maioria apresentar um ginófito monospórico do tipo *Polygonum*, os ginófitos de origem bispórica do tipo *Allium* e *Endymion* e os tetraspóricos *Fritillaria*, *Adoxa* e *Peperonia* também já foram descritos na família (PULLAIAH, 1984) (Tabela 4).

Os tipos monospórico, bispórico e tetraspórico de origem do ginófito são diferenciados pelo número de núcleos presentes no ginósporo funcional, sendo respectivamente, um, dois e quatro (MAHESHWARI, 1950).

*S. luzulaefolia* possui ginófito de origem monospórica do tipo *Polygonum*. Há dois tipos de ginófitos de origem monospórica, o 8-nucleado e o 4-nucleado, sendo o primeiro o mais comum nas angiospermas, conhecido como *Polygonum* e originado após três ciclos mitóticos que geram 8 núcleos (MAHESHWARI, 1950). Cabe salientar que os núcleos calazais formam três antípodas, os micropilares a oosfera e as sinérgides e os centrais a célula média (MAHESHWARI, 1950).

O tipo *Allium* foi observado no presente estudo para *D. brasiliense*, bem como para outras espécies de Asteraceae como *Ammobium alatum* R.Br. (DAVIS, 1962b), *Chrysanthemum* spp. (HARLING, 1951a) e *Erigerum* spp. (HARLING, 1951b). Quando, após meiose, dois ginósporos binucleados são formados e o calazal torna-se funcional, sofrendo dois ciclos mitóticos e dando origem a um ginófito 8-nucleado um ginófito de origem bispórica do tipo *Allium* é formado (MAHESHWARI, 1950). Neste tipo de desenvolvimento o ginófito maduro possui a mesma organização do tipo *Polygonum* (MAHESHWARI, 1950).

Segundo a filogenia de Urtubey e Stuessy (2001) para Barnadesioideae, que abrange tanto dados moleculares como morfológicos florais, *Dasyphyllum* possui posição derivada na subfamília, sendo assim a presença de um ginófito do tipo *Allium* em *D. brasiliense*, assim como nas demais espécies citadas, poderia ser mais um caractere que corrobora com tal resultado. Cabe salientar que o ginófito bispórico é considerado derivado em relação ao tipo monospórico (CRONQUIST, 1988).

Nas espécies do presente estudo a degeneração da epiderme nucelar ocorre durante o estágio de ginósporo funcional e início da gametogênese, sendo influenciada pela vacuolação típica da célula reprodutiva durante este momento. Pullaiah (1984) descreve o mesmo como característico de Asteraceae e acrescenta que o ápice micropilar do ginósporo libera enzimas que quebram a lamela média existente entre o ginósporo e a epiderme nucelar. O rompimento da epiderme nucelar ocorre pelo momento do primeiro ciclo mitótico do ginófito e ocorre primeiramente na região micropilar, sendo observada uma progressiva degeneração da epiderme nucelar em direção ao ápice calazal (PULLAIAH, 1984). Em *D. brasiliense* no estágio binucleado a epiderme nucelar apresenta-se rompida e em *S. luzulaefolia* este estágio não foi observado, mas a epiderme nucelar já apresentava-se rompida

**Tabela 4** – Padrão de desenvolvimento do ginófito e algumas características do ginófito maduro em Asteraceae.

Espécie	Padrão de desenvolvimento do ginófito	AF	Nº de células/núcleos antipodais	Arranjo das antípodas/núcleos	Célula média	Forma da oosfera	Forma das sinérgides	Referências
<b>BARNADESIOIDEAE</b>								
BARNADESIEAE								
<i>Dasyphyllum brasiliense</i>	Bisp. do tipo <i>Allium</i>	+	3/1	Horizontal	ns	pera	funil/ápice arredondado*	Presente estudo
<i>Schlechtendalia luzulaefolia</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	-	3/1	⊥	ns	pera	funil/ápice achatado*	Presente estudo
<b>PERTYOIDEAE</b>								
PERTYEAE								
<i>Ainsliaea aptera</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3-1	n	n	n	bico	Kapil; Sethi, 1962
<b>CICHORIOIDEAE</b>								
CICHORIEAE								
<i>Cichorium intybus</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	n	ns	n	n	Chehregani; Mohsenzade; Ghanad, 2011
<i>Cicerbita alpina</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	Similar ao AP	ns	n	gancho	Pullaiah; Lakshmi, 1984
<i>Gundelia tournefortii</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	v	n	n	n	Ahlstrand, 1979c

Continua

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*: sinérgide estende-se para o interior do canal micropilar. \*\*: antes da degeneração das antípodas. -: ausente. +: presente. AF: aparelho fibrilar. AP: aparelho oosférico. Bisp.: bispórico. Monosp.: monospórico. n: não mencionado. np: núcleo polar. ns: núcleo secundário. v: variável.

**Tabela 4** – Padrão de desenvolvimento do ginófito e algumas características do ginófito maduro em Asteraceae.

Espécie	Padrão de desenvolvimento do ginófito	AF	Nº de células/núcleos antipodais	Arranjo das antípodas /núcleos	Célula média	Forma da oosfera	Forma das sinérgides	Referências
<b>CICHORIOIDEAE</b>								
CICHORIEAE								
<i>Hieracium caespitosum</i> (subgênero <i>brevipilum</i> )	Monosp.	+	3/1	“T”	ns	pera	pera	Yurukova-Grancharova; Robeva-Davidova; Vladimirov, 2006
<i>Hieracium transylvanicum</i> (subgênero <i>Hieracium</i> )	Monosp.	+	3/1	“T”	ns	pera	pera	Yurukova-Grancharova; Robeva-Davidova; Vladimirov, 2006
<i>Lactuca sativa</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	Linear/ cúpula	ns	n	n	Jones, 1927
<i>Launaea nudicaulis</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	+	3/1	Triangular /linear	ns	n	gancho	Chikkannaiyah; Hiremath, 1982
<i>Leontodon autumnalis</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	Linear/ ”T”	ns	pera	Cilíndricas a piriformes	Yurukova-Grancharova, 2004
<i>Prenanthes brunoniana</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/n	n	ns	n	n*	Sood; Thakur, 1984
<b>ARCTOTIDEAE</b>								
<i>Platycarpha carlinoides</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	n	n	n	n*	Ahlstrand, 1979c

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*: sinérgide estende-se para o interior do canal micropilar. \*\*: antes da degeneração das antípodas. -: ausente. +: presente. AF: aparelho fibrilar. AP: aparelho oosférico. Bisp.: bispórico. Monosp.: monospórico. n: não mencionado. np: núcleo polar. ns: núcleo secundário. v: variável.

**Tabela 4** – Padrão de desenvolvimento do ginófito e algumas características do ginófito maduro em Asteraceae.

Espécie	Padrão de desenvolvimento do ginófito	AF	Nº de células/núcleos antipodais	Arranjo das antípodas /núcleos	Célula média	Forma da oosfera	Forma das sinérgides	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>								
<b>SENECIONEAE</b>								
<i>Crepis bithynica</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	+	3/1	“T”/linear	ns	pera	Pera/cilíndrica	Yurukova-Grancharova; Dimitrova, 2006
<i>Crepis capillaris</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	%	n	n	n	Frasco	Frasco*	Kuroiwa, 1989
<i>Emilia flammea</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	n	ns	n	n	Prakasa-Rao; Sundari, Narayana, 1979
<i>Emilia sonchifolia</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3-4/1-n	“T”	ns	n	pera	Pullaiah, 1983
<i>Gynura nítida</i>	Tetrasp. do tipo <i>Fritillaria</i>	n	2-3/1-n	“T”	ns	n	gancho	Pullaiah, 1983
<i>Notonia grandiflora</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2-3/1-n	“T”	ns	n	gancho	Pullaiah, 1983
<i>Senecio ambiguus</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	+	12/n	n	ns	n	n	Gramuglio, 1981
<i>Senecio gibbosus</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	-	6/n	n	ns	n	n	Gramuglio, 1981
<i>Senecio tenuifolius</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	linear	ns	n	gancho	Lakshmi; Pullaiah, 1987

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*: sinérgide estende-se para o interior do canal micropilar. \*\*: antes da degeneração das antípodas. -: ausente. +: presente. AF: aparelho fibrilar. AP: aparelho oosférico. Bisp.: bispórico. Monosp.: monospórico. n: não mencionado. np: núcleo polar. ns: núcleo secundário. v: variável.

**Tabela 4** – Padrão de desenvolvimento do ginófito e algumas características do ginófito maduro em Asteraceae.

Espécie	Padrão de desenvolvimento do ginófito	AF	Nº de células/núcleos antipodais	Arranjo das antípodas/núcleos	Célula média	Forma da oosfera	Forma das sinérgides	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>								
CALENDULEAE								
<i>Calendula officinalis</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	+	3/1	n	ns	n	n*	Ao, 2007
GNAPHALIEAE								
<i>Anaphalis busna</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	n	ns	n	pera	Pullaiah, 1979
ANTHEMIDEAE								
<i>Chrysanthemum leucanthemum</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2/n	n	n	n	n*	Martin; Smith, 1955
<i>Chrysanthemum multicaule</i>	Monosp.	n	3/n	n	ns	n	n	Deng et al., 2010
<i>Chrysanthemum viscosum</i>	Tetrasp. do tipo <i>Drusa</i>	n	n/n	n	n	n	n	Battaglia, 1951
<i>Cotula australis</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2-3/1-4	linear	ns	n	*	Davis, 1961
<i>Opisthopappus taihangensis</i>	Monosp.	n	0/0	-	ns	n	n	Li et al., 2009
ASTEREAE								
<i>Aster novae-Angliae</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3-13/1-20	n	ns	Esférica/pera	n	Chamberlain, 1895
<i>Brachycome ciliaris</i>	-	n	2/1-2	n	ns	n	triangulares	Davis, 1964
<i>Conyza stricta</i>	Monosp.	n	3-n/v	v	np	n	n	Sharma; Murty, 1978

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*: sinérgide estende-se para o interior do canal micropilar. \*\*: antes da degeneração das antípodas. -: ausente. +: presente. AF: aparelho fibrilar. AP: aparelho oosférico. Bisp.: bispórico. Monosp.: monospórico. n: não mencionado. np: núcleo polar. ns: núcleo secundário. v: variável.

**Tabela 4** – Padrão de desenvolvimento do ginófito e algumas características do ginófito maduro em Asteraceae.

Espécie	Padrão de desenvolvimento do ginófito	AF	Nº de células/núcleos antipodais	Arranjo das antípodas /núcleos	Célula média	Forma da oosfera	Forma das sinérgides	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>								
ASTEREAE								
<i>Felicia bergeriana</i>	Monosp.	n	3/v	v	np	n	n	Sharma; Murty, 1978
<i>Erigeron bonariensis</i>	Monosp.	n	3-n/v	v	np	n	n	Sharma; Murty, 1978
<i>Grindelia arizonica</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2/1-2	n	ns	n	n	Howe, 1975
<i>Grindelia lanceolata</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2/1-2	n	ns	n	n	Howe, 1975
<i>Grindelia stricta</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2-3/1-2	n	ns	n	n	Howe, 1975
<i>Prionopsis ciliata</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2/1-2	n	ns	n	n	Howe, 1975
<i>Solidago canadenses</i> var. <i>canadenses</i>	Tetraspórico	n	0/5	1+2+2	n	n	n	Smith; Johnson, 1980
<i>Solidago graminifolia</i> var. <i>Nuttallii</i>	Monosp.	n	0/6	2+4+2	n	n	n	Smith; Johnson, 1980
<i>Xantisma texanum</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	+	3/1	n	ns	n	n	Berger; Feeley; Witkus, 1956
INULEAE								
<i>Blumea malabarica</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	Similar ao AP	ns	n	gancho	Pullaiah, 1979

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*: sinérgide estende-se para o interior do canal micropilar. \*\*: antes da degeneração das antípodas. -: ausente. +: presente. AF: aparelho fibrilar. AP: aparelho oosférico. Bisp.: bispórico. Monosp.: monospórico. n: não mencionado. np: núcleo polar. ns: núcleo secundário. v: variável.

**Tabela 4** – Padrão de desenvolvimento do ginófito e algumas características do ginófito maduro em Asteraceae.

Espécie	Padrão de desenvolvimento do ginófito	AF	Nº de células/núcleos antipodais	Arranjo das antípodas/núcleos	Célula média	Forma da oosfera	Forma das sinérgides	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>								
INULEAE								
<i>Blumea membranacea</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3-8/1	Linear/bisseriado	ns	n	pera	Pullaiah, 1979
<i>Helichrysum rupestre</i> var. <i>messerii</i> Pignatti	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	+	3/1	“T”	ns	pera	Alongada/ Ápice: gancho	Villari, 1987
<i>Lagascea mollis</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	5-6/n	n	n	n	Pera	Pullaiah, 1981
<i>Laggera pterodonta</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	Similar ao AP/ linear	ns	n	pera	Pullaiah, 1979
<i>Vicoa auriculata</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/1	Similar ao AP	ns	n	Pera/bico	Pullaiah, 1979
<b>Aliança Heliantheae</b>								
HELENIEAE								
<i>Gaillardia picta</i>	Tetrasp. do tipo <i>Fritillaria</i>	n	3/1	n	ns	n	pera	Venkateswarlu, Maheswari Devi, 1955
COREOPSIDEAE								
<i>Bidens pilosa</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2-3/1-6	n	n	n	n	Maheswari Devi, 1963
<i>Coreopsis tinctoria</i>	n		n	n	n	n	n	Maheswari Devi, 1963
<i>Cosmos sulphureus</i>	Monosp.	n	n	n	n	n	n	Maheswari Devi, 1963
Continuação								

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*: sinérgide estende-se para o interior do canal micropilar. \*\*: antes da degeneração das antípodas. -: ausente. +: presente. AF: aparelho fibrilar. AP: aparelho oosférico. Bisp.: bispórico. Monosp.: monospórico. n: não mencionado. np: núcleo polar. ns: núcleo secundário. v: variável.



**Tabela 4** – Padrão de desenvolvimento do ginófito e algumas características do ginófito maduro em Asteraceae.

Espécie	Padrão de desenvolvimento do ginófito	AF	Nº de células/núcleos antipodais	Arranjo das antípodas /núcleos	Célula média	Forma da oosfera	Forma das sinérgides	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>								
<b>Aliança Heliantheae</b>								
<b>TAGETEAE</b>								
<i>Flaveria australasica</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2-3/1-2	n	n	n	n	Venkateswarlu, Maheswari Devi, 1955
<i>Tagetes patula</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2-3/1-6	linear	ns	n	n	Venkateswarlu, Maheswari Devi, 1955
<b>HELIANTHEAE</b>								
<i>Ambrosia artemissifolia</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	+	3/v	linear	ns	pera	Cunha*	Chen et al., 2013
<i>Ambrosia trifida</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	+	3/v	linear	ns	pera	Cunha*	Chen et al., 2013
<i>Blainvillea rhomboidea</i>	Monosp.	n	2-4/v	linear	ns	n	n	Rajan, 1971
<i>Eclipta erecta</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/n	linear	np	n	n	Bhargava, 1934
<i>Helianthus annuus</i>	Monosp.	n	2-4/n	n	n	n	n	Maheswari Devi, 1963
<i>Spilanthes acmilla</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	2-3/n	n	n	n	n	Rajan, 1974
<i>Tithonia rotundifolia</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	n	n	ns	n	gancho	Pullaiah, 1978
<i>Xanthium strumarium</i>	Monosp.	n	3/1	n	n	n	n	Maheswari Devi, 1963

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*: sinérgide estende-se para o interior do canal micropilar. \*\*: antes da degeneração das antípodas. -: ausente. +: presente. AF: aparelho fibrilar. AP: aparelho oosférico. Bisp.: bispórico. Monosp.: monospórico. n: não mencionado. np: núcleo polar. ns: núcleo secundário. v: variável.

**Tabela 4** – Padrão de desenvolvimento do ginófito e algumas características do ginófito maduro em Asteraceae.

Espécie	Padrão de desenvolvimento do ginófito	AF	Nº de células/núcleos antípodais	Arranjo das antípodas/núcleos	Célula média	Forma da oosfera	Forma das sinérgides	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>								
<b>Aliança Heliantheae</b>								
<b>HELIANTHEAE</b>								
<i>Zinnia angustifolia</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	3/n	n	n	n	n	Pullaiah, 1981
<i>Zinnia pauciflora</i>	Monospórico	n	n	n	n	n	n	Maheswari Devi, 1963
<b>MILLERIEAE</b>								
<i>Galinsoga parviflora</i>	Monosp. do tipo <i>Polygonum</i>	n	n	n	n	n	n	Pullaiah, 1981

### Conclusão

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). \*: sinérgide estende-se para o interior do canal micropilar. \*\*: antes da degeneração das antípodas. -: ausente. +: presente. AF: aparelho fibrilar. AP: aparelho oosférico. Bisp.: bispórico. Monosp.: monospórico. n: não mencionado. np: núcleo polar. ns: núcleo secundário. v: variável.

na condição trinucleada do ginófito. Em *D. brasiliense* e em *S. luzulaefolia* a degeneração da epiderme nucelar também ocorre primeiramente na região micropilar e segue em direção a calaza. A degeneração progressiva da epiderme nucelar e a presença da epiderme nucelar na região calazal em estádios posteriores ao rompimento não foi descrita para nenhuma outra espécie da família, tal característica pode vir a ser uma característica diagnóstica de Barnadesioideae.

A dinâmica da vacuolação durante os processos reprodutivos de *S. luzulaefolia* e de *D. brasiliense* é de grande importância para a manutenção de tais processos, já que é responsável pela polarização inicial do ginófito, sendo os núcleos do ginófito binucleado deslocados para os polos, bem como é responsável por separar os núcleos, presentes no mesmo polo do ginófito, sendo uma preparação para o próximo ciclo mitótico, ou para a celularização.

#### 5.7.1 Celularização e maturação celular

A formação de parede celular começa imediatamente após o final da mitose em um ginófito octonucleado (BHOJWANI; SOH, 2001). Sendo a celularização dependente da relação entre a taxa de divisão nuclear e a acumulação de citoplasma no cenócito (BATYGINA, 2002). Durante o desenvolvimento um grande vacúolo é formado no centro do ginófito separando o citoplasma dessa estrutura, sendo assim sítios com diferentes influências são formados e, conseqüentemente, ao final do processo reprodutivo diferentes tipos celulares são formados (BATYGINA, 2002).

Poucos trabalhos são encontrados sobre a celularização, o que indica a rapidez deste processo (BHOJWANI; SOH, 2001).

Geralmente, ocorre formação simultânea de parede entre núcleos irmãos e não-irmãos, ou seja, a celularização é simultânea entre os pólos, mas em alguns casos um dos pólos pode apresentar-se celularizado e o outro não (BHOJWANI; SOH, 2001). Tais variações são observadas entre as espécies do presente estudo, já que em *S. luzulaefolia* as antípodas celularizam antes do aparelho oosférico e em *D. brasiliense* esse processo ocorre ao mesmo tempo entre os polos. Em muitas espécies de Asteraceae o aparelho oosférico e as antípodas organizam-se ao mesmo tempo (PULLAIAH, 1984), mas há exemplos de espécies onde esse processo ocorre primeiro nas antípodas (PULLAIAH, 1979).

Segundo Bhojwani e Soh (2001) a diferenciação de parede celular no ápice micropilar das sinérgides que formam o aparelho fibrilar ocorre tarde na diferenciação como observado para *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense*.

### 5.7.2 Antípodas

As antípodas são o grupo de células presentes na porção calazal do ginófito (BATYGINA, 2002), características dos ginófitos do tipo *Polygonum*, *Allium* e *Adoxa*.

As antípodas podem variar em número, nível de ploidia, tamanho e longevidade (JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; BATYGINA, 2002). Willemse e Van Went (1984) citam ainda que em contraste com a comum haploidia das células do aparelho oosférico, nas antípodas o nível de ploidia varia muito entre os tipos de ginófito. Tais diferenças morfológicas e estruturais são usuais em Asteraceae, adicionando-se a elas a variação das antípodas presentes na família (PULLAIAH, 1984) (Tabela 4), principalmente, em Senecioneae, Astereae e Heliantheae (Tabela 4).

Com relação à variação do número de células e número de núcleos, muito se deve a multiplicação secundária das antípodas que é recorrente em Asteraceae. Quando a citocinese não ocorre a antípoda torna-se um cenócito e quando ocorre mais do que três células podem ser observadas (DAVIS, 1964; SMITH; JOHNSON, 1980). A multiplicação secundária também é característica de Poaceae (BATYGINA, 2002). Nesse contexto Pullaiah (1984) cita que os casos de mudança de número de células e núcleos em Asteraceae podem ocorrer por quatro razões: (1) o número permanece constante, mas a ploidia varia devido divisão e fusão nuclear, (2) número de células antipodais aumenta devido a divisões nucleares seguidas por formação de placa celular, (3) os tipos acima ocorrem juntos e três ou mais células com um ou mais núcleos são formados e (4) o número de células antipodais permanece constante, mas as células tornam-se haustoriais.

Na maioria das Asteraceae, assim como na maioria das angiospermas, três células antipodais estão presentes, sendo elas uninucleadas e organizadas em arranjo linear ou em forma de “T” (Tabela 4) (BATYGINA, 2002; PULLAIAH, 1984). PULLAIAH (1984) descreve como comuns para os ginófitos dos tipos *Polygonum* e *Allium* das asteráceas a presença de duas ou três antípodas, sendo que quando duas, uma é binucleada. *Schlechtendalia luzulaefolia* e *D. brasiliense* possuem, respectivamente, desenvolvimento do

tipo *Polygonum* e *Allium* e ambos possuem três antípodas uninucleadas, diferindo em relação ao arranjo das antípodas. Com relação às espécies listadas na tabela 4, 12 delas apresentam arranjo em “T”, *Leontodon autumnalis* (Lactuceae), três espécies de *Hieracium* (Cichorioideae), *Sonchus asper* e *S. arvensis* (Cichorioideae), *Helichrysum rupestre* var. *messeri* Pignatti (Inuleae), *Emilia sonchifolia*, *Notonia grandiflora* e *Gynura nitida* (Senecione), além de *Macraea laricifolia* (Heliantheae) que ocasionalmente possui arranjo das antípodas em forma de “T” e *Crepis bithynica*, (Senecioneae) que além do arranjo em “T” também pode apresentar o arranjo linear. Arranjo em forma de “⊥” é descrito nos trabalhos como arranjo das antípodas semelhante ao aparelho oosférico (Tabela 4) que foi observado para *Blumea malabarica* (Astereae), *Laggenera pterodonta*, *Rudbeckia bicolor* (Inuleae), *Viscoa auriculata* e *Cicerbita alpina*.

As três antípodas de *D. brasiliense* lembram a morfologia esperada para a célula oosférica, principalmente quando se observa a antípoda do extremo calazal, onde o núcleo encontra-se voltado para o centro do ginófito. *Blumea malabarica*, *L. pterodonta*, *R. bicolor*, *V. auriculata* e *C. alpina* apresentam uma das antípodas (geralmente a micropilar) morfologicamente similar com a oosfera (PULLAIAH, 1979; MAHESHWARI; SRINIVASAN, 1944; PULLAIAH; LAKSHMI, 1984).

Com relação a longevidade, Greyson e McDaniel (1994) relatam que normalmente as células antipodais são persistentes, mas Batygina (2002) descreve antípodas efêmeras como sendo usuais nas angiospermas também, onde a degeneração ocorre durante a preparação para a fecundação ou logo após a fecundação. Willemse e Van Went (1984) citam ainda que em muitos táxons de dicotiledôneas as antípodas degeneram antes ou durante a maturação do ginófito. Em *S. luzulaefolia* e em *D. brasiliense* as antípodas degeneram antes da fecundação, provavelmente, o nível de organização observado em outras espécies não chega a se manifestar em *S. luzulaefolia* nem mesmo chega a ocorrer. Apenas em *Calendula officinalis* um ginófito maduro com antípodas ausentes, devido degeneração, foi relatado (AO, 2007), em *Platycarpha carlinoides* a degeneração foi observada logo após a fecundação (AHLSTRAND, 1979c).

Devido à degeneração das antípodas ser típico às espécies do presente estudo, poucos ginófitos foram encontrados com estas células ainda presentes e, por este motivo, não foi possível realizar todos os testes necessários para avaliar a constituição da parede celular das antípodas. Em *D. brasiliense* a confirmação de uma parede celular péctica, com polissacarídeos totais e proteínas foi observada, sendo que as paredes apresentaram-se completas e envolvendo totalmente as células. A parede celular que separa as antípodas de

*Zea mays* é incompleta, bem como na região calazal não se forma parede (DIBOLL; LARSON, 1966), contudo Batygina (2002) descreve a formação de uma parede celular completa entre as antípodas e entre antípodas e ginófito.

A função das antípodas seria de transferência de nutrientes, onde serviriam de caminho para entrada de metabólitos do esporófito para a célula média justificado pela presença de interrupções, ou campos primários de pontuação e a presença de antípodas haustoriais em alguns táxons, além de que estas células são ricas em organelas, como plastídeos, mitocôndrias, ribossomos e retículo endoplasmático, indicando sua alta atividade (BATYGINA, 2002; WILLEMSE; VAN WENT, 1984). Provavelmente, a degeneração das antípodas, anterior a fecundação, nas espécies estudadas seja consequência da perda da necessidade de transferência de nutrientes para o ginófito, já que este encontra-se pronto para a fecundação. No caso de *S. luzulaefolia* a degeneração de antípodas pode estar associada ao desenvolvimento de paredes labirínticas pela célula média.

### 5.7.3 Ginófito maduro

Segundo Batygina (2002) o ginófito maduro é definido como um saco embrionário no qual a diferenciação e especialização dos elementos exibem características táxon-específicas, bem como foram completadas, de modo que o ginófito está pronto para a fecundação.

Ginófito maduro fusiforme é característico de Asteraceae (PULLAIAH, 1984). Percebendo-se uma variação quanto ao grau de estreitamento da região calazal dos ginófitos (CHIKKANNAIAH, HIREMATH, 1982; PULLAIAH, 1978a; PULLAIAH, 1979; PULLAIAH, 1983; PULLAIAH, LAKSHMI, 1984; VILLARI, 1987). *Schlechtendalia luzulaefolia* possui ginófito fusiforme, onde seu ápice é estreito e alongado, tal estrutura é similar ao ginófito de *Eclipta erecta* descrito como mais amplo na porção média e com ápice calazal em forma de uma bolsa alongada, onde as antípodas são observadas (BHARGAVA, 1934). *Emilia flammea* (PRAKASA-RAO; SUNDARI; NARAYANA, 1979), *Felicia bergeriana*, *Conyza stricta*, *Erigeron bonariensis* (SHARMA; MURTY, 1978) possuem ginófito alongado, bem como o ginófito de *Macraea laricifolia*, descrito também como mais ou menos fusiforme (ELIASSON, 1972).

As projeções de parede observadas nas células do epitélio do canal micropilar e nas células micropilares do endotélio de *S. luzulaefolia* se assemelha à descrição parietal típica de

células de transferência (EVERT, 2006), a projeção de parede tipo flange, em forma de costela (estria) e em contato com a parede basal (EVERT, 2006). Tais projeções são observadas geralmente em células do floema (EVERT, 2006) não sendo observado em nenhum outro canal micropilar de rudimentos seminiais estudados em Asteraceae.

#### 5.7.4 Unidade Germinativa Feminina

As células do aparelho oosférico juntamente com a célula central formam a Unidade Germinativa Feminina. Tal nome se deve ao fato de essas células serem o número mínimo necessário para que ocorra a atração e recepção do tubo polínico, descarga dos gametas masculinos no ginófito, transporte dos gametas masculinos e a dupla fecundação (BHOJWANI; SOH, 2001; HUANG; RUSSELL, 1992).

Dentre as adaptações observadas por Huang e Russel (1992) para o sucesso da dupla fecundação a remoção de impedimentos para o movimento das células espermáticas entre o gametófito feminino, se destaca a ausência de parede celular na oosfera observada em *S. luzulaefolia* e a proximidade do núcleo secundário à oosfera, observado nas duas espécies estudadas.

##### 5.7.4.1 Célula média

A célula média ocupa a maior parte do ginófito, onde pode ser observada desde as antípodas até a região micropilar onde, geralmente, circunda a maior parte do aparelho oosférico (WILLENSE; VAN WENT, 1984). Esta célula é altamente vacuolada e apresenta cordões citoplasmáticos que conectam a região perinuclear ao citoplasma periférico (HUANG; RUSSELL, 1992). Tais características citadas acima são usuais para as angiospermas e foram observadas nas espécies do presente estudo.

O número e a disposição dos núcleos polares estão relacionados com o tipo de desenvolvimento do ginófito (BATYGINA, 2002), sendo que os tipos monospórico e bispórico apresentam normalmente dois núcleos polares, como o observado para *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense*. Nestas espécies a fusão dos núcleos polares ocorre antes da

fecundação, contudo este momento é variável entre as espécies, podendo ocorrer antes, durante, ou logo após a fecundação (WILLEMSE; VAN WENT, 1984; MAHESHWARI, 1950; BATYGINA, 2002). Outras Asteraceae, como *Helianthus annuus* e *Scila sibirica* são exemplos de padrões de desenvolvimento monospórico e bispórico, respectivamente, onde a fusão é anterior a fecundação (NEWCOMB; STEEVES, 1971; BHANDARI; SCHDEVA, 1983).

A fusão dos núcleos polares resulta na formação do núcleo secundário. A morfologia de tal núcleo, observada nas espécies do presente estudo, assemelha-se ao usual para as angiospermas, ou seja, o núcleo secundário apresenta-se volumoso e denso e o nucléolo apresenta vacúolo nucleolar, além de ser intensamente corado (WILLENSE; VAN WENT, 1984; MAHESHWARI, 1950, BATYGINA, 2002; HUANG; RUSSELL, 1992).

A presença de paredes labirínticas na célula média é frequente e varia em localização sendo, na maioria das vezes, observada próxima ao aparelho oosférico, local onde as projeções são, também, mais alongadas (HUANG; RUSSELL, 1992), tais características foram observadas em *S. luzulaefolia*, onde nesta espécie esta especialização de parede pode ter função relacionada com oosfera.

Há dois tipos de projeções de parede encontradas na maioria das células de transferência, sendo uma delas as paredes tipo flange, descritas anteriormente, e as projeções de parede tipo reticuladas ou labirínticas, que são menores, com papilas distribuídas aleatoriamente a partir de uma camada basal, essas se ramificam e fusionam-se formando um complexo labiríntico (EVERT, 2006).

A presença de projeções de parede são características diagnósticas de células de transferência, onde teriam a função de aumentar a área de membrana plasmática, já que esta é observada contornando a extensão de parede labiríntica (GUNNING; PATE, 1969; EVERT, 2006). A membrana plasmática é capaz de transferir nutrientes, portanto, quanto maior sua área, maior é sua capacidade de transferência (GUNNING; PATE, 1969). Cabe salientar que segundo Evert (2006) as projeções de parede desenvolvem-se relativamente tarde na maturação celular e são depositadas sobre a parede primária original e, por esse motivo, são muitas vezes consideradas uma especialização de parede secundária. Em *S. luzulaefolia* as paredes labirínticas surgem apenas em fases finais da celularização/organização celular.

As paredes labirínticas ajudariam na nutrição da nova geração esporofítica segundo Pate e Gunning (1972). Em *S. luzulaefolia* esta estrutura está presente no ginófito maduro, com maior extensão no entorno do aparelho oosférico, indicando uma função nutricional



relativa a oosfera e sinérgides. Para a identificação de um papel nutricional relacionado aos embriões (esporofítico e xerofítico) seriam necessários estudos embriogênicos na espécie.

Aparentemente, as células de transferência, de maneira geral, podem regular o local onde suas projeções de parede se desenvolvem, sendo tal associada com estímulos oriundos do tecido circundante (PATE; GUNNING, 1972) ou do ambiente associado ao balanço hormonal (AMIARD et al., 2007). Projeções de parede na célula média também foram observadas em *Helianthus annuus*, com localização similar à observada em *S. luzulaefolia*, pois está presente na altura do núcleo secundário até 1/3 de distância do ápice micropilar das sinérgides (NEWCOMB; STEEVES, 1971). A região e a estrutura das projeções em *S. luzulaefolia* é similar à *H. annuus* (NEWCOMB; STEEVES, 1971). Newcomb e Steeves (1971) sugerem que a presença das paredes labirínticas permitiria a célula média na absorção de metabólitos a partir do esporófito.

Em *Scilla sibirica* e em *Solanum nigrum* (BRIGGS, 1992; BHANDARI; SOCHDEVA, 1983) as projeções de parede na célula média são PAS-positivas assim como detectado para *S. luzulaefolia*.

Em células companheiras em *Pisum sativum* L. cv. Alaska, células do parênquima floemático em *Arabidopsis thaliana* (L.) Heyn., e ambos os tipos de células em *Senecio vulgaris* L., as quais desenvolvem paredes labirínticas, ou como no caso das células parenquimáticas do floema, se diferenciam em células de transferência nas espécies citadas, (AMIARD et al., 2007), demonstraram que plantas crescidas com fotoperíodo de seis horas, a mais, apresentaram maior espessamento e complexidade de suas paredes labirínticas. Dadas as devidas proporções, cabe salientar que *S. luzulaefolia* cresce em local aberto, incluindo os indivíduos coletados para o presente estudo, florescendo usualmente nos meses de novembro e dezembro, ao contrário de *D. brasiliense* de junho a agosto. Assim, o maior desenvolvimento da parede da célula média pode estar relacionado ao processo reprodutivo por meio de suprimento de demanda metabólica com grande influência ambiental.

#### 5.7.4.2 Oosfera

A oosfera geralmente é a maior célula do aparelho oosférico (BATYGINA, 2002), diferente do encontrado para *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense*. A forma da oosfera é tipicamente piriforme ou alongada (BATYGINA, 2002; WILLEMSE; VAN WENT, 1984),

como observado para *D. brasiliense* e *S. luzulaefolia*, respectivamente. Em Asteraceae, a maioria dos estudos descreveu oosferas piriformes, mas formas ovóides também foram descritas (Tabela 4).

A presença de um vacúolo volumoso que ocupa a maior parte da célula que acaba por polarizar a oosfera, onde o núcleo e a maior parte do citoplasma são observados na região calazal é recorrente nas angiospermas, bem como nas asteráceas (BATYGINA, 2002; PULLAIAH, 1984; WILLEMSE; VAN WENT, 1984; BHOJWANI; SOH, 2001).

O terço micropilar da oosfera é tipicamente circundado por parede celular e na metade calazal esta é ausente ou possui áreas cobertas apenas por membrana plasmática (HUANG, RUSSELL, 1992). Onde na maioria das espécies estudadas uma parede polissacarídica está ausente (BATYGINA, 2002), assim como em *S. luzulaefolia* e ao contrário de *D. brasiliense* onde foram detectadas pectinas e polissacarídeos totais em toda a sua extensão. Em *Scila sibirica* uma parede PAS-positiva também foi observada em toda a extensão da oosfera, e em *Solanum nigrum* a reação foi positiva apenas para os dois terços micropilares.

Segundo Batygina (2002) a ausência de parede no pólo calazal é uma indicação do grau de maturidade do ginófito

#### 5.7.4.3 Sinérgides

As sinérgides das asteráceas são piriformes em sua maioria, contudo a descrição de sinérgides curvas aparece muitas vezes, bem como formas cilíndricas ou em bico (PULLAIAH, 1984) (Tabela 4). A descrição da forma do ápice das sinérgides é comum na literatura embriológica da família, onde geralmente apresentam forma de gancho ou formando um bico (PULLAIAH, 1984). Sinérgides em forma de funil de *S. luzulaefolia* e de *D. brasiliense* são inéditas para a família, bem como a descrição de seus ápices, achatado e arredondado respectivamente.

Uma característica marcante das sinérgides em Asteraceae é referente a sua localização, no interior do canal micropilar, em maior ou menor extensão (Tabela 4) (PULLAIAH, 1984). Tal característica está presente em *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense*. Provavelmente tal posição das sinérgides esteja envolvida com a otimização do processo de fecundação, já que o caminho a ser percorrido pelos gametas masculinos é menor.

Segundo Huang e Russell (1992) as sinérgides são células altamente especializadas, possuindo uma distinta organização citoplasmática e modificações de parede, características que as permitem atrair o tubo polínico, reservar nutrientes e promover a passagem dos gametas masculinos para o interior da oosfera e célula média.

Nas espécies do presente estudo foram identificados compostos pécticos em vacúolos das sinérgides, indicando uma possível reserva de nutrientes.

A forma do aparelho fibrilar é altamente variável nas angiospermas, sendo em sua maioria formada por projeções de parede ramificadas em direção ao citoplasma, mas entre as espécies de Asteraceae sua organização é semelhante (BHOJWANI; SOH, 2001; HUANG; RUSSELL, 1992; WILLEMSE; VAN WENT, 1984) aparecendo como uma massiva projeção de parede de aparência homogênea no ápice micropilar, onde a parede entre as sinérgides geralmente é a mais espessada (NEWCOMB, 1973; PLACHNO; MUSIAL; SWIATEK, 2014; HUANG; RUSSELL, 1992). Nas espécies do presente estudo a organização do aparelho fibrilar está de acordo com o usual para a família, contudo em um ginófito de *D. brasiliense* as sinérgides apresentaram projeções de parede ramificadas.

O aparelho fibrilar aumenta a área de superfície de membrana da célula (GUNNING; PATE, 1969). A presença de projeções de parede é característica de células de transferência, portanto o aparelho fibrilar confere às sinérgides uma função de transferência de metabólitos (GUNNING; PATE, 1969). Segundo Bhojwani e Soh (2001) paredes celulares espessadas devem guiar o crescimento do tubo polínico, sendo um indício do papel do aparelho fibrilar no processo reprodutivo.

A constituição química do aparelho fibrilar difere bastante nas angiospermas estudadas, mas todas possuem componentes PAS-positivos (HUANG; RUSSELL, 1992).

## 5.8 Formação do endotélio

A literatura descreve o endotélio como de origem tegumentar apenas (KAPIL; TIWARI, 1978), contudo em *D. brasiliense* e em *S. luzulaefolia* observou-se um endotélio de origem dupla, visto que este é formado tanto por células da epiderme interna do tegumento como por células da epiderme ventral do funículo. A origem mista é resultado da ausência de crescimento no lado ventral do único tegumento presente em *D. brasiliense* e em *S. luzulaefolia*, o que permite contato direto da epiderme ventral funicular com o ginófito.

O momento de diferenciação das células endoteliais, na maioria das espécies de Asteraceae, é descrito entre os estádios de tétrade e ginófito uninucleado (Tabela 5). No ginófito uninucleado, ou estágio próximo, ocorre o rompimento da epiderme nucelar e, conseqüentemente, o endotélio passa a ter contato com o ginófito. Tal característica remete a função do endotélio de nutrição do ginófito. Nas espécies do presente estudo apesar do início da diferenciação ser no estágio de CMG, a maior diferenciação ocorre nos estádios compreendidos pela gametogênese. Em *Helycrisum rupestre* var. *messerii* Pignatti (VILLARI, 1987) e *Helianthus annuus* (NEWCOMB, 1973) a diferenciação do endotélio também inicia no estágio de CMG. Segundo Maheshwari (1950) e Johri, Ambegaokar e Srivastava (1992) a formação do endotélio ocorre nas plantas em que há desorganização do nucelo, onde, portanto, as células da epiderme interna do tegumento, que estão em contato com o ginófito, tornam-se diferenciadas, em forma e conteúdo, das demais células tegumentares, apresentando-se alongadas radialmente, com citoplasma bastante denso e núcleo proeminente. Acredita-se que as células do endotélio possuam função nutritiva, servindo como intermediárias no transporte de nutrientes entre o tegumento e o ginófito (MAHESHWARI, 1950; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992). Algumas características estruturais e funcionais descritas acima são similares às encontradas no tapete da antera, de modo que a porção da epiderme interna do tegumento que está em contato com o ginófito também é chamada de tapete tegumentar (MAHESHWARI, 1950; JOHRI; AMBEGAOKAR; SRIVASTAVA, 1992; KAPIL; TIWARI, 1978).

O endotélio envolve totalmente o ginófito nas espécies estudadas, assim como na maioria das espécies de Asteraceae descritas sobre tal aspecto (PULLAIAH, 1984). Em *Tithonia rotundifolia* Blake (PULLAIAH, 1978a), em *Blainvillea rhomboidea* Cass. (RAJAN, 1971) e em *Helianthus annuus* L. (NEWCOMB, 1973), o endotélio não se desenvolve próximo à região calazal. Endotélio unisseriado e uninucleado é usual para Asteraceae (PULLAIAH, 1984), embora em algumas espécies tenha sido descrita a tendência de formação de mais de uma camada celular originando um endotélio multisseriado (Tabela 5). Células endoteliais com mais de um núcleo também foram descritas para espécies de Asteraceae (Tabela 5).

O desenvolvimento e os aspectos estruturais do endotélio, quando analisados de forma comparada indicam algumas diferenças entre as espécies no presente estudo. Assim, a diferenciação estrutural das células endoteliais em *S. luzulaefolia* é mais proeminente e se estende por maior período de tempo. Importante salientar que o endotélio, conforme dados do presente estudo, ocorre em espécies basais em Asteraceae e que, em tais espécies, possui

**Tabela 5** – Características do endotélio em espécies de Asteraceae.

Espécie	Diferenciação	Nº de camadas	Nº de núcleos	Contato com o ginófito	Referências
<b>BARNADESIOIDEAE</b>					
BARNADESIEAE					
<i>Dasyphyllum brasiliense</i>	CMG (prófase)	1	1	Tetranucleado	Presente estudo
<i>Schlechtendalia luzulaefolia</i>	CMG (prófase)	1	1	Trinucleado	Presente estudo
<b>PERTYOIDEAE</b>					
PERTYEAE					
<i>Ainsliaea áptera</i>	n	1	n	n	Kapil; Sethi, 1962
<b>CICHORIOIDEAE</b>					
CICHORIEAE					
<i>Cicerbita alpina</i>	Tétrade	1	1	n	Pullaiah; Lakshmi, 1984
<i>Gundelia tournefortii</i>	n	1		Binucleado	Ahlstrand, 1979
<i>Hieracium caespitosum</i> (subgênero <i>brevipilum</i> )	Uninucleado	1	1	Uninucleado	Yurukova-Grancharova; Robeva-Davidova; Vladimirov, 2006
<i>Hieracium transylvanicum</i> (subgênero <i>Hieracium</i> )	Uninucleado	1	1	Uninucleado	Yurukova-Grancharova; Robeva-Davidova; Vladimirov, 2006
<i>Lactuca sativa</i>	n	1	n	n	Jones, 1927
<i>Launaea nudicaulis</i>	Tétrade	1	n	n	Chikkannaiah; Hiremath, 1982
<i>Leontodon autumnalis</i>	Uninucleado	1	1	n	Yurukova-Grancharova, 2004
<i>Prenanthes brunoniana</i>	n	1	n	Maduro	Sood; Thakur, 1984
<b>PLATYCARPHEAE</b>					
<i>Platycarpha carlinoides</i>	n	1/tendência a se dividir (2)	n	Binucleado	Ahlstrand, 1979

Continua

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). n: não mencionado. Mult.: multisseriado. Poli.: polinucleado. CMG: célula-mãe de ginósporos. [ ] ocasional.

**Tabela 5** – Características do endotélio em espécies de Asteraceae.

Espécie	Diferenciação	Nº de camadas	Nº de núcleos	Contato com o ginófito	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>					
<b>SENECIONEAE</b>					
<i>Crepis bithynica</i>	Uninucleado	1	1	n	Yurukova-Grancharova; Dimitrova, 2006
<i>Emilia flammea</i>		1	1	Uninucleado	Prakasa-Rao; Sundari, Narayana, 1979
<i>Emilia sonchifolia</i>	Tétrade	1[2]	1	n	Pullaiah, 1983
<i>Gynura nítida</i>	Tétrade	1[2]	1	n	Pullaiah, 1983
<i>Notonia grandiflora</i>	Tétrade	1[2]	1	n	Pullaiah, 1983
<i>Senecio ambiguus</i>	n	1	1	n	Gramuglio, 1981
<i>Senecio gibbosus</i>	n	2	1	n	Gramuglio, 1981
<i>Senecio tenuifolius</i>	Tétrade	1	1	Binucleado	Lakshmi; Pullaiah, 1987
<b>ANTHEMIDEAE</b>					
<i>Chrysanthemum leucanthemum</i>	Após degen. nucelar	n	n	n	Martin; Smith, 1955
<i>Chrysanthemum multicaule</i>	Após degen. nucelar	1	poli	n	Deng et al., 2010
<i>Cotula australis</i>	n	1	1	Binucleado	Davis, 1961
<b>ASTEREAE</b>					
<i>Aster novae-Angliae</i>	n	1	n	n	Chamberlain, 1895
<i>Brachycome ciliares</i>	n	1	n	Uninucleado	Davis, 1964
<i>Grindelia arizonica</i>	n	1	n	n	Howe, 1975
<i>Grindelia lanceolata</i>	n	1	n	n	Howe, 1975
<i>Grindelia stricta</i>	n	1	n	n	Howe, 1975
<i>Prionopsis ciliata</i>	n	1	n	n	Howe, 1975
<i>Xantisma texanum</i>	Após degen. nucelar	1	1	n	Berger; Feeley; Witkus, 1956

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). n: não mencionado. Mult.: multisseriado. Poli.: polinucleado. CMG: célula-mãe de ginósporos. [ ] ocasional.

**Tabela 5** – Características do endotélio em espécies de Asteraceae.

Cc	Diferenciação	Nº de camadas	Nº de núcleos	Contato com o ginófito	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>					
INULEAE					
<i>Blumea malabarica</i>	n	1	1	n	Pullaiah, 1979
<i>Blumea membranacea</i>	n	1	1	n	Pullaiah, 1979
<i>Helichrysum rupestre</i> var. <i>messerii</i> Pignatti	Meiose I	1	n	n	Villari, 1987
<i>Lagascea mollis</i>	n	1	1	n	Pullaiah, 1979
<i>Laggera pterodonta</i>	n	1	1	n	Pullaiah, 1979
<i>Vicoa auriculata</i>	n	1	1	n	Pullaiah, 1979
<b>Aliança Heliantheae</b>					
HELENIEAE					
<i>Gaillardia picta</i>	n	1	n	n	Venkateswarlu; Maheswari Devi, 1955
COREOPSIDEAE					
<i>Bidens pilosa</i>	n	1	Poli.	n	Maheswari Devi, 1963
<i>Coreopsis tinctoria</i>	n	1	1	n	Maheswari Devi, 1963
<i>Cosmos sulphureus</i>	n	1	1	n	Maheswari Devi, 1963
TAGETEAE					
<i>Flaveria australasica</i>	n	1	n	n	Venkateswarlu; Maheswari Devi, 1955
<i>Tagetes patula</i>	n	1	n	n	Venkateswarlu; Maheswari Devi, 1955
HELIANTHEAE					
<i>Blainvillea rhomboidea</i>	Tétrade	1	1	Binucleado	Rajan, 1971
<i>Eclipta erecta</i>	n	1	n	n	Bhargava, 1934
<i>Helianthus annuus</i>	CMG	1	1,2 ou 3	Binucleado	Gotelli; Galati; Medan, 2008

Continuação

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). n: não mencionado. Mult.: multisseriado. Poli.: polinucleado. CMG: célula-mãe de ginósporos. [ ] ocasional.

**Tabela 5** – Características do endotélio em espécies de Asteraceae.

Espécie	Diferenciação	Nº de camadas	Nº de núcleos	Contato com o ginófito	Referências
<b>ASTEROIDEAE</b>					
<b>Aliança Heliantheae</b>					
<b>HELENIEAE</b>					
<i>Helianthus debilis</i>	n	Mult.	Poli	n	Maheswari Devi, 1963
<i>Macraea laricifolia</i>	n	1	n	Ginósporo funcional	Eliasson, 1972
<i>Rudbeckia bicolor</i>	Após degen. nuclear	1	1	n	Maheshwari; Srinivasan, 1944
<i>Siegesbeckia orientalis</i>	n	1: centro Mult.: calaza e micrópila	1	Binucleado	Misra, 1965
<i>Spilanthes acmilla</i>	Tétrade	1	1		Rajan, 1974
<i>Tithonia rotundifolia</i>	Díade	Mult. (exceto região micropilar)	1 [poli.]	Ginósporo funcional	Pullaiah, 1978
<i>Xanthium strumarium</i>		1	1	n	Maheswari Devi, 1963
<i>Zinnia angustifolia</i>	Formação da tétrade	2	1	n	Pullaiah, 1981
<i>Zinnia pauciflora</i>	n	1	1	n	Maheswari Devi, 1963
<b>MILLERIEAE</b>					
<i>Galinsoga parviflora</i>	Formação da tétrade	11	n	n	Pullaiah, 1981

### Conclusão

OBS.: as subfamílias e tribos foram listadas em ordem crescente, da mais basal a mais derivada, conforme classificação de Funk et al. (2009). n: não mencionado. Mult.: multisseriado. Poli.: polinucleado. CMG: célula-mãe de ginósporos. [ ] ocasional.



origem mista, dado inédito para família. Tal observação em relação à biologia do desenvolvimento reforça considerações sobre a diferenciação celular resultar da posição relativa de tais células. Importante ressaltar similaridade de tais aspectos da diferenciação, além de aspectos funcionais, com o tecido tapetal, presente nas anteras, e associado à diferenciação de andrósporos e de andrófitos. A diferenciação do endotélio, descrito no presente estudo é similar ao observado em células secretoras e células companheiras em plantas, as quais possuem maior atividade celular e grande demanda metabólica. Ressalta-se que indivíduos de *S. luzulaefolia* utilizados no presente estudo foram coletados em ambiente com grande incidência solar, sem qualquer sombreamento e solo raso e pedregoso, enquanto que os indivíduos de *D. brasiliense* foram coletados em área florestada, com sombreamento e solo úmido. Assim, a presença de endotélio indica relação filogenética, embora sua diferenciação possa estar sendo modulada, ou influenciada, pelo ambiente. Importante ressaltar que estudos relacionados com demanda metabólica devem ser realizados para que se observe se o contraste estrutural mais marcante em *S. luzulaefolia* seja consequência de maior atividade celular em relação ao endotélio de *D. brasiliense*.

### 5.9 Canal micropilar e estruturas funiculares

Existem muitos trabalhos de microscopia de luz e de ultraestrutura dos tecidos presentes no caminho percorrido pelo tubo polínico no carpelo, à exceção do canal micropilar (YAN; YANG; JENSEN, 1991). Em *S. luzulaefolia* e em *D. brasiliense* a micrópila é formada por duas estruturas, funículo e calaza, como uma consequência da assimetria do tegumento. Existe um trabalho detalhado sobre o canal micropilar em *Helianthus annuus* (YAN; YANG; JENSEN, 1991), onde a micrópila é formada apenas pelo tegumento, já que o tegumento também está presente no lado côncavo (YAN; YANG; JENSEN, 1991), sendo a micrópila dessa espécie fechada, ou seja, os lobos tegumentares são adpressos, tanto que a cutícula é observada como uma única estrutura (YAN; YANG; JENSEN, 1991). Nas espécies do presente estudo a camada cuticular do canal micropilar está presente, contudo não forma uma única estrutura, pois o canal micropilar é aberto.

O canal micropilar de *Helianthus annuus* apresenta ainda um tecido transmissor que é composto por células de paredes finas e separadas por espaços celulares relativamente

grandes onde está presente uma matriz extracelular (YAN; YANG; JENSEN, 1991). Yan, Yang e Jensen (1991) relatam que a matriz extracelular possui estrutura similar a de uma parede celular, contudo a orientação das fibrilas é diferente e sua densidade eletrônica é maior em relação à parede primária.

Segundo Batygina (2002) dependendo da origem o obturador pode ser classificado em ovular ou ovariano e conforme sua posição em tegumentar, funicular ou nucelar. Neste contexto, o obturador de *D. brasiliense* e de *S. luzulaefolia* são ovulares e funiculares, respectivamente.

O obturador funicular é descrito como o usual para as angiospermas (BATYGINA 2002). Segundo Sood e Thakur (1985) a presença de um obturador não é comum para Asteraceae, sendo descrito apenas para *Prenanthes brunoniana* (SOOD; THAKUR, 1985), *Ainslieae aptera* (KAPIL; SETHI, 1962) e *Cicerbita alpina* (PULLAIAH; LAKSHMI, 1984).

As características morfológicas das células do obturador de ambas as espécies conferem com a descrição de Batygina (2002), sendo células grandes, com espessamento das paredes externas, denso citoplasma e núcleo proeminente. Tal característica, juntamente com o crescimento através da micrópila sugere uma função do obturador como uma estrutura secretora que promove nutrição do tubo polínico, bem como para seu crescimento e entrada no interior do ginófito (MAHESHWARI, 1950).

Os grupamentos celulares com espessamentos parietais secundários no funículo, não pertencentes a feixes vasculares, possuem as mesmas características das células denominadas por Foster (1956) como idioblastos traqueoidais, em função de suas características parietais e por não ocorrerem em feixes vasculares e, portanto, não desempenhar funções vasculares. Tais células são comuns em Orchidaceae, sendo atribuída às mesmas a função de suporte mecânico (CARLSWARD; STERN; BYTEBIER, 2006). Cabe salientar que, em se tratando de um grupamento celular, gera conflito ao uso do termo idioblasto, embora a consideração sobre a função de suporte mecânico seja plausível, similar ao observado em grupamentos de células pétreas, as quais possuem espessamentos parietais secundários (EVERT 2006).

## 5.10 Feixe vascular

Em muitas angiospermas a vascularização do rudimento seminal se dá pela diferenciação do tecido vascular no funículo, rafe e região calazal (BOUMAN, 1984). Em um

número relativamente grande de famílias o único tegumento, ou o tegumento, externo torna-se vascularizado (BOUMAN, 1984), incluindo táxons em Asteraceae (VENKATESWARLU, 1941; VENKATESWARLU; MAHESWARI, 1955; MAHESWARI, 1963; MISRA, 1964; PULLAIAH, 1984). Em *S. luzulaefolia* e em *D. brasiliense* o feixe vascular está presente da base funicular até próximo ao ápice tegumentar, assim como observado para *Ainsliaea aptera* (KAPIL; SETHI, 1962), *Tridax procumbens* e em *Tagetes patula*, (VENKATESWARLU, 1941). Em *Gaillardia picta* o tegumento não possui feixe vascular (VENKATESWARLU; MAHESWARI, 1955).

Por vezes a presença de traços vasculares no tegumento é postulada como uma característica primitiva, contudo a presença desta estrutura em Asteraceae, família considerada derivada, é uma evidência de que esta premissa não é sempre verdadeira (PULLAIAH, 1984). A vascularização tegumentar pode ser um meio de tornar eficiente o transporte de água e nutrientes para o desenvolvimento do rudimento seminal e embrião (PULLAIAH, 1984). Nesse contexto, Bouman (1984) relata que deve haver uma relação entre o tamanho dos rudimentos seminais e a maior extensão do feixe vascular. O que vai ao encontro do observado para *D. brasiliense* e *S. luzulaefolia*, que possuem rudimentos seminais grandes.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados estruturais, anatômicos e embriológicos obtidos para o rudimento seminal de *D. brasiliense* e *S. luzulaefolia* são, em sua maioria, usuais para Asteraceae. Contudo, em *D. brasiliense* foi eventualmente observada a presença de mais de um rudimento seminal no mesmo ovário e o desenvolvimento do ginófito é bispórico do tipo *Allium*. Rudimento seminal tenuinucelado incompleto, a presença de um tegumento assimétrico, endotélio de origem dupla e obturador funicular também não são usuais para a família, embora apenas a presença do obturador funicular não seja um resultado inédito para Asteraceae.

Assim como em quase todas as asteráceas a corola é o primeiro verticilo floral a surgir em *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense*. Aparentemente a ordem de formação das peças florais basal para Asteraceae é corola, androceu, pápus e gineceu, contudo estudos organogênicos em outros gêneros pertencentes ao clado basal são necessários, principalmente aos pertencentes a Barnadesioideae, pois *D. brasiliense* possui ordem de formação das peças florais diferente.

A presença de um arquespório múltiplo pode ser uma reversão, já que o arquespório unicelular derivou do multicelular. Em *D. brasiliense* ambas as células arquesporiais podem diferenciar-se em CMG, diferindo do usual para a família.

A meiose é desigual em *D. brasiliense* e *S. luzulaefolia*, duas espécies pertencentes a subfamília basal, tal característica necessita ser analisada nas demais espécies da família para a determinação desta como basal, usual ou não usual para Asteraceae.

Na maioria das espécies uma tétrade linear de ginósporos está presente, mas algumas espécies podem apresentar, eventualmente, um arranjo diferente.

O ginófito do tipo *Allium* de *D. brasiliense* pode ser um estado de caráter que corrobora com a posição derivada de *Dasyphyllum* em Barnadesioideae, assim como os ciclos mitóticos e a celularização simultâneos no gametófito, sendo necessários estudos sobre a ginosporigênese e ginogametogênese nos demais gêneros da subfamília.

A degeneração gradual da epiderme nucelar pode vir a ser considerada basal para Asteraceae, não sendo descrita para nenhuma espécie de outra subfamília.

A degeneração das antípodas anterior à fecundação pode ser consequência da perda da necessidade de transferência de nutrientes do esporófito para o ginófito, bem como a degeneração das antípodas relativamente mais cedo no desenvolvimento de *S. luzulaefolia*

seja devido a presença da parede labiríntica e da parede em flange, as quais substituiriam esta função, bem como pela presença do endotélio, o qual é sabido que possui papel importante na nutrição do gametófito.

Outras características inéditas para a família Asteraceae são referentes as sinérgides, sendo sua forma de funil e ápice arredondado de *D. brasiliense* e achatado de *S. luzulaefolia*.

A presença de endotélio indica relação filogenética, embora sua diferenciação possa estar sendo modulada, ou influenciada, pelo ambiente.

Portanto neste trabalho foi possível identificar características comuns à *S. luzulaefolia* e *D. brasiliense* que podem ser considerados basais para Asteraceae e diagnósticas para Barnadesioideae, bem como caracteres embriológicos que corroboram com a posição derivada de *D. brasiliense* nesta subfamília.

## 7 REFERÊNCIAS

AHLSTRAND, L. Embryology of Arctotideae-Gundeliinae (Compositae). **Botaniska Notiser** v. 132, p. 377-380, 1979c.

AMIARD, V.; DEMMIG-ADAMS, B.; MUEH, K. E.; TURGEON, R.; COMBS, A. F., ADAMS, W. W. Role of light and jasmonic acid signaling in regulating foliar phloem cell wall ingrowth development. **New Phytologist**, v. 173, p. 722-731. 2007.

AO, C. Comparative anatomy of bisexual and female florets, embryology in *Calendula officinalis* (Asteraceae), a naturalized horticultural plant. **Scientia Horticulturae**, v. 114, n. 3, p. 214-219, 2007.

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, n. 2, p. 105-121, 2009.

AYRES, J.A. Flower of *Adenocaulon bicolor*. **Botanical Gazette**, v. 59, n. 2, p.154-157, 1915.

BATTAGLIA, E. Development of the tetrasporic embryo sac of *Chrysanthemum viscosum*. **Botanical Gazette**, p. 490-494, 1951.

BATYGINA, T. B. Embryology of flowering plants. Terminology and concepts. Vol. 1: generative organs of flower. **Enfield, USA.: Science Publishers Inc**, 2002.

BERGER, C.A.; FEELEY, E.J.; WITKUS, E.R. The Cytology of *Xanthisma texanum* DC IV. Megasporogenesis and embryo sac formation, pollen mitosis and embryo formation. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 83, n.6, p. 428-434, 1956.

BHANDARI, N. N.; SACHDEVA, A. Some aspects of organization and histochemistry of the embryo sac of *Scilla sibirica* Sato. **Protoplasma**, v. 116, n. 2-3, p. 170-178, 1983.

BHARGAVA, H.R. Contribution to the morphology of *Eclipta erecta*, linn. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences**, p. 325-339, 1934.

BHOJWANI, S.S.; SOH, W.Y. **Current trends in the embryology of angiosperms**. Springer, 2001, 533p.

BOUMAN, F. 1984. The ovule. Pp.123-157. In Embryology of Angiosperms (B. M. Johri, ed.). Springer-Verlag, Berlin.

BREMER, K. **Asteraceae. Cladistics and classification.** Timber Press, Oregon. 1994, 752 p.

BREMER, K.; JANSEN, R.K. A new subfamily of the Asteraceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 79, p. 414-415, 1992.

BRIGGS, C. L. A light and electron microscope study of the mature central cell and egg apparatus of *Solanum nigrum* L.(Solanaceae). **International Journal of Plant Sciences**, v. 153, n. 1, p. 40-48, 1992.

CABRERA, A.L. 1974. Compositae. In: Burkart, A. Ed. **Flora Ilustrada de Entre Rios (Argentina)**. Buenos Aires: INTA t.6, pt.6, p. 106-538. (Colección Científica del INTA)

CABRERA, A.L. Revision Del Género *Dasyphyllum*. **Revista del Museo de La Plata, Sección Botánica**, v. 38, p. 21-108, 1959.

CABRERA, A.L.; KLEIN, R. M. Compostas, Tribo Mutiseae. In **Flora Ilustrada Catarinense** (R. Reitz, ed.). Herbario Barbosa Rodrigues, Itajaí, v. 1, n. 38, p. 1-124, 1973.

CARLQUIST, S. **Tribal interrelationships and phylogeny of the Asteraceae.** *Aliso*, v. 8, p. 465-492, 1976.

CARLSWARD, B.S.; STERN, W.L.; BYTEBIER, B. Comparative vegetative anatomy and systematics of the angraecoids (Vandaeae, Orchidaceae) with an emphasis on the leafless habit. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 151, n. 2, p. 165-218, 2006.

CASTELUCCI, S. et al. Anti-inflammatory activity of *Dasyphyllum brasiliensis* (Asteraceae) on acute peritonitis induced by  $\beta$ -glucan from *Histoplasma capsulate*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 192–198, 2007.

CHAMBERLAIN, C.J. The Embryo-sac of *Aster novae-angliae*. **Botanical Gazette**, v. 20, n. 5, p. 205-212, 1985.

CHEHREGANI, A.; MOHSENZADEH, F.; GHANAD, M. Male and Female Gametophyte Development in *Cichorium intybus*. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 13, p. 603-606, 2011.

CHEN, B.X.; SHI, C.Y.; HUANG, J.M.; WANG, M.; LIU, J.X. Megasporogenesis, female gametophyte development and embryonic development of *Ambrosia* L. in China. **Plant Systematics and Evolution**, p.1-12, 2013.

CHIKKANNAIAH, P.S.; HIREMATH, B.S. Embryological studies in *Launaea nudicaulis* Hook. **Proceedings: Plant Sciences**, v. 91, n. 6, p. 519-527, 1982.

CHUNG, I.C. **Revision of *Barnadesia* (Compositae–Mutisieae)**. Publ. by author, Chicago, 1965.

CORNER, E.J.H. **The Seeds of Dicotyledons**. Univ Press, Cambridge, England, 552p, 1976, 1 v.

COSTA, P.K. da; OLIVEIRA, J.M.S. de. Caracterização estrutural do fruto de *Dasyphyllum brasiliense* (Spreng) Cabrera (Barnadesioideae, Asteraceae) com considerações evolutivas. **Iheringia, Série Botânica** v. 66, n. 2, p. 159-286, 2011.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. New York Botanical Garden, Bronx, 1988, 555p.

DAVIS, G. L. Embryological studies in the Compositae. IV. Sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Brachycome ciliaris* (Labill.) Less. **Australian Journal of Botany**, v.12, n. 2, p.142-151, 1964.

DAVIS, G.L. Embryological studies in the Compositae, I. Sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Cotula australis* (less.) hook. F. **Australian Journal of Botany**, v.10, n.1, p.1-12, 1962.

DAVIS, G.L. Embryological studies in the Compositae. II. Sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Ammobium alatum* R. Br. **Australian Journal of Botany**, v. 10, p. 65-75, 1962b.

DE TONI, K.L.G; MARIATH, J. E. A. Ovule ontogeny of *Relbunium* species in the evolutionary context of Rubiaceae. **Australian Journal of Botany**, v. 58, n. 1, p. 70-79, 2010.

DE TONI, K.L.G.; MARIATH, J.E.A. Ovule ontogeny in Rubiaceae (Juss.): *Chomelia obtusa* (Cinchonoideae–Guettardeae) and *Ixora coccinea* (Ixoroideae–Ixoreae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 272, n. 1-4, p. 39-48, 2008.



DEBLE, L.P.; DEBLE, A.S.O. Asteraceae Bercht. e J. Presl (= Compositae Giseke) no Rio Grande do Sul. **Ciência & Ambiente**, v.42, p. 93-112, 2011.

DEMPEWOLF, H., RIESEBERG, L.H.; CRONK, Q.C. Crop domestication in the Compositae: a family-wide trait assessment. **Genetic Resources and Crop Evolution**. v. 55, n. 8, p. 1141-1157, 2008.

DENG, Y. et al. Flower morphologic anatomy and embryological characteristics in *Chrysanthemum multicaule* (Asteraceae). **Scientia Horticulturae**, v.124, n.4, p.500-505, 2010.

DESHPANDE, P.K. A reinvestigation of the endosperm in *Tridax procumbens* L.. **Current Science**, v. 31, p. 113-114, 1962.

DIBOLL, A. G.; LARSON, D.A. An electron microscopic study of the mature megagametophyte in *Zea mays*. **American Journal of Botany**, v. 53, n. 4, p. 391-402, 1966.

ELIASSON, U. H. Studies in Galapagos plants XI. Embryology of *Macraea laricifolia* (Compositae). **Svensk Botanisk Tidskrift**, v. 66, p. 43-47, 1972.

ENDRESS, P. K. Angiosperm ovules: diversity, development, evolution. **Annals of Botany**, v. 107, n. 9, p. 1465-1489, 2011.

EVERT, R. F. **Esau's Plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development**. John Wiley & Sons, 2006.

EZCURRA, C. Revisión del género *Chuquiraga* (Compositae - Mutiseae). **Darwiniana**, v. 26, p. 219-284, 1985.

FEDER, N.; O'BRIEN, T.P. Plant microtechnique. Some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v. 55, p. 123-142, 1968.

FIGUEIREDO, R.C., MASULLO, F.A., VIEIRA R.C., DE TONI, K.L.G. Development of carpels and ovules in *Psychotria carthagenensis* (Psychotrieae) and *Rudgea macrophylla* (Palicoureae) (Rubioidae, Rubiaceae). **South African Journal of Botany**, v.84, p. 110-114, 2013.

FOSTER, A. S. Plant idioblasts: remarkable examples of cell specialization. **Protoplasma**, v.46, n.1, p.184-193, 1956.

FREUDENSTEIN, J. V.; HARRIS, E. M.; RASMUSSEN, F. N. The evolution of anther morphology in orchids: incumbent anthers, superposed pollinia, and the vandoid complex. **American Journal of Botany**, v. 89, n.11, p. 1747–1755, 2002.

FUNK, V. A. et al. **Systematics, evolution, and biogeography of Compositae**. Vienna: International Association for Plant Taxonomy, 2009. 965p.

GABRIEL, B.L. **Biological Electron Microscopy**. Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1982, p. 264.

GAMERRO, J.C. Morfología del pólen de *Huarpea* y su relación con *Barnadesia* (Mutisieae, Compositae). **Darwiniana**, v. 26, p. 43-51, 1985.

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

GERSTERBERGER, P.; LEINS, P. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an Blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae) Anwendung einer neuen Präparationsmethode. **Berichte Der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, v. 91, p.381-387, 1978.

GOTELLI, M. M.; GALATI, B. G.; MEDAN, D. Embryology of *Helianthus annuus* (Asteraceae). **Annales Botanici Fennici**, v.45, n.2, p. 81-96, 2008.

GRAMUGLIO, G.; ARENA, M.; VILLARI, R. Embryological Study of *Senecio ambiguus* and *S. gibbosus* (Asteraceae). **Phyton** (Austria), v.23, n.1, p.39-42, 1983.

GRANDA P., A. Una nueva especie de *Chuquiraga* (Asteraceae-Mutisieae) del Perú. **Kurtziana**, v. 25, p. 151-156, 1997.

GREYSON, R.I.; MCDANIEL, C.N. **The Development of Flowers**. Oxford, New York: Oxford University Press, 1994, p. 313.

GRUENSTAEUDL, M. et al. Phylogeny of Barnadesioideae (Asteraceae) inferred from DNA sequence data and morphology. **Molecular Phylogeny and Evolution**, v. 51, p. 572-587, 2009.

GUNNING, B.E.S.; PATE, J.S. "Transfer cells" plant cells with wall ingrowths, specialized in relation to short distance transport of solutes their occurrence, structure, and development. **Protoplasma**, v. 68, n. 1-2, p. 107-133, 1969.

GUSTAFSSON, M.H.G. et al. Molecular phylogeny of the Barnadesioideae (Asteraceae). **Nordic Journal of Botany**, v. 21, p. 149-160, 2001.

HANSEN, H.V. Studies in the and general comments on pollen in tribe Mutisieae (Compositae) sensu Cabrera. **Nordic Journal of Botany**, v. 10, p. 607-623, 1991a.

HARLING, G. Compositae-Mutisieae. In: Harling, G. e Andersson L. (eds.), **Flora of Ecuador**, v. 42, p. 1-105, 1991.

HARLING, G. Embryological studies in the Compositae. Part I. Anthemideae-Anthemidinae. **Acta Horti Bergiani**, v. 15, n. 7, p.135-168, 1950.

HARLING, G. Embryological studies in the Compositae. Part II. Anthemideae-Chrysantheminae. **Acta Horti Bergiani**, v. 16, n. 2, p. 1-56, 1951a.

HARLING, G. Embryological studies in the Compositae. Part III. Astereae. **Acta Horti Bergiani**, v.16, n. 3, p. 71-120, 1951b.

HARRIS, E. M. Inflorescence and floral ontogeny in Asteraceae: a synthesis of historical and current concepts. **The Botanical Review**, v. 61, n. 2-3, p. 93-278, 1995.

HARRIS, E. M.; TUCKER, S.C.; URBATSCH, L.E. Floral initiation and early development in *Erigeron philadelphicus* (Asteraceae). **American Journal of Botany**, v.78, n.1, p. 108-121, 1991.

HERR JR, J. M. Embryology and taxonomy. p. 647-696. In: **Embryology of angiosperms**. Springer Berlin Heidelberg, 1984.

HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y.; KNOX, R. B.; HOWLETT, B. Pollen-wall Proteins: 'gametophytic' and 'sporophytic' Fractions in the Pollen Walls of the Malvaceae. **Annals of Botany**, v. 37, p. 403-12, 1973.

HJELMQVIST, H.; HOLMBERG, U. The development of the embryo sac in *Sanvitalia procumbens*. **Botany Notiser**, v. 114, p. 353-60, 1961.

HOWE, T.D. The female gametophyte of three species of *Grindelia* and of *Prionopsis ciliata* (Compositae). **American Journal of Botany**, v. 62, n. 3 p. 273-279, 1975.

HUANG, B.Q.; RUSSELL, S.D. Female germ unit: organization, isolation, and function. **International Review of Cytology**, v. 140, p. 233-233, 1992.

IGERSHEIM A., ENDRESS P.K. Gynoecium diversity and systematics of the paleoherbs. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 127, n. 4, p. 289–370, 1998.

ITO, M.; TAKEGAMI, M.H. Commitment of mitotic cells to meiosis during the G2 phase of premeiosis. **Plant and Cell Physiology**, v. 23, n. 6, p. 943-952, 1982.

JANSEN, R. K.; PALMER, J. D. A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolutionary split in the sunflower family (Asteraceae). **National Academy of Sciences**, v. 84, p. 5818-5822, 1987.

JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry: principles and practice**. São Francisco, W.H. Freeman, 1962.

JOHRI, M. B.; AMBEGAOKAR, K. B.; SRIVASTAVA, P. S. **Comparative embryology of Angiosperms**, Berlin, Springer-Verlag. 1992, 1221p.

JONES, H.A. Pollination and life history studies of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Hilgardia**, v.2, p. 425-479, 1927.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E.A.; STEVES, P.F.; DONOGHUE, M.J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3<sup>a</sup> ed. Artmed, Porto Alegre, 2009, 612p.

KAPIL, R. N.; SETHI, S. Gametogenesis and seed development in *Ainsliaea aptera* DC. **Phytomorphology**, v. 12, p. 222-234, 1962.

KAPIL, R.N.; TIWARI, S.C. The integumentary tapetum. **The Botanical Review**, v. 44, p. 457-490, 1978.

KATINAS, L.; STUESSY, T.F. Revision of *Doniophyton* (Compositae, Barnadesioideae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 206, p. 33-45, 1997.

KAUL, V.; DATHAN, A.S.R.; SINGH, D. Embryological studies of the genus *Sonchus*. **Journal of the Indian Botanical Society**, v. 54, n. 3-4, p. 238-245, 1975.

KUROIWA, H. Ultrastructural examination of embryogenesis in *Crepis capillaris* (L.) Wallr: The synergid before and after pollination. **The botanical magazine Shokubutsu-gakuzasshi**, v. 102, n. 1, p. 9-24, 1989.

LAKSHMI, P.S.; PULLAIAH, T. Embryology of *Senecio tenuifolius* Burm. F. (Asteraceae). **Taiwania**, v. 32, p. 208-213, 1987.

LERSTEN, N. R. **Flowering Plant Embryology With Emphasis on Economic Species**. 2004. 212p.

LI, J.; NIANJUN, T.; FADI, C.; SUMEI, C.; CHUNQING, S.; WEIMIN, F. Reproductive characteristics of *Opisthopappus taihangensis* (Ling) Shih, an endangered Asteraceae species endemic to China. **Scientia Horticulturae**, v. 121, n. 4, p. 474-479, 2009.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2000. 608p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 2ed., Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 544p.

LUNDBERG, J.; BREMER, K. A phylogenetic study of the order Asterales using one morphological and three molecular data sets. **International Journal of Plant Sciences**, v. 164, p. 553-578, 2003.

MAHESHWARI, P. **An introduction to the embryology of angiosperms**. McGraw-Hill Publishing Company Ltd., New Delhi, 1950. 453p.

MAHESHWARI Devi, H. Embryological studies in Compositae. IV. Heliantheae. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences**, v. 38, p. 274-90, 1963.

MAHESHWARI, P.; SRINIVASAN, A. R. A contribution to the embryology of *Rudbeckia bicolor* Nutt. **New Phytologist**, v. 43, p. 135-142, 1944.

MARIATH, J.E.A., COCUCCI, A.E. The ovules of *Relbunium hypocarpium* in the context of the Rubiaceae. **Kurtziana**, v. 25, p. 141-150, 1997.

MARTIN, R.W.; SMITH, F.H. Megagametophyte Development in *Chrysanthemum leucanthemum* L. **Botanical Gazette**, v. 116, n.3, p. 243-249,1955.

MCDOWELL, E. M.; TRUMP, B. R. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 100, n. 8, p. 405-414, 1976.

MELLO, M.C. de; FIOR, C.S.; OLIVEIRA, J.M.S. de. Anatomia do fruto de *Schlechtendalia luzulifolia* Less. (Barnadesioideae, Asteraceae Bercht. & J. Presl) **Iheringia, Série Botânica**, v. 64, n. 1, p. 77-80, 2009.

MISRA, S. Floral morphology of the Compositae. III. Embryology of *Siegesbeckia orientalis* L., **Australian Journal of Botany**, v. 13, p. 1-10, 1965.

MONDIN, C. A.; BATISTA, L. R. M. Relações biogeográficas da tribo Mutisieae CASS. (ASTERACEAE), sensu CABRERA, no Rio Grande do Sul. Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia, Universidade Católica do Rio Grande do Sul. **Série Botânica**, v. 2, n. 1, p. 49-152, 1996.

NAKAJIMA, J. et al. *Asteraceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível no site: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB55>, 2014.

NEWCOMB, W. The development of the embryo of sunflower *Helianthus annuus* before fertilization. **Canadian Journal of Botany**, v. 51, p. 863-878, 1973.

NEWCOMB, W.; STEEVES, T.A. *Helianthus annuus* embryogenesis: embryo sac wall projections before and after fertilization. **Botanical Gazette**, p. 367-371, 1971.

NINNEMANN, H.; EPEL, B. Inhibition of cell division by blue light. **Experimental cell research**, v. 79, n. 2, p. 318-326, 1973.

NOYES, R.D. Apomixis in the Asteraceae: diamonds in the rough. **Functional Plant Science and Biotechnology**, v. 1, p. 207-222, 2007.

O'BRIEN, T.P.; MCCULLY, M.E. **The Study of Plant Structure Principles and Selected Methods**. Termarcarphi Pty Ltd, Melbourne, 1981.

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

PARRA, O.; MARTICORENA, C. Granos de polen de plantas Chilenas, II. Compositae-Mutisieae. **Gayana Botanica**, v. 21, p. 3-107, 1972.

PASSONI, F. D. et al. Polifenóis na fração ativa de espinho-agulha (*Dasyphyllum brasiliense*, Asteraceae), uma planta medicinal com atividade anti-inflamatória. In: **31<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2002.

PATE, J. S.; GUNNING, B. E. S. Transfer cells. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 23, n. 1, p. 173-196, 1972.

PESACRETA, T.C.; STUESSY, T.F. Autofluorescent walls of connective bases in anthers of Barnadesioideae (Asteraceae), and systematic implications. **Taxon**, v. 45. p. 473-485, 1996.

PLACHNO, B.J.; MUSIAL, K.; SWIATEK, P.; TULEJA, M.; MARCINIUK, J.; GRABOWSKA, J. Synergids and filiform apparatus in the sexual and apomictic dandelions from section Palustria (*Taraxacum*, Asteraceae). **Protoplasma**, v. 251, n. 1, p. 211-217, 2014.

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

PRAKASA-RAO, P. S.; SUNDARI, K. T.; NARAYANA, L. L. Some embryological features of *Emilia flammea* Cass. **Current science**, v. 48, n. 3, p.129-131, 1979.

PULLAIAH, T. **Embryology of Compositae**. New Delhi, Today and Tomorrow, 1984. 192p.

PULLAIAH, T. Embryology of *Tithonia rotundifolia*. **Phytomorphology**, v. 28, p. 437-444, 1978a.

PULLAIAH, T. Studies in the embryology of Compositae. IV. The tribe Inuleae. **American Journal of Botany**, v.66, n. 10, p.1119-1127, 1979.

PULLAIAH, T. Studies in the embryology of Heliantheae (Compositae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 137, n. 3, p. 203-214, 1981.

PULLAIAH, T. Studies in the Embryology of Senecioneae (Compositae). **Plant Systematics and Evolution**, Anantapur, v.142, p. 61-70, 1983.

PULLAIAH, T.; LAKSHMI, P.S. A contribution to the embryology of *Cicerbita alpina* (Linn.) Wallr. In: **Proceedings of the Indian Academy of Sciences**, v. 93, n.4, p. 437-41, 1984.

RAGHAVAN, V. **Molecular embryology of flowering plants**. Cambridge University Press, 1997.

RAJAN, S. Embryological Studies in Compositae, III. A contribution to the Embryology of *Blainvillea rhomboidea*, Cass. (*B. latifolia*, DC) **Proceedings of the Indian Academy of Sciences**. V. 75, n.4, p. 167-176. 1971.

RAJAN, S.S. Embryological studies in compositae IV. A contrinution to the Life-History of *Spilanthes acmilla*, Murr. (*S. calva*, Wt. Ic.). **Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section B**, p. 267-282, 1974.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria Estadual do Meio Ambiente. **Lista das espécies da flora ameaçadas de extinção do Rio Grande do Sul**, 2002. Disponível em: <<http://www.sema.rs.gov.br/sema/html/pdf/especies-ameacadas.pdf>>. Acesso em: 17 jun. 2012.

RODKIEWICZ, B. Callose in cell walls during megasporogenesis in angiosperms. **Planta**, v. 93, n. 1, p. 39-47, 1970.

RUSSELL, S. D. Fine structure of megagametophyte development in *Zea mays*. **Can. J. Bot.** v. 57, p. 1093-1110, 1979.

SAGÁSTEGUI A.; SÁNCHEZ V., I. Una nueva espécie de *Chuquiraga* (Asteraceae-Mutisieae) del Norte del Perú. **Arnaldoa**, v.1, n. 2, p. 1-4, 1991.

SASS, J.E. **Botanical microtechnique**. 2<sup>a</sup> ed. Iowa: State College Press, 228 p, 1951.  
SHARMA, H.P.; MURTY, Y.S. Embryological studies in the Composite Astereae-II. In: **Proceedings of the Indian Academy of Sciences**, Springer India, v.87 B, n.5, p. 149-156, 1978.

SMITH, B.B.; JOHNSON, L.K. Early ovule development, megasporogenesis and megagametogenesis in *Solidago Graminifolia* Var. *Nuttallii* and *Solidago canadensis* Var. *canadensis* (Asterales: Asteraceae: Tubuliflorae: Astereae). **American Journal of Botany**, v. 67, n. 5, p. 612-618, 1980.



SOOD, S.K.; THAKUR, T.S. Development of male and female gametophytes and integument initiation in *Prenanthes brunoniana* Wall. (Compositae). **Proceedings: Plant Sciences**, v. 94, n. 4-6, p. 553-559, 1985.

SPJUT, R.W. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, v. 70, p. 1-82, 1994.

STEWART, K. D.; GIFFORD JR, E. M. Ultrastructure of the developing megaspore mother cell of *Ginkgo biloba*. **American Journal of Botany**, v. 54, n. 3, p. 375-383, 1967.

STUESSY, T.F.; SAGÁSTEGUI A., A. Revisión de *Arnaldoa* (Compositae, Barnadesioideae), género endémico Del norte de Peru. **Arnaldoa**, v.1, n. 4, p. 9-21, 1993.

STUESSY, T.F.; SANG, T.; DeVORE, M.L. Phylogeny and biogeography of the subfamily Barnadesioideae with implications for early evolution in Compositae. In: Hind, D.J.N., Jeffrey, C., Pope, G.V. (Eds.), Proceedings of the International Compositae Conference, Kew. **Royal Botanic Gardens**, Kew, London, v. 1, p. 463-490, 1996.

STUESSY, T.F.; URTUBEY, E. Phylogenetic implications of corolla morphology in subfamily Barnadesioideae (Asteraceae). **Flora**, v. 201, p. 340-352, 2006.

TIAGI, B.; TAIMINI S. Embryo-sac development in *Vernonia cinerascens* Shult. and seed development in *V. cinerea* Less.. **Current Science**, 1960.

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

TORRES, C.; GALETTO, L. Style morphological diversity of some Asteraceae species from Argentina: systematic and functional implications. **Journal of Plant Research**, v. 120, p. 359-364, 2007.

ULLOA, U.C.; JORGENSEN, P.M.; DILLON, M.O. *Arnaldoa argentea* (Barnadesioideae; Asteraceae), a new species and a new generic record for Ecuador. **Novon**, v. 12, p. 415-419, 2002.

URTUBEY, E. Revisión del género *Barnadesia* (Asteraceae, Barnadesioideae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 33, p. 69-75, 1999.

URTUBEY, E.; STUESSY, T. F. New hypotheses of phylogenetic relationships in Barnadesioideae (Asteraceae) based on morphology. **Taxon**, v. 50, n. 4, p. 1043-1066, 2001.

URTUBEY, E.; TELLERÍA, M.A. Pollen morphology of the subfamily Barnadesioideae (Asteraceae) and its phylogenetic and taxonomic significance. **Review of Paleobotany and Palynology**, v.104, p. 19-37, 1998.

VENKATESWARLU, J. Vascular supply in the ovules of some Compositae. **Current Science**, v.10, p. 367-368, 1941.

VENKATESWARLU, J.; MAHESWARI Devi, H. Embryological studies in compositae. II. Helenieae. In **Proceedings of the National Institute of Sciences of India**, v. 21, n. 4, p. 149-61, 1955.

VILLARI, R. Embryology of *Helichrysum rupestre* (Rafin.) DC. var. *messerii* Pignatti (Inuleae, Asteraceae). **Giornale botânico italiano: oficial Journal of the Societa Botanica Italiana**, v.121, n.1-2, p.27-40, 1987.

WILLEMSE, M. T. M.; VAN WENT, J. L. The female gametophyte. In: **Embryology of angiosperms**. Springer Berlin Heidelberg, p. 159-196, 1984.

WODEHOUSE, R. P. The phylogenetic value of pollen-grain characters. **Annals of Botany**, n. 4, p. 891-934, 1928.

WODEHOUSE, R.P. Pollen grains. **New York: McGraw-Hill**. 1935, 574p.

YAMADA T, IMAICHI R, KATO M. Developmental morphology of ovules and seeds of Nymphaeales. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 6, p. 963-974, 2001.

YAN, H.; YANG, H.Y.; JENSEN, W. A. Ultrastructure of the developing embryo sac of sunflower (*Helianthus annuus*) before and after fertilization. **Canadian Journal of Botany**, v. 69, n. 1, p. 191-202, 1991.

YURUKOVA-GRANCHAROVA, P.; DIMITROVA, D. Cytoembryological study of *Crepis bithynica* (Asteraceae) from Bulgaria. **Familial Mediterranean**, v.16, p. 33-43, 2006.

YURUKOVA-GRANCHAROVA, P.; ROBEVA-DAVIDOVA, P.; VLADIMIROV, V. On the embryology and mode of reproduction of selected diploid species of *Hieracium* (Asteraceae) from Bulgaria. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 201, n.8, p. 668-675, 2006.

YURUKOVA-GRANCHAROVA, P.D. On the embryology of *Leontodon autumnalis* (Asteraceae). **Phytologia Balcanica**, v. 10, n.1, p.85-91, 2004.

ZARDINI, E.M.; SORIA, N. A new species of *Dasyphyllum* (Asteraceae-Mutisieae) from Paraguay. **Novon**, v. 4, p. 80-82, 1994.

ZHAO, Z. et al. Phylogenetic implications of pollen morphology and ultrastructure in the Barnadesioideae (Asteraceae). **Lundellia**, v. 3, p. 26-40, 2000.