

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal

Stéphani Karoline de Vasconcelos Bonifácio

**EVOLUÇÃO DAS GLÂNDULAS CALICINAIS DE MALPIGHIACEAE:
prospecções da anatomia floral no contexto da ordem Malpighiales**

Belo Horizonte

2021

Stéphani Karoline de Vasconcelos Bonifácio

**EVOLUÇÃO DAS GLÂNDULAS CALICINAIS DE MALPIGHIACEAE:
prospecções da anatomia floral no contexto da ordem Malpighiales**

Versão final

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Maria Trombert Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. André Márcio Araújo Amorim

Belo Horizonte

2021

043 Bonifácio, Stéphani Karoline de Vasconcelos
Evolução das glândulas calicinais de Malpighiaceae: prospecções da anatomia floral no contexto da ordem Malpighiales [manuscrito] / Stéphani Karoline de Vasconcelos Bonifácio. – 2021.
169 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Maria Trombert Oliveira. Coorientador: Prof. André Márcio Araújo Amorim.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

1. Anatomia. 2. Filogenia. 3. Homologia (Biologia). 4. Flores. 5. Nectarios. I. Oliveira, Denise Maria Trombert de. II. Amorim, André Márcio Araújo. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 581



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

Título: "Evolução das glândulas calcinais de Malpighiaceae – prospecções da anatomia floral no contexto da ordem Malpighiales", requisito final para obtenção do grau de Doutor em Biologia Vegetal, área de concentração **Morfologia, Sistemática e Diversidade Vegetal.**

Tese defendida por Stéphanie Karoline de Vasconcelos Bonifácio em 25 de novembro de 2021 e aprovada pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado, constituída pelos professores:

Dra. Denise Maria Trombert de Oliveira (Universidade Federal de Minas Gerais), Dra. Letícia Silva Souto (Universidade Federal de São Carlos), Dr. Orlando Cavalari De-Paula (Universidade Federal de Uberlândia), Dr. Leandro Cézarne de Souza Assis (Universidade Federal de Minas Gerais), Dr. Lucas Cardoso Marinho (Universidade Federal do Maranhão).

Belo Horizonte, 25 de novembro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Lucas Cardoso Marinho, Usuário Externo**, em 25/11/2021, às 18:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Orlando Cavalari de Paula, Usuário Externo**, em 25/11/2021, às 18:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Denise Maria Trombert de Oliveira, Professora do Magistério Superior**, em 25/11/2021, às 18:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Letícia Silva Souto, Usuário Externo**, em 25/11/2021, às 18:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Cezanne de Souza Assis, Membro de comissão**, em 26/11/2021, às 10:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1083960** e o código CRC **92384A8A**.

*A todos os professores que tornaram possível
a minha chegada até aqui. Em especial, aos
professores mais importantes da minha vida,
os meus pais: Voinice e José Bonifácio,*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

Às agências de fomento (CNPq, FAPEMIG e FAPESB), por proverem esta pesquisa, à CAPES pela bolsa concedida, e aos contribuintes brasileiros que as mantêm, permitindo a continuidade da pesquisa científica do Brasil.

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao PPG em Biologia Vegetal, pela acolhida e infraestrutura. Também agradeço a todos os funcionários que, direta ou indiretamente, me ajudaram nesse percurso, em especial à Denise (secretaria), ao Wagner (laboratório de anatomia), Gustavo e a Naiara (herbário) e ao Kender (Seção de Infraestrutura e Logística), por todo o auxílio. Também agradeço às equipes de segurança e limpeza que, pelo seu trabalho, possibilitaram que eu realizasse o meu.

Agradeço também aos professores do Departamento de Botânica do ICB, com carinho aos anatomistas: Profa. Dra. Denise Oliveira, Profa. Dra. Rosy Isaías, Prof. Dr. Fernando Vale e ao Prof. Dr. Élder Paiva, por todos os aprendizados. Ao Prof. Élder, agradeço de maneira especial pela paciência em me socorrer todas as vezes em que tive alguma dúvida e pelos momentos de descontração, sempre inesperados.

À Profa. Dra. Denise Oliveira, por aceitar ser a minha orientadora desde o dia da minha defesa de mestrado. Sou grata por sua amizade, incentivo, confiança, liberdade, paciência e lições. Também a agradeço pelas oportunidades que me ofereceu e pelas excelentes discussões sobre educação. Vir para a UFMG para ser sua orientada foi uma das melhores decisões que tomei na vida!

Ao Prof. Dr. André Amorim, por aceitar ser meu coorientador e oferecer as sugestões iniciais para este estudo. Agradeço a sua amizade, conversas descontraídas, as aulas particulares de taxonomia, toda a ajuda no campo e na obtenção das amostras, e por todo o apoio, incluindo as incontáveis trocas de áudios no WhatsApp.

Às curadorias dos herbários: Herbário Maria Eneyda PK Fidalgo (SP), Herbário do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Herbário Nacional do México (MEXU), Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS) e ao Herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi (MG), pelas doações das amostras utilizadas neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Pedro Fiaschi (UFSC) e ao Prof. Dr. Marcelo Pace (Universidad Nacional Autónoma de México), pela ajuda para conseguir algumas das amostras utilizadas nessa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Leandro Assis, Profa. Dra. Letícia Souto, Profa. Dra. Aline Oriani, Profa. Dra. Sarah Reis e Prof. Dr. Fernando do Vale pelas valorosas contribuições no trabalho da qualificação. Agradeço sobretudo ao Prof. Leandro, pelas incríveis discussões sobre homologia e Ciência.

Antecipadamente, agradeço aos membros da banca por terem aceito o convite.

Às minhas antigas casas: Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul e Universidade Federal de Uberlândia, por sua contribuição inestimável na minha formação. À UEMS, principalmente, por abrir suas portas ainda no meu primeiro ano de ensino médio por meio da bolsa de iniciação científica júnior.

Às amigas Carol, Sinthia, Mackeit, Kamila e Karol, por todo o apoio e carinho. Aos amigos da graduação Witer e Jozafan, pelo carinho e por compartilharem as suas paixões pela vida. Aos amigos do mestrado Rafael e Ludimila, pela parceria e pelas constantes conversas filosóficas.

Aos amigos do ‘Mapa Schwarzenegger’: Alberto Teixido, Igor Ballego-Campos, Mariana Duarte e David Sanín, com os quais continuo aprendendo muito e que fizeram da minha vida mais leve e engraçada.

Aos amigos que fiz em Belo Horizonte, pela acolhida e por fazer meus dias aqui mais felizes: Elaine Cotrim, Daniela Boaneres, Pedro Máfia, Letícia Cunha e Igor Arriola.

À família PlantSeR, pelos cafés, amizade e por me ajudar a crescer quanto pessoa e profissional: Aryana, Camila, Carol, Victor, Andrea, Gabriel, Adriano, Igor, Mariana, Élder e Denise. Em especial, agradeço à Mari pela acolhida em BH desde a seleção do doutorado, e que foi minha maior companheira nesses anos, ao Igor pela parceria sempre presente, ao Gabriel pelas alegrias e cervejas, e à Camila pela troca de ideias e ideais e pelos momentos gloriosos (incluindo as inesquecíveis coletas). Vocês certamente são uma família para mim!

Aos colegas do laboratório de taxonomia, pelo auxílio sempre que solicitado. Também incluo aqui os taxonomistas que conheci ao longo do caminho: Renata Asprino (UEFS), Lucas Marinho (UFMA) e Yuri Gouvêa (UFMG), por também terem me auxiliado nas coletas e por suas consultas taxonômicas.

Aos meus antigos orientadores, exemplos que seguirei para a vida: Prof. Dr. João Denardi (UEMS), pela amizade, por enxergar potencial em mim lá no meu primeiro ano da graduação, por me fazer apaixonar pela anatomia vegetal, por toda a paciência e ensinamentos. À Profa. Dra. Juliana Marzinek (UFU), pela amizade, experiências compartilhadas e pelo empurrãozinho para o doutorado.

À minha tia-madrinha Maria Auxiliadora (*in memoriam*), uma das minhas principais referências em educação, que foi uma das minhas primeiras incentivadoras para o ingresso no mestrado e no doutorado e sempre comemorava intensamente as minhas conquistas (hoje vistas do céu).

À Talita, Marcelo, Davi, Mariana, Manu, Lincon, Lilian, D. Sueli, S. Paulo, Vanessa, Rafael, Alice e Lorenzo, que com o seu carinho me fizeram ser mais forte.

À Dejacira (minha mãe do coração), por seus bendizeres e carinho.

Ao Vagner, pela compreensão, amizade e suporte (fundamentalmente, o tecnológico). Sou grata pelo seu companheirismo, amor, e paciência, que permitiram que pudesse dar continuidade à pesquisa em meio ao caos que vivenciamos nesses últimos dois anos. Você tem um papel muito importante na minha formação e seu incentivo foi essencial desde a iniciação científica.

Ao Nicholas, meu irmão, pelo apoio, palavras amigas e amor. E por nunca me fazer esquecer do quanto sou capaz!

Aos meus pais, Voinice e José Bonifácio, pelas suas constantes orações, por acreditarem em mim, nos meus sonhos e no meu potencial. Pelo apoio financeiro, quando necessário. E, principalmente, pelos ensinamentos éticos e morais que me acompanham na minha atuação profissional, e por compartilharem comigo o seu ideal de que a educação é a herança mais preciosa desse mundo.

Por fim, estendo os meus agradecimentos a todos os professores que passaram pela minha vida, desde o ensino básico até aqui. Mas especialmente aqueles que conheci no ensino básico, porque tornaram possível que a aluna que sempre estudou em escola pública, ingressasse em uma universidade pública e depois se tornasse a primeira pessoa da sua família a ingressar no mestrado e depois no doutorado. Pois, “[...]ensinar é criar as possibilidades [...]” (Paulo Freire).

A todos que contribuíram direta ou indiretamente, obrigada!

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

“... que a importância de uma coisa não se mede com fita métrica nem com balança nem com barômetro etc. Que a importância de uma coisa há que ser medida pelo encantamento que a coisa produza em nós”.

(Manoel de Barros)

*“Quem tem consciência para ter coragem
Quem tem a força de saber que existe
E no centro da própria engrenagem
Inventa contra a mola que resiste*

*Quem não vacila mesmo derrotado
Quem já perdido nunca desespera
E envolto em tempestade, decepado
Entre os dentes segura a primavera”*

(João Ricardo/ João Apolinário)

RESUMO

Os elaióforos de Malpighiaceae foram os primeiros a surgirem na história evolutiva das angiospermas e caracterizam as espécies neotropicais dessa família. Reconhecidas por sua morfologia floral, as Malpighiaceae exibem flores muito semelhantes entre si, sendo os caracteres mais marcantes a presença de um perianto pentâmero com elaióforos no cálice e corola zigomorfa na maioria das espécies. Essas características têm sido mantidas em diferentes linhagens da família, acredita-se que em resposta à relação mutualística com abelhas coletoras de óleo. Contudo, algumas linhagens neotropicais são eglandulares e os processos pelos quais a sua morfologia floral tem sido modificada não são bem entendidos. Ainda, como a vascularização floral constitui a parte mais conservada de uma flor, estudos desse tipo podem elucidar etapas anteriores à atual morfologia externa, evidenciando estados da ancestralidade da flor. Assim, o objetivo principal deste trabalho foi investigar, por meio da vascularização floral, os processos evolutivos envolvidos no surgimento, na manutenção e na supressão dos elaióforos de Malpighiaceae, levando em consideração a circunscrição da família em Malpighiales. Embora não constituam órgãos florais propriamente ditos, os elaióforos se mantêm como tal, de maneira que existem vestígios vasculares de sua ocorrência na maioria das linhagens eglandulares. Mesmo que a morfologia floral se modifique, incluindo espécimes com corola actinomorfa, espécies eglandulares mais derivadas ainda podem exibir o mesmo padrão vascular de linhagens basais, o que confirma a anatomia vascular como a parte mais conservada da flor, revelando seus estados ancestrais. As análises comparadas sugerem que o cálice eglandular é homoplástico, sendo produto de conação ou redução, mas que sempre culmina em redução. Além disso, a anatomia floral mostrou-se relevante para entender as diferenças entre Malpighiaceae e seu grupo irmão, Elatinaceae revelando evidências sobre seu sistema reprodutivo a favor da autogamia. Dados sobre a vascularização e ontogênese dos elaióforos permitem inferir que sua origem remete ao ancestral comum das Malpighiales, não sendo relevante somente para Malpighiaceae, mas também para a ordem. Assim, Malpighiaceae se mostra como excelente objeto de estudo para tratar aspectos evolutivos que modificam a morfologia floral.

Palavras-chave: anatomia, elaióforo, Elatinaceae, filogenia, flor, homologia, nectário, neotrópico, sépala, vascularização floral.

ABSTRACT

The Malpighiaceae elaiophore were the first to appear in the evolutionary history of angiosperms and are usual features of the neotropical species of the family. Recognized by their floral morphology, Malpighiaceae exhibit flowers that are very similar to each other, with the most remarkable character the presence of pentamerous perianth with elaiophores in the calyx and the zygomorphic corolla. These characteristics have been maintained in different lineages of the family in response to the mutualistic relationship with oil-collecting bees. However, some neotropical lineages are eglandular and the processes by which their floral morphology has been modified are still unclear. Also, as the floral vasculature constitutes the most conserved part of a flower, studies of this type can elucidate stages before the current external morphology, as they show the flower's ancestral states. Thus, the main objective of this study was to understand, through floral vasculature, the evolutionary processes involved in the emergence, maintenance, and suppression of Malpighiaceae elaiophore considering the family circumscription in Malpighiales. Although they do not constitute floral organs themselves, the elaiophore remain as such, so that there are vascular traces in most eglandular lineages. Even though the floral morphology changes, including those with the actinomorphic corolla, derived eglandular species can still exhibit the same vascular pattern as basal lineages, confirming the vascular anatomy as the most conserved part of the flower, revealing its ancestral states. Comparative analyzes suggest that the eglandular calyx is homoplastic, as result of conation or reduction. Furthermore, floral anatomy proved to be relevant to understand the differences between Malpighiaceae and its sister group, Elatinaceae, revealing evidence about their reproductive system towards of autogamy. Data on the elaiophore vasculature and ontogenesis allow us to infer that their origin refers to the common ancestor of the Malpighiales, being relevant for the entire order too. Thus, Malpighiaceae is an excellent group of study to treat evolutionary aspects that modify floral morphology.

Keywords: anatomy, elaiophore, Elatinaceae, floral vasculature, flower, homology, nectary, Neotropics, phylogeny, sepal.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
OBJETIVOS	16
Objetivo geral.....	16
Estrutura da tese e objetivos específicos.....	16
REFERÊNCIAS GERAIS	17
CAPÍTULO I – A sinorganização floral no clado acmantheroide sugere hipóteses para explicar a supressão dos elaióforos em Malpighiaceae	19
Resumo.....	21
CAPÍTULO II – A relevância filogenética da anatomia floral de Elatinaceae Dumortier (Malpighiales): evidências morfológicas para a evolução em direção à autogamia	22
Resumo.....	24
Introdução.....	24
Material e métodos.....	25
Resultados.....	26
Discussão.....	28
Conclusões.....	33
Agradecimentos.....	33
Referências.....	34
Tabelas.....	41
Figuras.....	45
CAPÍTULO III – Desvendando a homologia entre glândulas calicinais em Malpighiales: novos dados de Malpighiaceae basais	60
Resumo.....	62
Introdução.....	62
Material e métodos.....	64
Resultados.....	66
Discussão.....	68
Conclusão.....	74
Agradecimentos.....	74
Referências.....	75
Tabelas.....	81

Figuras.....	84
Material suplementar.....	99
CAPÍTULO IV – O conservantismo floral de <i>Lasiocarpus</i> e <i>Ptilochaeta</i>, gêneros neotropicais de Malpighiaceae sem elaióforos e sem corola zigomorfa.....	111
Resumo.....	113
Introdução.....	113
Material e métodos.....	115
Resultados.....	115
Discussão.....	118
Agradecimentos.....	121
Referências.....	122
Tabelas.....	126
Figuras.....	130
CAPÍTULO V – A supressão dos elaióforos nas Malpighiaceae neotropicais - evidências da vascularização floral.....	141
Resumo.....	143
Introdução.....	143
Material e métodos.....	145
Resultados.....	146
Discussão.....	148
Conclusões.....	151
Agradecimentos.....	151
Referências.....	151
Tabela.....	154
Figuras.....	155
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	168

INTRODUÇÃO GERAL

Malpighiales é uma ordem de angiospermas cujos representantes são morfologicamente diversos. Estão circunscritos, neste complexo grupo, famílias importantes economicamente, tais como Passifloraceae Juss. ex Roussel, Caryocaraceae Voigt, Euphorbiaceae Juss. e Malpighiaceae A. Juss. (Wurdack e Davis 2009; Xi et al. 2012). Essa última é a família que nomeia a ordem e que, por muito tempo, teve sua posição filogenética controversa por exibir muitas autapomorfias (Davis e Chase 2004).

Malpighiaceae é uma família tropical cujo monofiletismo é reconhecidamente indiscutível, apoiada por dados morfológicos e moleculares (Anderson 1979; Chase et al. 1993; Cameron et al. 2001; Davis et al. 2001). No entanto, suas definições e relações intergenéricas são filogeneticamente problemáticas e não permitem o reconhecimento de subfamílias (Anderson et al. 2006). Por essa razão, a classificação da família não é tribal e seus grupos têm sido tratados informalmente a partir de clados que emergem bem sustentados na filogenia (Anderson et al. 2006; Davis e Anderson 2010).

Com aproximadamente 1.300 espécies circunscritas em 78 gêneros, as Malpighiaceae incluem árvores, arbustos, lianas e ervas perenes, distribuídas em florestas e formações savânicas do Novo e Velho Mundo (Anderson et al. 2006; Davis e Anderson 2010). Seus representantes caracterizam-se pela presença de tricomas em formato de T, V ou Y (i.e. tricomas malpighiáceos), por apresentarem folhas comumente opostas, simples e inteiras, penínérveas, com estípulas no pecíolo, onde é acompanhado por duas ou mais glândulas, que também podem ocorrer na face abaxial do limbo (Anderson et al. 2006). As flores inserem-se em inflorescências axilares ou terminais, geralmente racemosas ou paniculadas. As flores são, geralmente, bissexuadas, zigomorfas, com cálice pentâmero que é, usualmente, dialissépalo e, na maioria das vezes, acompanhado por um par de glândulas, conhecidas como glândulas calicinais. O gineceu é tricarpelar, trilocular e com um único óvulo em cada lóculo (Anderson et al. 2006).

Tais glândulas distinguem as espécies ocorrentes no Velho Mundo daquelas encontradas no Novo Mundo, pois as glândulas calicinais presentes em flores de indivíduos neotropicais exsudam óleo, consistindo-se em elaióforos, enquanto as espécies do Velho Mundo (quando apresentam glândulas calicinais) secretam néctar (Anderson 1990; Vogel 1990). Além disso, as espécies neotropicais são reconhecidas por sua semelhança na sua morfologia floral, enquanto aquelas encontradas no Velho Mundo costumam ser bem diversificadas (Vogel 1990).

A comparação da morfologia floral entre espécies aparentadas sugere que a estase morfológica das espécies neotropicais tem sido mantida por milhões de anos por meio da

relação mutualística com abelhas coletoras de óleo (Davis et al. 2014). Desse modo, duas características associadas ao mutualismo são a corola zigomorfa e a presença das glândulas calicinais (Anderson 1979; Davis et al. 2014).

Em Malpighiaceae, a polinização é realizada por abelhas da família Apidae das tribos Centridini e Tapinotaspidini, que são coletoras de óleo (Vogel 1990; Sigrist e Sazima 2004). Essas plantas são dependentes de seus polinizadores em função da hercogamia, protoginia e pela presença de cutícula sobre o estigma (Sigrist e Sazima 2004).

Algumas espécies neotropicais carecem completamente de glândulas calicinais e são, presumivelmente, polinizadas por abelhas que utilizam o pólen como recompensa (Anderson 1990) ou que, eventualmente, são ‘enganadas’ visitando flores que não apresentam tais estruturas (Simpson e Neff 1981; Sazima e Sazima 1989). As espécies neotropicais eglandulares, isto é, desprovidas de elaióforos, estão distribuídas em vários clados e gêneros (Anderson 1990; Davis e Anderson 2010). Entretanto, alguns gêneros são reconhecidos por não apresentarem elaióforos, o que indica a quebra do conservantismo floral (Anderson 1990). Seguindo a classificação filogenética mais recente para a família (Davis e Anderson 2010), os oito gêneros eglandulares estão distribuídos em seis clados: *Coleostachys* A. Juss. (clado acmantheroide), *Galphimia* Cav. (clado galphimioide), *Ptilochaeta* Turcz. e *Lasiocarpus* Liebm. (clado ptilochaetoide), *Thryallis* Mart. e *Echinopterys* A. Juss. (clado tristellateioide), *Psychopterys* W.R. Anderson & S. Corso e *Ectopopterys* W.R. Anderson (clado *Ectopopterys*). O gênero *Galphimia* é majoritariamente eglandular, mas algumas de suas espécies podem exibir diminutas glândulas calicinais entre as sépalas (Anderson 2007).

Além disso, alguns gêneros registram morfotipos florais glandulares (incluindo oito a dez glândulas) e eglandulares (Anderson et al. 2006). Assim como os gêneros eglandulares, também estão distribuídos em diferentes linhagens: *Byrsonima* H.B.K. (clado byrsonimoide), *Pterandra* A. Juss. (clado acmantheroide), *Heteropterys* H.B.K. e *Carolus* W.R. Anderson (clado tetrapteroide), *Diplopterys* A. Juss., *Banisteriopsis* C.B. Rob., *Janusia* A. Juss. e *Aspicarpa* Rich. (clado stigmaphylloide) (Anderson et al. 2006; Davis et al. 2010).

Sobre a origem das glândulas calicinais, Vogel (1990) propôs que os elaióforos surgiram a partir dos nectários extraflorais presentes em Malpighiaceae. Baseados em dados de anatomia e histoquímica, alguns trabalhos concordaram com o autor e afirmam que nectários extraflorais e elaióforos são estruturas homólogas (Subramanian et al. 1990; Castro et al. 2001; Araújo e Meira 2016). Contudo, até o momento nenhum estudo avaliou a evolução dos elaióforos de Malpighiaceae levando em consideração o seu posicionamento filogenético. Elatinaceae, por exemplo, que é o grupo irmão de Malpighiaceae (Davis e Chase 2004), tem a anatomia floral

desconhecida e poderia trazer informações relevantes sobre estados plesiomórficos para Malpighiaceae.

Com relação aos processos envolvidos na diminuição do número de glândulas calicinais, Souto e Oliveira (2013) propuseram, por meio da vascularização floral, que a conação e a redução sejam os processos envolvidos no estabelecimento da sépala anterior eglandular ocorrente nas espécies por elas analisadas. Em *Mascagnia cordifolia* A. Juss., a vascularização indica que houve conação entre as glândulas da sépala anterior, resultando numa sépala eglandular. Já *Tetrapteryx chamaecerasifolia* A. Juss. e *Janusia mediterranea* (Vell.) W.R. Anderson não têm vestígios da vascularização das glândulas ausentes, o que provavelmente é resultado da redução que aconteceu em ancestrais mais distantes. Assim, dois processos diferentes culminaram na mesma morfologia externa, acontecendo, no mínimo, duas vezes na família (Souto e Oliveira 2013).

Desse modo, é possível que, mesmo morfologicamente semelhantes, as flores de Malpighiaceae ocultem processos evolutivos diversos. Logo, análises de vascularização floral são relevantes para permitir reconhecer características ancestrais da flor (Henslow 1888; Arber 1913), uma vez que o sistema vascular é mais conservativo que a morfologia externa (Puri 1951), antecedendo-a. Em uma família repleta de autapomorfias, como Malpighiaceae, esse tipo de estudo pode revelar informações importantes sobre processos evolutivos em flores e, ainda mais, elucidar tendências evolutivas em uma ordem tão diversa como Malpighiales. Assim, propusemos o estudo da estrutura floral de espécies neotropicais de Malpighiaceae que não possuem de elaióforos e daquelas que eventualmente os têm, com o propósito de investigar processos ontogenéticos que culminaram em tais estados de caráter.

OBJETIVOS

Objetivo geral

O objetivo principal desta tese foi investigar, por meio da vascularização floral, os processos evolutivos envolvidos no surgimento, na manutenção e na supressão total das glândulas calicinais de Malpighiaceae, levando em consideração seu posicionamento em Malpighiales.

Estrutura da tese e objetivos específicos

A tese está estruturada em cinco capítulos, os quais abrangem os seguintes objetivos específicos:

- **Capítulo I:** avaliar se a conação e a redução são aplicáveis para explicar o surgimento do cálice eglandular de Malpighiaceae, usando o clado acmantheroide como objeto de estudo, escolhido por ser a primeira linhagem a abranger todos os estados de caráter envolvidos com a supressão das glândulas.
- **Capítulo II:** inferir, a partir da descrição da anatomia floral de Elatinaceae, possíveis estados plesiomórficos da morfologia floral de Malpighiaceae, e apontar possíveis sinapomorfias anatômicas entre essas duas linhagens.
- **Capítulo III:** descrever a origem evolutiva e ontogenética dos elaióforos de Malpighiaceae nos clados basais, byrsonimoide e galphimioide, levando em consideração o contexto da ordem Malpighiales.
- **Capítulo IV:** avaliar a extensão do conservantismo floral de Malpighiaceae nos gêneros *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta*, por serem as únicas linhagens a exibirem cálice eglandular acompanhado de corola actinomorfa.
- **Capítulo V:** determinar se o cálice eglandular é resultado de conação e se a presença de diferentes morfotipos florais é resultante de redução em linhagens neotropicais de Malpighiaceae.

REFERÊNCIAS GERAIS

- Anderson C (2007) Revision of *Galphimia* (Malpighiaceae). *Contrib Univ Michigan Herb* 25:1–82
- Anderson WR (1979) Floral conservatism in Neotropical Malpighiaceae. *Biotropica* 11:219–223. <https://doi.org/10.2307/2388042>
- Anderson WR (1990) The origin of the Malpighiaceae -The evidence from morphology. *Mem N Y Bot Gard* 64:210–224
- Anderson WR, Anderson C, Davis CC (2006) Malpighiaceae. <http://herbarium.lsa.umich.edu/malpigh/index.html>. Accessed 9 Dec 2019
- Araújo JS, Meira RMSA (2016) Comparative anatomy of calyx and foliar glands of *Banisteriopsis* C.B. Rob. (Malpighiaceae). *Acta Bot Brasilica* 30:112–123. <https://doi.org/10.1590/0102-33062015abb0248>
- Arber A (1913) On the structure of the androecium in *Parnassia* and its bearing on the affinities of the genus. *Ann Bot* 27:491–510. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a089471>
- Cameron KM, Chase MW, Anderson WR, Hills HG (2001) Molecular systematics of Malpighiaceae. *Am J Bot* 88:1847–1862. <https://doi.org/10.2307/3558361>
- Castro MA, Vega AS, Múlgura ME (2001) Structure and ultrastructure of leaf and calyx glands in *Galphimia brasiliensis* (Malpighiaceae) . *Am J Bot* 88:1935–1944. <https://doi.org/10.2307/3558420>
- Chase MW, Soltis DE, Olmstead RG, et al (1993) Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. *Ann Missouri Bot Gard* 80:528–580
- Davis CC, Anderson WR (2010) A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *Am J Bot* 97:2031–2048. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000146>
- Davis CC, Anderson WR, Donoghue MJ (2001) Phylogeny of Malpighiaceae: evidence from chloroplast *ndhF* and *trnL-F* nucleotide sequences. *Am J Bot* 88:1830–1846
- Davis CC, Chase MW (2004) Elatinaceae are sister to Malpighiaceae. *Am J Bot* 91:262–273
- Davis CC, Schaefer H, Xi Z, et al (2014) Long-term morphological stasis maintained by a plant-pollinator mutualism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:5914–5919. <https://doi.org/10.1073/pnas.1403157111>
- Henslow G (1888) The origin of floral structures through insect and other agencies. D. Appleton and Company, New York, 347p.
- Puri V (1951) The role of floral anatomy in the solution of morphological problems. *Bot Rev* 17:471–553. <https://doi.org/10.1007/BF02882536>

- Sazima M, Sazima I (1989) Oil-gathering bees visit flowers of eglandular morphs of the oil-producing Malpighiaceae. *Bot Acta* 102:106–111. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1989.tb00073.x>
- Sigrist MR, Sazima M (2004) Pollination and reproductive biology of twelve species of neotropical Malpighiaceae: stigma morphology and its implications for the breeding system. *Ann Bot* 94:33–41. <https://doi.org/10.1093/aob/mch108>
- Simpson BB, Neff JL (1981) Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Ann Missouri Bot Gard* 68:301–322. <https://doi.org/10.2307/2398800>
- Souto LS, Oliveira DMT (2013) Evaluation of the floral vasculature of the *Janusia*, *Mascagnia* and *Tetrapteryx* species as a tool to explain the decrease of floral organs in Malpighiaceae. *Flora* 208:351–359. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2013.05.002>
- Subramanian RB, Arumugasamy K, Inamdar JA (1990) Studies in the secretory glands of *Hiptage sericea* (Malpighiaceae). *Nord J Bot* 10:57–62. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1990.tb01753.x>
- Vogel S (1990) History of the Malpighiaceae pollination ecology. *Mem N Y Bot Gard* 55:130–142
- Wurdack KJ, Davis CC (2009) Malpighiales phylogenetics: gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life. *Am J Bot* 96:1551–1570. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800207>
- Xi Z, Ruhfel BR, Schaefer H, et al (2012) Phylogenomics and a posteriori data partitioning resolve the Cretaceous angiosperm radiation Malpighiales. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:17519–17524. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205818109>

CAPÍTULO I

Floral synorganization in acmantheroid clade suggests hypotheses to explain elaiophore suppression in Malpighiaceae

Artigo publicado no periódico *Flora*, volume 281: 151870, ano 2021.

A sinorganização floral no clado acmantheroide sugere hipóteses para explicar a supressão dos elaióforos em Malpighiaceae

Stéphani Karoline Vasconcelos Bonifácio^{1*}, Rafael Felipe de Almeida², André M. Amorim³, Denise Maria Trombert Oliveira¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Avenida Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

² Pesquisador independente, Brasil.

³ Universidade Estadual de Santa Cruz Departamento de Ciências Biológicas, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, 45600-970, Ilhéus, Bahia, Brasil.

Stéphani K. V. Bonifácio

*skvbonifacio@gmail.com

Palavras-chave: Acmanthereae, glândulas calicinais, hipanto, Malpighiales, vascularização floral.

Resumo

Os elaióforos apareceram pela primeira vez nas angiospermas em Malpighiaceae e são fundamentais para a reprodução sexuada desta família. No entanto, eles estão ausentes em algumas de suas linhagens. A perda completa das glândulas de óleo do cálice é um importante desvio do conservadorismo floral das Malpighiaceae. Embora a literatura aponte para processos ontogenéticos envolvidos na perda das glândulas da sépala anterior, em algumas linhagens o cálice eglandular permanece inexplicado. Assim, entender como essas flores estão perdendo a principal estrutura responsável pela manutenção de sua arquitetura floral é um passo importante para compreender os processos que impulsionam a evolução floral em Malpighiaceae. Selecionamos uma espécie de cada gênero do clado acmantheroide, que é a única linhagem com todos os principais estados de caráter relacionados à ocorrência dos elaióforos. Os botões florais próximos à antese foram processados seguindo as técnicas usuais de microscopia de luz. A vascularização do cálice é variável e forma complexos vasculares compartilhados entre sépalas, pétalas e, em algumas espécies, estames. Pela primeira vez, descrevemos a ocorrência de um hipanto em Malpighiaceae, indicando diferentes níveis de sinorganização floral. A sinorganização floral parece ser a chave para entender como linhagens neotropicais específicas quebraram o conservadorismo floral de Malpighiaceae com cálices eglandulares. A presença de diferentes complexos vasculares entre as partes do perianto permite inferir a evolução floral do grupo. Assim, propomos duas hipóteses que explicam a ausência dos elaióforos e indicam a condição de dez elaióforos como plesiomórfica para Malpighiaceae.

Link de acesso à publicação:

<https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151870>

CAPÍTULO II

A relevância filogenética da anatomia floral de Elatinaceae Dumortier (Malpighiales): evidências morfológicas para a evolução em direção à autogamia

Manuscrito apresentado segundo as normas do periódico

Plant Systematics and Evolution

A relevância filogenética da anatomia floral de Elatinaceae Dumortier (Malpighiales): evidências morfológicas para a evolução em direção à autogamia

Stéphani Karoline Vasconcelos Bonifácio^{1*}, André M. Amorim², Denise Maria Trombert Oliveira¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Avenida Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

² Universidade Estadual de Santa Cruz Departamento de Ciências Biológicas, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, 45600-970, Ilhéus, Bahia, Brasil.

Stéphani K. V. Bonifácio

*skvbonifacio@gmail.com

Running title: Anatomia floral de Elatinaceae (Malpighiales)

ORCID:

S. K. V. Bonifácio: 0000-0002-5821-6993

A. M. Amorim: 0000-0003-0712-3321

D. M. T. Oliveira: 0000-0003-1918-2433

Resumo

O posicionamento filogenético de Elatinaceae foi controverso por décadas, mas esse problema foi solucionado ao estabelecê-la em Malpighiales emergindo como grupo-irmão de Malpighiaceae. Essa relação é suportada por dados moleculares, mas os aspectos morfológicos são pouco conhecidos, especialmente a evolução floral de Elatinaceae e sua relação com a atual posição filogenética da família. Neste trabalho, descrevemos a anatomia floral de Elatinaceae, comparamos com as famílias mais próximas filogeneticamente e discutimos a relevância de caracteres anatômicos florais em Malpighiales. A presença de conectivo glandular e hipóstase representam possíveis sinapomorfias do clado Elatinaceae + Malpighiaceae. As glândulas calicinais presentes em Elatinaceae, compreendem células com conteúdo fenólico sem indício de atividade secretora. Alguns caracteres são considerados autapomórficos para Elatinaceae, como redução do número de microsporângios e o endotécio simples. A presença de gineceu com *compitum* é registrada para *Bergia* e *Elatine*. Por outro lado, características como cálice gamossépalo, presença de glândula calicinal (ainda que não funcional), placentação axial, óvulos pêndulos e complexos intercarpelares, são compartilhados com outras famílias de Malpighiales. As autapomorfias de Elatinaceae evidenciam adaptações estruturais da flor em favor da autogamia, o que pode explicar as numerosas reversões morfológicas. Esse caráter constitui diferença marcante no clado Elatinaceae + Malpighiaceae, já que esta última é alógama e Elatinaceae é autógama, processos que marcam, de modo relevante, a história evolutiva das duas famílias.

Palavras-chave: *Bergia*; conectivo glandular; *Elatine*; endotécio; microsporângios; vascularização floral; vascularização ovariana.

Introdução

Malpighiales compreende linhagens morfológicamente diversas e que, embora tenha o monofiletismo bem estabelecido, algumas relações interfamiliares ainda não são claras (Chase et al. 1993; Soltis et al. 2000; Davis et al. 2005; Wurdack e Davis 2009; Xi et al. 2012). Filogeneticamente, uma das mudanças inesperadas ocorridas na topologia da ordem foi recuperar Elatinaceae como grupo-irmão de Malpighiaceae (Davis e Chase 2004). Elatinaceae teve posição filogenética controversa ao longo do tempo, sendo circunscrita em Caryophyllales (Adanson 1764) - relacionada a Frankeniaceae e Tamaricaceae (Niedenzu 1925, von Wettstein 1935) - em Theales (Cronquist 1981), e em Malpighiales - mas mais

proximamente relacionada a Clusiaceae s.l. (Cambessèdes 1829; Gray 1849) ou Phyllanthaceae Savolainen et al. (2000) (Davis e Chase 2004).

Elatinaceae compreende apenas dois gêneros, *Bergia* L. (25 espécies) e *Elatine* L. (25 espécies), sendo *Bergia* o gênero que apresenta mais caracteres plesiomórficos (Tucker 1986; Kubitzki 2014a; Davis e Chase 2004, Razifard et al. 2017a, 2017b, Hassemer 2020). Elatinaceae inclui plantas de pequeno porte, ervas perenes ou anuais, com distribuição cosmopolita, que podem ser terrestres, aquáticas ou apresentar hábito anfíbio (Tucker 1986; Kubitzki 2014a). Embora amplamente distribuída em diversos continentes, a família não tem sido objeto de estudo em trabalhos recentes de anatomia comparada, especialmente que considerem o seu atual posicionamento filogenético.

Estudos comparativos que tratam da anatomia floral em clados de Malpighiales mostraram-se relevantes para elucidar características evolutivas de algumas famílias do grupo: Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae, Euphroniaceae, Trigoniaceae (Matthews e Endress 2008), Rhizophoraceae, Erythroxylaceae, Ctenolophonaceae, Linaceae, Irvingiaceae, Caryocaraceae (Matthews e Endress 2011), Ochnaceae, Quinaceae, Medusagynaceae (Matthews e Endress 2012), Lophopyxidaceae e Putranjivaceae (Matthews e Endress 2013). Assim, dados da estrutura floral que reconheçam sinapomorfias para o clado Elatinaceae + Malpighiaceae e plesiomorfias para Malpighiaceae são ainda desconhecidos. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi reconhecer sinapomorfias anatômicas do clado Elatinaceae + Malpighiaceae e, conseqüentemente, possíveis caracteres plesiomórficos para Malpighiaceae.

Material e métodos

Selecionamos espécies dos dois gêneros de Elatinaceae, *Bergia* e *Elatine*, espécies acessíveis à coleta ou com exsicatas disponíveis e em bom estado de conservação (Tabela 1). O material botânico consistiu em botões florais e flores em antese (Fig. 1a-b). Frutos jovens foram usados para confirmar a vascularização quando apenas pequenos cordões procambiais existiam nas flores.

Materiais frescos foram fixados em FAA (Johansen 1940) ou na mistura de Karnovsky (Karnovsky 1965); as amostras desse último fixador foram desidratadas parcialmente, sendo todas armazenadas em etanol 50%. As amostras obtidas a partir de exsicatas foram submetidas ao processo de reversão da herborização (Smith e Smith 1942 modificado por Mello et al. 2019), desidratadas em série etílica crescente e também armazenadas em etanol 50%.

Posteriormente, os materiais foram incluídos em 2-hidroxietil-metacrilato Leica (Paiva et al. 2011), seccionados em séries transversais e longitudinais com espessura de 4-6µm usando micrótomo rotativo Zeiss Hyrax M40. As secções foram coradas com azul de toluidina 0,05% em tampão acetato pH 4,7 (O'Brien et al. 1964 modificado) e montadas em resina sintética (Entellan).

Parte dos materiais foi submetida aos seguintes testes histoquímicos: cloreto férrico para compostos fenólicos totais (Johansen 1940), lugol para amido (Johansen 1940), sudan red B para lipídios (Brundrett et al., 1991 modificado), vermelho de rutênio para pectinas (Johansen 1940) e xylydine Ponceau para proteínas (Vidal 1970).

As imagens foram obtidas por meio do microscópio Olympus CX41 com câmera LC20 acoplada. As figuras foram editadas e pranchas foram confeccionadas utilizando o programa CorelDraw Graphics Suite 2020.

Resultados

Bergia perennis

A secção longitudinal mediana do botão floral é mostrada na Fig. 2a e referencia as alturas de imagens descritas a seguir. O pedicelo tem o cilindro vascular organizado em um eustelo (Fig. 2b). No receptáculo, o cilindro vascular é formado por feixes pouco conspícuos, a partir dele é emitido um traço para cada uma das cinco sépalas (Fig. 2c). Acima, são imediatamente emitidos um traço para cada uma das cinco pétalas e alternadamente, um traço para cada um dos cinco estames, que são antissépalos (Fig. 2d-e). Após irrigarem as sépalas, na altura mediana delas, cada feixe de sépala divide-se em três feixes (Fig. 2a, f); nessa altura é possível observar que a epiderme difere nas faces adaxial e abaxial das sépalas pela ausência e presença de tricomas, respectivamente. Acropetamente, os feixes carpelares são reconhecidos: inicialmente, é emitido um feixe dorsal para cada um dos cinco carpelos (Fig. 2g). Na porção central do ovário, se diferenciam cinco complexos intercarpelares (Fig. 2h). Cada complexo ventral irriga os óvulos de carpelos adjacentes através de projeções da placenta (Fig. 2i), de modo que cada complexo emite um traço ventral que irriga dois carpelos adjacentes. Nesta altura, o feixe ventral irriga a placenta, que é axial, e que se projeta para o lóculo, com óvulos nas margens (Fig. 2j); esses, por sua vez, são anátropos e apresentam micrópila em ziguezague (Fig. 2k). Ainda no ovário, na região apical, as paredes ovarianas não são fusionadas, evidenciando o *compitum* (Fig. 2l). Ao *compitum*, segue-se o canal estilar, delimitado pelos cinco estiletos fusionados, os quais são vascularizados pelos respectivos feixes dorsais (Fig. 2m), e se separam mais acima na flor. As anteras são introrsas e

tetrasporangiadas (Fig. 2m), com cada microsporângio revestido por epiderme e endotécio com espessamento filiforme, que margeiam as camadas parietais parcialmente colapsadas (Fig. 2n); os grãos de pólen não exibem ornamentação aparente (Fig. 2n). No conectivo, a epiderme apresenta idioblastos com conteúdo fenólico (Fig. 2o).

Elatine spp.

As secções longitudinais medianas dos botões florais de *Elatine gratioloides*, *E. lindbergii* e *E. triandra* são mostradas nas Fig. 3a-c e referenciam as alturas de imagens descritas a seguir. O cilindro vascular no pedicelo apresenta poucos elementos traqueais, se organiza em um sifonostelo em *E. gratioloides* e *E. lindbergii* (Fig. 3d-e) ou em eustelo em *E. triandra* (Fig. 3f). Em todas as espécies estudadas, é emitido um único traço para cada sépala, totalizando quatro traços de sépala em *E. gratioloides* e três traços de sépala em *E. lindbergii* e *E. triandra* (Fig. 3g-i). Cada pétala é vascularizada por um único feixe; sua origem pode ser compartilhada com os estames antipétalos em *E. gratioloides* (Fig. 3j) constituindo complexos pétala-estame antipétalo, ou diretamente a partir do cilindro vascular em *E. lindbergii* e *E. triandra* (Fig. 3k-l). Em todas as espécies, cada estame recebe um único traço, compartilhado com a pétala adjacente em *E. gratioloides* (Fig. 3m) ou vindos diretamente do cilindro vascular nas demais espécies (Fig. 3n-o). Em *E. gratioloides*, ainda, os estames antissépalo compartilham sua origem com os carpelos, especificamente com os feixes dorsais, constituindo complexos estame antissépalo-carpelo (Fig. 4a). Na altura correspondente, nas demais espécies de *Elatine*, são emitidos os feixes dorsais, enquanto, na porção central, se diferenciam os feixes ventrais em *E. lindbergii* (Fig. 4b, f) e os complexos ventrais intercarpelares em *E. triandra* (Fig. 4c, g). Em *E. gratioloides*, os feixes ventrais, por sua vez, organizam-se de complexos ventrais, correspondentes a fusão entre feixes ventrais de carpelos adjacentes (Fig. 4d).

O cálice é gamossépalo tem extensão variável nas flores das espécies estudadas: em *E. gratioloides* se estende até a altura dos lóculos do ovário (Fig. 4d), em *E. lindbergii* até a altura em que ocorre a emissão dos feixes carpelares (Fig. 4b) e, em *E. triandra*, até a emissão dos traços de estame (Fig. 3o). Acropetamente, em *E. gratioloides*, os feixes dorsais se individualizam, assim como os estames antissépalo (Fig. 4e). Cada complexo ventral se reconfigura e irriga um único carpelo, emitindo traços que se projetam através da placenta em direção aos óvulos (Fig. 4h-j).

Os óvulos são formados nas projeções da placenta, que podem ser apicais ou localizadas na região basal; são anátropos, com micrópila em ziguezague, com nítida curvatura da região

calazal que apresenta hipóstase distinta; o traço emitido pelo feixe ventral chega ao óvulo pelo funículo, que é curto (Fig. 5a-c). No ápice do ovário, o *compitum* pode estar ausente (em *E. gratioloides*, ver Fig. 5d) ou presente, evidenciando um único lóculo em *E. lindbergii* (Fig. 5e) e em *E. triandra* (Fig. 5f).

Atipicamente, em *E. gratioloides*, a região apical dos carpelos se funde às anteras dos estames antissépalos (Fig. 6a) enquanto nas demais espécies os estigmas são livres (Fig. 6a-c). As anteras bi- (Fig. 6d-e) ou triesporangiadas (Fig. 6f) apresentam cada microsporângio recoberto por epiderme uniestratificada, endotécio com espessamento filiforme (Fig. 6g-h) ou simples (Fig. 6i) e demais camadas parietais; os grãos de pólen são tricelulares no momento da dispersão (Fig. 6i, l). Em *E. lindbergii*, a epiderme da antera, na região do conectivo e na proximidade da linha de deiscência apresenta idioblastos (Fig. 6j); nessa espécie, os grãos de pólen podem germinar ainda no interior das anteras (Fig. 6k).

Estruturas secretoras

Secções das sépalas revelaram, em *Bergia perennis*, estruturas marginais semelhantes a glândulas (Fig. 7a) e, em *Elatine gratioloides* (Fig. 7b) e *E. lindbergii* (Fig. 7c), glândulas apicais. Nessas glândulas sepalares apicais, essas estruturas apenas se diferenciam por seus idioblastos com citoplasma denso e a vascularização por xilema (Fig. 7d-e). Já *E. triandra* não apresenta quaisquer modificações nas sépalas e a vascularização não atinge a porção apical (Fig. 7f). Não observamos atividade secretora ou exsudados provenientes das glândulas apicais das sépalas. Os testes histoquímicos demonstraram leve reação positiva para compostos fenólicos totais (Fig. 7g), cutícula sobre a epiderme (Fig. 7h), paredes celulares pécticas (Fig. 7i) e corpos proteicos nos idioblastos (Fig. 7j).

Além das estruturas mencionadas acima, também observamos idioblastos na epiderme da antera de *E. lindbergii* (Fig. 7k) com conteúdo similar ao das células apicais das sépalas. Nas análises histoquímicas, observamos a presença de substâncias pécticas nas paredes celulares e no interior dos grãos de pólen (Fig. 7l), que também reagiram positivamente para proteína (Fig. 7m). Com relação ao conteúdo dos idioblastos, há apenas leve reação que indica a presença de compostos fenólicos (Fig. 7n).

Discussão

A anatomia floral de Elatinaceae

A anatomia floral de Elatinaceae reforça como a seleção atuou na arquitetura floral da família a favor da autogamia e, parcialmente, explica as inúmeras diferenças morfológicas entre Elatinaceae e Malpighiaceae.

Os caracteres anatômicos que constituem evidências da autogamia são a redução no número de microsporângios (Endress e Stumpf 1990; Battjes et al. 1994), a germinação precoce dos grãos de pólen ainda no interior das anteras (Mazer e Delesalle 1998; Mann et al. 2020) e o pequeno investimento em atração e recompensa a polinizadores, incluindo a ausência de nectários florais (Mazer e Delesalle 1998; Goodwillie et al. 2010).

A ausência de barreiras físicas que impeçam a autofecundação são fortes indícios de adaptações florais para a autogamia (Garnock-Jones 1976), neste trabalho, as modificações mais extremas para a autofecundação foram o ginostégio e a germinação *in situ*. A germinação *in situ* de grãos de pólen pode ocorrer tanto em espécies casmógamas quanto cleistógamas, mas é estratégia obrigatória para espécies cleistogâmicas (Lord 1981). É interessante que há relato desse tipo de processo em Malpighiaceae, onde pode acontecer a germinação dos grãos de pólen no interior das anteras indeiscentes de flores cleistógamas de *Gaudichaudia* spp. e *Janusia guaranitica* A. Juss. (Anderson 1980).

Sob ponto de vista ecológico, a autofecundação autônoma é uma estratégia que provê garantia reprodutiva (Zhang e Li 2008), e promove o estabelecimento após dispersão a longa distâncias quando a reprodução cruzada não é possível (Baker 1955, Llyoid 1992, Morgan et al. 2005, Passos et al. 2021). O que pode estar relacionado ao surgimento de Elatinaceae, que passou por dispersão a longas distâncias durante o Eoceno, bem depois do surgimento de Malpighiaceae no Cretáceo (Cai et al. 2016).

Como a família abrange espécies herbáceas com hábito aquático (Davis e Chase 2004), muitas características da anatomia floral de Elatinaceae são resultantes de adaptações ambientais, muitas vezes representando reversões evolutivas. No entanto, mesmo diante dessa ressalva, é possível inferir a respeito da evolução da estrutura floral do grupo.

Dos caracteres observados, a presença de complexos vasculares irrigando carpelos adjacentes, placenta projetando-se para o interior do lóculo e hipóstase nos óvulos são compartilhadas por todas as espécies de Elatinaceae estudadas neste trabalho. Já a presença de faces adaxial e abaxial das sépalas diferentes entre si só foi observada em *Bergia*, enquanto aerênquima no pedicelo e cálice gamossépalo estão presentes somente em *Elatine*, sendo estas possíveis sinapomorfias para os gêneros.

A redução para um único traço de sépala, embora incomum, é compreensível considerando-se aspectos fisiológicos (Puri 1951), já que são plantas de porte reduzido, com

flores diminutas e adaptadas a ambientes aquáticos. A redução das flores também pode ser explicada pela redução da alocação de recursos no display floral (Goodwillie et al. 2010), uma vez que a autogamia é conhecida para algumas espécies da família e que, conseqüentemente, são independentes de polinizadores (Uphof 1938, Tucker 1986).

A autogamia em Elatinaceae é frequentemente associada à cleistogamia em flores submersas (Uphof 1938; Tucker 1986). Contudo, não é possível afirmar se todas as espécies aqui analisadas são cleistógamas, uma vez que, entre elas, só há informações a respeito do sistema reprodutivo de *Elatine triandra* (Uphof 1938). Apesar disso, em plantas aquáticas e cleistógamas, é comum a ausência do espessamento do endotécio, aqui reconhecida em *E. triandra*, pois podem não apresentar uma diferenciação da parede dos microsporângios para uma deiscência ativa (Maheshwari 1950). Ademais, em plantas cleistógamas, a redução envolvendo corola e androceu é esperada (Lord 1981). Nesse caso, outra evidência observada para a cleistogamia neste trabalho foi a fusão do androceu ao gineceu em flores de *Elatine gratiolooides*, que aponta para uma especialização extrema a favor da autogamia. Essa fusão entre as anteras dos estames antissépalos e os estigmas forma o ginostégio (*sensu* Endress 2016).

Potenciais sinapomorfias entre Elatinaceae e Malpighiaceae

Os caracteres florais compartilhados entre Elatinaceae e Malpighiaceae observados neste estudo são o conectivo glandular da antera e a presença de hipóstase nos óvulos.

Nas anteras de Malpighiaceae, a presença de estruturas secretoras sobre o conectivo já é conhecida há algum tempo (Gates 1982; Anderson 1990) e tem sido reiteradamente destacada na literatura (Possobom et al. 2015; Arévalo-Rodrigues et al. 2020; Avalos et al. 2020). Tais glândulas são compostas por células epidérmicas globosas, que apresentam compostos fenólicos no vacúolo e secretam óleo (Arévalo-Rodrigues et al. 2020) ou glândulas de secreção mista, composta por óleo e açúcares (Possobom et al. 2015).

O conectivo glandular é inédito para Elatinaceae e variável entre espécies, uma vez que não foi observado nas espécies aquáticas *Elatine gratiolooides* e *E. triandra* e, possivelmente, está relacionado ao hábito terrestre, uma vez que esteve presente em espécies que ocupam esse tipo de ambiente, *Bergia perennis* (Leach 1989) e na espécie anfíbia *E. lindbergii* (Bittrich 2002). Considerando que a linhagem aquática de Elatinaceae divergiu mais recentemente, em contrapartida às linhagens terrestres e com crescimento secundário (Davis e Chase 2004), a presença de conectivo glandular é plesiomórfica para a família.

Com relação aos óvulos, a presença de hipóstase também é descrita em Malpighiaceae nos gêneros *Byrsonima* (Souto e Oliveira 2005), *Banisteriopsis* e *Diplopterys* (Souto e Oliveira 2008) e *Mascagnia*, *Janusia* e *Tetrapteryx* (Souto e Oliveira 2014). A presença de hipóstase também é registrada em outras famílias de Malpighiales, como Euphorbiaceae (Landes 1946; Carmichael e Selbo 1999) e Chrysobalanaceae (Tobe e Raven 1984) por exemplo. Mas, como os caracteres referentes aos óvulos são significativos em análises suprafamiliares em Malpighiales (Endress et al. 2013), análises futuras comparando as duas famílias e abrangendo mais clados poderão revelar mais informações sobre a importância e constância desses caracteres. Da mesma forma, caracteres associados às sementes são conservados em *Elatine*, ao contrário do que ocorre com os órgãos vegetativos, que apresentam grande plasticidade fenotípica quando submetidos a variações ambientais (Attila Molnár et al. 2015).

Por sua vez, as características mais antagônicas do gineceu entre Elatinaceae e Malpighiaceae – como o maior número de carpelos e vários óvulos por ovário em Elatinaceae – estão relacionadas ao maior investimento na função feminina das flores, o que pode ser associado à atração de agentes polinizadores em Malpighiaceae. Isto é, Malpighiaceae é um grupo cuja evolução foi impactada pela relação mutualística com abelhas coletoras de óleo, com a fixação da alogamia e dependência de agentes polinizadores (Sigrist e Sazima 2004). Em contrapartida, Elatinaceae é um grupo que tende à independência de polinizadores, família na qual se fixou a autogamia (Uphof 1938, Tucker 1986; Razifard et al. 2017a).

Algumas condições sobre a biogeografia de Elatinaceae apontam para a origem e distribuição da família em direção às regiões temperadas (Cai et al. 2016). Tal informação parece ir de encontro com algumas das vantagens comumente relacionadas à autogamia: colonização a partir de um único propágulo, economia da função masculina e garantia reprodutiva em locais com limitação de polinizadores, como ambientes árticos por exemplo (Baker 1955; Cheptou 2012; Pannell 2015).

As duas famílias estão, atualmente, circunscritas no clado [Elatinaceae + Malpighiaceae] + Centroplacaceae, caracterizado pela placentação axial, óvulos crassinucelados, ausência de endotélio e sépalas persistentes nos frutos (Xi et al. 2012). Como o suporte é baixo para o clado em função da ausência de informações morfológicas para Centroplacaceae, a anatomia floral e dados embriológicos dessa última família podem revelar informações importantes para compreender a evolução do clado.

Quando comparada a Malpighiaceae, Elatinaceae exibe reversões de alguns caracteres: ausência da fusão dos traços laterais de sépala, ausência de adnação cálice e corola, e ausência de hipanto (Tabela 2). Porém, a presença de cálice conato, placentação axial e óvulos pêndulos está presente tanto em Elatinaceae quanto em Malpighiaceae, Caryocaraceae, Putranjivaceae e Lophopyxidaceae.

A presença de cálice conato na base, aqui observada apenas em *Elatine*, também é reportada para Lophopyxidaceae (Matthews e Endress 2013), Caryocaraceae (Matthews e Endress 2011) e Malpighiaceae (Anderson 1979). Nessas famílias há compartilhamento de complexo vascular entre esses verticilos (Dickison 1990; Matthews e Endress 2011, 2013; Souto e Oliveira 2013; Bonifácio et al., 2021), o que representa a adnação entre cálice e corola. Tal característica foi perdida em Elatinaceae e também em Putranjivaceae (Matthews e Endress 2013), esta última com pétalas ausentes. Da mesma forma, há ausência de hipanto em Elatinaceae e também em Caryocaraceae (Dickison 1990; Matthews e Endress 2011).

Nos clados mais próximos filogeneticamente a malpighioide (Xi et al. 2012), chama a atenção a presença de glândulas nas sépalas de Malpighiaceae (Anderson 1979, 1990; Vogel 1990) e Caryocaraceae (Matthews e Endress 2011). Em Malpighiaceae, as glândulas calicinais constituem comumente elaióforos ou, em algumas linhagens paleotropicals, nectários, e estão posicionadas entre sépalas adjacentes (Anderson 1979, 1990; Vogel 1990; Souto e Oliveira 2013; Mello 2017; Bonifácio et al., 2021). As glândulas nas sépalas de Elatinaceae são vestigiais e localizadas apenas no ápice das sépalas, sem distinção das faces adaxial e abaxial dessas, diferentemente da presença delas na face dorsal das sépalas que a literatura havia registrado (Endress et al. 2013). Já em Caryocaraceae essas glândulas localizam-se na face abaxial próximo ao ápice das sépalas, são estruturalmente semelhantes aos elaióforos de Malpighiaceae, mas não se conhece a sua natureza secretora (Matthews e Endress 2011). A presença de nectários florais, independentemente do seu verticilo de origem, ocorre em todas as famílias próximas, exceto em Elatinaceae (neste trabalho): Malpighiaceae (Guesdon et al. 2019), Centroplacaceae (Kubitzki 2014b), Caryocaraceae (Dickison 1990; Matthews e Endress 2011), Putranjivaceae e Lophopyxidaceae (Matthews e Endress 2013). A ausência de nectários constitui uma das evidências de que Elatinaceae tem divergido em direção à autogamia e independência de agentes polinizadores bióticos.

Análises da evolução de caracteres anatômicos florais em Malpighiales mostraram a relevância da estrutura do gineceu e dos óvulos (Endress et al. 2013). Destacam-se a presença de óvulos pêndulos, característica do clado COM (Celastrales, Oxalidales e Malpighiales)

(Endress 2011; Endress et al. 2013) e a placentação axial, caráter muito bem estabelecido no clado malpighioide (Endress et al. 2013).

A presença de feixes ventrais fusionados, observada em Elatinaceae, também é detectada em Malpighiaceae (Souto e Oliveira 2013, 2020; Mello 2017). Contudo, diferentemente de Malpighiaceae, em Elatinaceae ocorre também a presença de complexos intercarpelares que vascularizam dois carpelos simultaneamente (com registrado em *Bergia perennis* e *Elatine lindbergii*), indicando fusão lateral entre carpelos. A presença de complexos intercarpelares é registrada em outras famílias de Malpighiales, como Euphorbiaceae (nossa observação na fig. 4i de De-Paula et al. 2011), Linaceae (nossa observação na fig. 24l de Matthews e Endress 2011), Putranjivaceae (nossa observação na fig. 13e de Matthews e Endress 2013), Rhizophoraceae (nossa observação na fig. 5n de Matthews e Endress 2011), Dichapetalaceae e Trigoniaceae (nossa observação nas figs. 13p e 17j, respectivamente, de Matthews e Endress 2008). Porém, o compartilhamento dos feixes ventrais entre carpelos adjacentes não é comumente reportado, sendo registrado em *Anthodiscus* (Caryocaraceae), no qual cada estilete recebe um feixe vindo dos carpelos adjacentes (Dickison 1990). A presença de complexos intercarpelares pode ser uma característica interessante para investigar a fusão lateral dos carpelos e a variação numérica de carpelos, tão recorrente em Malpighiales (Endress et al. 2013).

Conclusões

Os caracteres da anatomia floral aqui registrados para Elatinaceae compartilhados com Malpighiaceae são a presença de hipóstase e o conectivo glandular. Essa escassez de sinapomorfias da anatomia floral entre essas duas famílias pode ser explicada pelo seguinte cenário: as Malpighiaceae tiveram uma origem e diversificação bem mais antiga do que as Elatinaceae. Portanto, os caracteres detectados em representantes das Elatinaceae atualmente existentes podem ser resultado de uma rápida diversificação onde a seleção atuou numa morfologia floral a favor dos processos autogâmicos. Assim, demonstramos neste trabalho que estudos comparativos baseados nas relações filogenéticas ainda são relevantes, tanto para entender reversões (autapomorfias) quanto para novidades evolutivas voltadas para um tipo específico de sistema reprodutivo.

Agradecimentos

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

DMTO agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de produtividade em pesquisa (processos 312404/2018-2 e 305686/2018-6 respectivamente). Os autores agradecem a curadoria do Herbário Maria Eneyda PK Fidalgo (SP) pela doação das amostras utilizadas neste trabalho e ao Dr. Pedro Fiaschi pela obtenção de amostras de *Elatine lindbergii*.

Referências

- Adanson M (1764) Familles des plantes. Vincent, Paris, France vol. 2, 250–257
- Anderson WR (1990) The Origin of the Malpighiaceae -the evidence from morphology. Mem NY Bot Gard 64:210–224
- Anderson WR (1979) Floral Conservatism in Neotropical Malpighiaceae. Biotropica 11:219–223. <https://doi.org/10.2307/2388042>
- Arévalo-Rodrigues G, de Almeida RF, Cardoso-Gustavson P (2020) Anatomy of staminal glands in the Stigmaphylloideae clade sheds light into new morphotypes of elaiophores and osmophores in Malpighiaceae. Plant Syst Evol 306:1–9. <https://doi.org/10.1007/s00606-020-01680-w>
- Avalos AA, Pablo TJ, Lattar EC, Ferrucci MS (2020) Structure and development of anthers and connective glands in two species of *Stigmaphyllon* (Malpighiaceae): are heteromorphic anthers related to division of labour? Protoplasma 257:1165–1181. <https://doi.org/10.1007/s00709-020-01497-x>
- Baker HG (1955) Self-compatibility and establishment after “long-distance” dispersal. Evolution (NY) 9:347–349
- Battjes J, Chambers KL, Bachmann K (1994) Evolution of microsporangium numbers in *Microseris* (Asteraceae: Lactuceae). Am J Bot 81:641–647. <https://doi.org/10.2307/2445740>
- Bittrich V (2002) Elatinaceae In: Wanderley MGL, Shepherd GJ, Giulietti AM, Melhem TS, Bittrich V, Kameyama C (eds.) Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 2, pp: 105-106
- Bonifácio SKV, Almeida RF, Amorim AMA, Oliveira DMT (2021) Floral synorganization in acmantheroid clade suggests hypotheses to explain elaiophore suppression in Malpighiaceae. Flora 281: 151870. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151870>
- Brundrett MC, Kendrick B, Peterson CA (1991) Efficient lipid staining in plant material with sudan red 7B or fluoral yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. Biotech. Histochem. 66:111–116. <https://doi.org/10.3109/10520299109110562>

- Cai L, Xi Z, Peterson K, et al (2016) Phylogeny of Elatinaceae and the tropical Gondwanan origin of the Centropalacaceae (Malpighiaceae, Elatinaceae) clade. *PLoS One* 11:1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161881>
- Cambessédès J (1829) Note sur les Èlatinées, nouvelle famille des plantes. Paris, France.
- Carmichael JS, Selbo SM (1999) Ovule, embryo sac, embryo, and endosperm development in leafy spurge (*Euphorbia esula*). *Can J Bot* 77:599–610. <https://doi.org/10.1139/cjb-77-4-599>
- Chase MW, Soltis DE, Olmstead RG, et al (1993) Phylogenetics of Seed Plants : An Analysis of Nucleotide Sequences from the Plastid Gene *rbcL*. *Ann Missouri Bot Gard* 80:528–580
- Cheptou PO (2012) Clarifying Baker's law. *Ann Bot* 109:633–641. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr127>
- Cronquist A (1981) An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York, USA.
- Davis CC, Anderson WR (2010) A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *Am J Bot* 97:2031–2048. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000146>
- Davis CC, Chase MW (2004) Elatinaceae are sister to Malpighiaceae. *Am J Bot* 91:262–273
- Davis CC, Webb CO, Wurdack KJ, et al (2005) Explosive radiation of Malpighiales supports a mid-Cretaceous origin of modern tropical rain forests. *Am Nat* 165:. <https://doi.org/10.1086/428296>
- De-Paula OC, Sajo M das G, Prenner G, et al (2011) Morphology, development and homologies of the perianth and floral nectaries in *Croton* and *Astraea* (Euphorbiaceae-Malpighiales). *Plant Syst Evol* 292:1–14. <https://doi.org/10.1007/s00606-010-0388-9>
- Dickison WC (1990) A study of the floral morphology and anatomy of the Caryocaraceae. *Bull Torrey Bot Club* 117:123–137
- Endress PK (2011) Angiosperm ovules: diversity, development, evolution. *Ann Bot* 107:1465–1489. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr120>
- Endress PK (2016) Development and evolution of extreme synorganization in angiosperm flowers and diversity: A comparison of Apocynaceae and Orchidaceae. *Ann Bot* 117:749–767. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv119>
- Endress PK, Davis CC, Matthews ML (2013) Advances in the floral structural characterization of the major subclades of Malpighiales, one of the largest orders of flowering plants. *Ann Bot* 111:969–985. <https://doi.org/10.1093/aob/mct056>

- Endress PK, Stumpf S (1990) Non-tetrasporangiate stamens in the angiosperms: structure, systematic distribution and evolutionary aspects. *Bot. Jahrbucher Fur Syst. Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 112:193–240
- Gama T do SS, Cordeiro I, Demarco D (2019) Floral structure and development in *Alchornea sidifolia* (Acalyphoideae) and the evolution of wind pollination in Euphorbiaceae. *Brazilian J Bot* 42:307–317. <https://doi.org/10.1007/s40415-019-00535-0>
- Garnock-Jones PI (1976) Breeding systems and pollination in New Zealand *Parahebe* (Scrophulariaceae). *N. Z. J. Bot* 14:291-298.
- Gates B (1982) *Banisteriopsis*, *Diplopterys* (Malpighiaceae). *Flora Neotrop.* 30:1–237
- Goodwillie C, Sargent RD, Eckert CG, et al (2010) Correlated evolution of mating system and floral display traits in flowering plants and its implications for the distribution of mating system variation. *New Phytol* 185:311–321. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03043.x>
- Gray A (1849) *Genera florae americanae boreali-orientalis illustrata*. Vol. 2. M. D., Boston, MA
- Guesdon IR, Amorim AM, Meira RMSA (2019) Functional role and evolutionary contributions of floral gland morphoanatomy in the Paleotropical genus *Acridocarpus* (Malpighiaceae). *PLoS One* 14:1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222561>
- Hassemer G (2020) A *Bergia* in South America: on the neglected, possibly already extinct *B. arenarioides* (Elatinaceae). *Phytotaxa* 447(4): 289–295. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.447.4.7>
- Johansen DA (1940) *Plant Microtechnique*, First Edit. McGraw-Hill Book Company, London
- Karnovsky MJ (1965) A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 27: 137A-138A.
- Kubitzki K (2014a) Elatinaceae. In: Kubitzki K (ed) *Flowering Plants. Eudicots*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 39–41
- Kubitzki K (2014b) Centroplacaceae. . In: Kubitzki K (ed) *Flowering Plants. Eudicots*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 17–18
- Landes M (1946) Seed development in *Acalypha rhomboidea* and some other Euphorbiaceae. *Am J Bot* 33:562–568. <https://doi.org/10.2307/2437591>
- Leach GJ (1989) Taxonomic revision of *Bergia* (Elatinaceae) in Australia. *J Adel Bot Gard* 11: 75–100.
- Lloyd G (1992) Self- and cross-fertilization in Plants. II. The selection of self-fertilization. *International Journal of Plant Sciences* 153: 370-380.
- Lord EM (1981) Cleistogamy: A tool for the study of floral morphogenesis, function and

- evolution. *Bot Rev* 47:421–449. <https://doi.org/10.1007/BF02860538>
- Maheshwari P (1950) *An introduction to the embryology of angiosperms*. McGraw-Hill Book Compo.ny, Inc.
- Mann N, Uniyal PL, Lakhanpaul S (2020) Incidence of in situ pollen germination in three species of *Viola* L. of Uttarakhand. *Natl Acad Sci Lett*. <https://doi.org/10.1007/s40009-020-00917-z>
- Matthews ML, Amaral MDCE, Endress PK (2012) Comparative floral structure and systematics in Ochnaceae s.l. (Ochnaceae, Quiinaceae and Medusagynaceae; Malpighiales). *Bot J Linn Soc* 170:299–392. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01299.x>
- Matthews ML, Endress PK (2006) Floral structure and systematics in four orders of rosids, including a broad survey of floral mucilage cells. *Plant Syst Evol* 260:199–221. <https://doi.org/10.1007/s00606-006-0443-8>
- Matthews ML, Endress PK (2008) Comparative floral structure and systematics in Chrysobalanaceae s.l. (Chrysobalanaceae, Dichapetalaceae, Euphroniaceae, Trigoniaceae; Malpighiales). *Bot J Linn Soc* 157:249–309. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2008.00803.x>
- Matthews ML, Endress PK (2011) Comparative floral structure and systematics in Rhizophoraceae, Erythroxylaceae and the potentially related Ctenolophonaceae, Linaceae, Irvingiaceae and Caryocaraceae (Malpighiales). *Bot J Linn Soc* 166:331–416. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2011.01162.x>
- Matthews ML, Endress PK (2013) Comparative floral structure and systematics of the clade of Lophopyxidaceae and Putranjivaceae (Malpighiales). *Bot J Linn Soc* 172:404–448. <https://doi.org/10.1111/boj.12048>
- Mazer SJ, Delesalle VA (1998) Contrasting variation within and covariation between gender-related traits in autogamous versus outcrossing species: Alternative evolutionary predictions. *Evol Ecol* 12:403–425. <https://doi.org/10.1023/A:1006568704381>
- Mello ACMP (2017) *Anatomia foliar e floral de Amorimia (Malpighiaceae) e suas aplicações filogenéticas*. Dissertação, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Mello ACMP, De Almeida RF, Amorim AMA, Oliveira DMT (2019) Leaf structure in *Amorimia* and closely related Neotropical genera and implications for their systematics and leaf evolution in Malpighiaceae. *Bot J Linn Soc* 191:102–127. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz028>
- Molnár V, Tóth JP, Sramkó G, et al (2015) Flood induced phenotypic plasticity in amphibious

- genus *Elatine* (Elatinaceae). PeerJ 3: e1473. <https://doi.org/10.7717/peerj.1473>
- Morgan MT, Wilson WG (2005) Self-fertilization and the escape from pollen limitation in variable pollination environments. *Evolution* 59: 1143–1148.
- Nieden zu F (1925) Elatinaceae. In A. Engler and K. Prantl, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, 2nd ed., vol. 21, 270–276. W. Engelmann, Leipzig, Germany
- O'Brien TP, Feder N, McCully ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59:368–373. <https://doi.org/10.1007/BF01248568>
- Paiva EAS, Pinho SZ de, Oliveira DMT (2011) Large Plant Samples: How to Process for GMA Embedding? In: Chiarini-Garcia H, Melo RCN (eds) *Light microscopy: methods and protocols*, Springer/H. New York, pp 37–49
- Pannell JR (2015) Evolution of the mating system in colonizing plants. *Mol Ecol* 24:2018–2037. <https://doi.org/10.1111/mec.13087>
- Passos LS, Telles FJ, Goldenberg R, Maia FR. (2021) “Pollen tube shower” in *Bertolonia* (Melastomataceae): a new delayed selfing mechanism in flowers with poricidal anthers. *Botanical Journal of the Linnean Society* 51:1–16
- Possobom CCF, Guimarães E, Machado SR (2015) Structure and secretion mechanisms of floral glands in *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae), a neotropical species. *Flora Morphol Distrib Funct Ecol Plants* 211:26–39. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2015.01.002>
- Puri V (1951) The role of floral anatomy in the solution of morphological problems. *Bot Rev* 17:471–553. <https://doi.org/10.1007/BF02882536>
- Razifard H, Les DH, Tucker GC (2017a) Reticulate evolution in *Elatine* L. (Elatinaceae), a predominantly autogamous genus of aquatic plants. *Syst Bot* 42:87–95. <https://doi.org/10.1600/036364417X694610>
- Razifard H, Rosman AJ, Tucker GC, Les DH (2017b) Systematics of the cosmopolitan aquatic genus *Elatine*. *Syst Bot* 42:73–86. <https://doi.org/10.1600/036364417X694584>
- Savolainen V, Chase MW, Hoot SB, Morton CM, Soltis DE, Bayer C, Fay MF, de Bruijn AY, Sullivan S, Qiu YL (2000) Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* gene sequences. *Systematic Biology* 49: 306–362
- Sigrist MR, Sazima M (2004) Pollination and reproductive biology of twelve species of neotropical Malpighiaceae: stigma morphology and its implications for the breeding system. *Ann Bot* 94:33–41. <https://doi.org/10.1093/aob/mch108>
- Singh S, Singh A (1975) Placentation in Euphorbiaceae. *Ann Bot* 39:1137–1140
- Smith FH, Smith EC (1942) Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *Am J Bot* 29:464.

- <https://doi.org/10.2307/2437312>
- Soltis DE, Soltis PS, Chase MW, et al (2000) Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, rbcL, and atpB sequences. *Bot J Linn Soc* 133:381–461. <https://doi.org/10.1006/bojl.2000.0380>
- Souto LS, Oliveira DMT (2005) Morfoanatomia e ontogênese do fruto e semente de *Byrsonima intermedia* A. Juss. (Malpighiaceae). *Rev Bras Botânica* 28:697–712. <https://doi.org/10.1590/s0100-84042005000400005>
- Souto LS, Oliveira DMT (2008) Morfoanatomia e ontogênese das sementes de espécies de *Banisteriopsis* C.B. Robinson e *Diplopterys* A. Juss. (Malpighiaceae). *Acta Botanica Brasílica* 22:733-740
- Souto LS, Oliveira DMT (2013) Evaluation of the floral vasculature of the *Janusia*, *Mascagnia* and *Tetrapteryx* species as a tool to explain the decrease of floral organs in Malpighiaceae. *Flora* 208:351–359. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2013.05.002>
- Souto LS, Oliveira DMT (2014) Seed development in Malpighiaceae species with an emphasis on the relationships between nutritive tissues. *Comptes Rendus Biologies* 337:62-70. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2013.11.001>
- Souto LS, Oliveira DMT (2020) Structural and developmental patterns in the pericarp of Malpighiaceae: New data from winged fruits of *Janusia*, *Mascagnia*, and *Tetrapteryx*. *Botany* 98:197–208. <https://doi.org/10.1139/cjb-2019-0158>
- Tobe H, Raven PH (1984) An embryological contribution to systematics of the Chrysobalanaceae I. Tribe Chrysobalaneae. *Bot Mag Tokyo* 97:397–411. <https://doi.org/10.1007/BF02488671>
- Tucker GC (1986) The genera of Elatinaceae in the southeastern United States. *J Arnold Arboretum* 67:471–483. <https://doi.org/10.5962/bhl.part.27394>
- Uphof JCT (1938) Cleistogamic flowers. *Bot Rev* 4:21–49. <https://doi.org/10.1007/BF02869833>
- Vidal BC (1970) Dichroism in collagen bundles stained with Xylidine-Ponceau 2R. *Ann Histochem* 15:289–296
- Vogel S (1990) History of the Malpighiaceae pollination ecology. *Mem N Y Bot Gard* 55:130–142
- von Wettstein RR (1935) *Handbuch der Systematischen Botanik*. F. Deuticke, Leipzig, Germany
- Williams EG, Sage TL, Thien LB (1993) Functional syncarpy by intercarpellary growth of pollen tubes in a primitive apocarpous angiosperm, *Illicium floridanum* (Illiciaceae). *Am*

- J Bot 80:137–142. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1993.tb13780.x>
- Wurdack KJ, Davis CC (2009) Malpighiales phylogenetics: Gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life. *Am J Bot* 96:1551–1570. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800207>
- Xi Z, Ruhfel BR, Schaefer H, et al (2012) Phylogenomics and a posteriori data partitioning resolve the Cretaceous angiosperm radiation Malpighiales. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:17519–17524. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205818109>
- Zhang ZQ, Li QJ (2008) Autonomous selfing provides reproductive assurance in an alpine ginger *Roscoea schneideriana* (Zingiberaceae) *Annals of Botany* 102: 531–538

Tabela 1 – Espécies de Elatinaceae amostradas neste trabalho. (*) indicam espécimes frescos.

Gêneros	Espécies	Voucher
<i>Bergia</i> L.	<i>Bergia perennis</i> F.Muell.	T.S.Henshall 1479 (SP)
<i>Elatine</i> L.	<i>Elatine gratioloides</i> A.Cunn.	P.K.Latz 7536 (SP)
	<i>Elatine lindbergii</i> Rohrb.	*s.n. (BHCB)
	<i>Elatine triandra</i> Schkuhr	*Comercial (BHCB)

Tabela 2 – Principais caracteres da anatomia floral observados em Elatinaceae, comparados àqueles das famílias mais próximas filogeneticamente de acordo com Xi et al. (2012): Malpighiaceae, Centroplocaceae, Caryocaraceae, Putranjivaceae e Lophopyxidaceae (Malpighiales). (?) indica dados desconhecidos; (-) indica ausência de literatura; (*) Nossa observação pessoal; indica caracteres adaptados para a terminologia adotada neste trabalho a partir das descrições na literatura.

Região da flor	Caracteres	Elatinaceae	Malpighiaceae	Centroplocaceae	Caryocaraceae	Putranjivaceae	Lophopyxidaceae
Pedicelo	1. Tipo de organização do cilindro vascular	Sifonostelo ou eustelo ¹	Sifonostelo ou eustelo ²²	?	Sifonostelo ou eustelo ^{10,13}	Sifonostelo ou eustelo ¹⁴	Eustelo ¹⁴
Cálice	2. Gamossépalo em alguma altura	Presente ^{1,16}	Presente ^{2,4}	?	Presente ^{10,13}	Presente ¹⁴	Presente (flores pistiladas) ¹⁴
	3. Fusão dos traços laterais de sépala	Não se aplica ¹	Presente ^{8,22}	?	Presente ^{10,13}	Presente ¹⁴	Ausente ¹⁴
	4. Número de traços por sépala	1 ¹	3 ^{8,15,22}	?	3-vários ^{10,13}	1 ou 3 ¹⁴	3 ¹⁴
	5. Origem da vascularização	Traços de sépala ¹	Traços de sépala e complexos sépala-pétala ^{8,15,22}	?	*Traços de sépala e complexos sépala-pétala ^{10,13}	Traços de sépala ¹⁴	Traços de sépala e complexos sépala-pétala? ¹⁴
	6. Glândulas calicinais na face abaxial das sépalas	Ausentes ¹	Presentes ^{2,3}	?	Presentes ¹³	Ausentes ¹⁴	Ausentes ¹⁴
	7. Tipo da glândula	Vestigial ¹	Elaióforos ou nectários ou secreção mista ^{5,11,17,25,26}	?	?	Não se aplica ¹⁴	Não se aplica ¹⁴
	8. Fusão com a corola	Ausente ¹	Presente (tecidos fundamental e vascular) ^{8,15,22}	?	Presente (somente tecido vascular) ^{10,13}	Não se aplica ¹⁴	Presente (tecidos fundamental e vascular) ¹⁴
	9. Vascularização na região externa do receptáculo, produzida por traços de sépala basípetos	Ausentes ¹	Presentes ^{8,15,22}	?	Presentes ^{10,13}	Ausentes (?) ¹⁴	Ausentes (?) ¹⁴
	Corola	10. Pétalas fusionadas entre si	Não ^{1,16}	Não ^{2,4}	?	Não ^{10,13}	Não se aplica ¹⁴

	11. Número de traços por pétala	1 ¹	1 (3) ^{8,15,22}	?	3-vários ^{10,13}	Não se aplica ¹⁴	1 ¹⁴
	12. Adnata ao androceu	Presente (raro) ¹	Presente a nível vascular ⁸	?	Presente ^{10,13}	Não se aplica ¹⁴	Ausente ¹⁴
Androceu	13. Grau de fusão entre os estames	Livres entre si ¹	Livres ou fusionados entre si ^{2,4}	?	Fusionados entre si ^{10,13}	Livres ou fusionados entre si ¹⁴	Livres entre si ¹⁴
	14. Número de traços por estame	1 ¹	1 ^{8,15,22}	?	1 ^{10,13}	1 ¹⁴	1 ¹⁴
	15. Epiderme glandular da antera	Presente (restrito às espécies terrestres) ¹	Presente ^{2,6,7,17}	?	?	? ¹⁴	? ¹⁴
	16. Presença estaminódios	Ausentes ¹	Presentes ^{2,4}	Presentes em flores pistiladas ¹¹	Presentes ^{10,13}	Ausentes ¹⁴	Ausentes ¹⁴
Hipanto	17. Hipanto (tubo floral)	Ausente ¹	Presente ⁸	?	Presente? ^{10,13}	Presente ¹⁴	Presente ¹⁴
	18. Se hipanto presente, verticilos envolvidos	Não se aplica ¹	Perianto + androceu ⁸	?	Corola + androceu + gineceu ^{10,13}	Cálice + androceu ou cálice + ginóforo ¹⁴	Perianto (flores pistiladas) ou perianto + androceu (flores estaminadas) ¹⁴
Gineceu	19. Número de carpelos	(2) 3-5 ^{1,9,19}	3 ^{2,4}	?	3-vários ^{10,12}	1-vários ¹⁴	4-5 ¹⁴
	20. Extensão da fusão dos carpelos	Estiletos livres ou fusionados ¹	Estiletos livres ou fusionados ^{2,4}	?	Estiletos livres ^{10,13}	Fusionados até região mediana ou apical do estilete ¹⁴	Fusionados até região mediana ou apical do estilete ¹⁴
	21. Feixe dorsal do carpelo indiferenciado	Ausente ¹	Presente ^{15,22,23, 24}	?	Presente ^{10,13}	Ausente ¹⁴	Ausente ¹⁴
	22. Unidades dos feixes ventrais por carpelo	1 ¹	1 ^{8,15,22}	?	2 ^{10,13}	1-2 ¹⁴	2? ¹⁴
	23. Fusão do feixe ventral entre	Presente ¹	Ausente ^{8,15,22}	?	Ausente ^{10,13}	Ausente? ¹⁴	Ausente? ¹⁴

	carpelos adjacentes						
	24. Estiletos vascularizados por carpelos adjacentes	Ausente ¹	Ausente ^{8,15,22}	?	Presente ^{10,13}	Ausente? ¹⁴	Ausente? ¹⁴
	25. Inserção dos óvulos	Basal ou pêndula ¹	Pêndula ^{8,15,22}	?	Pêndula ¹³	Pêndula ¹⁴	Pêndula ¹⁴
	26. Tipo da placentação	Axial ^{1,16,18}	Axial ²⁴	?	Axial ^{10,13}	Axial ¹⁴	Axial ¹⁴
	27. Placenta invade o lóculo	Presente ¹	Ausente ²⁴	?	Ausente ^{10,13}	Presente ¹⁴	Ausente? ¹⁴
	28. Presença de hipóstase nos óvulos	Presente ¹	Presente ^{20,21,23}	?	Ausente ^{10,13}	Presente ¹⁴	Ausente? ¹⁴
Estruturas secretoras	29. Presença de nectários	Ausentes ¹	Ausentes (em espécies neotropicais) ³ Presentes (em espécies paleotropicais) ¹¹	Presentes ¹¹	Presentes ^{10,13}	Presentes (ausentes em <i>Putranjiva</i>) ¹⁴	Presentes ¹⁴
	30. Se nectários presentes, localização	Não se aplica ¹	Face abaxial das sépalas ¹¹	Receptacular? ¹¹	Estaminódios ^{10,13}	Ao redor do gineceu ¹⁴	Superfície interna do hipanto ¹⁴
	31. Se nectários presentes: origem da vascularização	Não se aplica ¹	Cálice? ¹¹	?	Androceu ^{10,13}	Gineceu ¹⁴	Corola ¹⁴

Fontes dos dados: (1) Este estudo; (2) Anderson 1979; (3) Anderson 1990; (4) Anderson et al. 2006; (5) Araújo e Meira 2016; (6) Arévalo-Rodrigues et al. 2020; (7) Avalos et al. 2020; (8). Bonifácio et al. 2021; (9) Dathan e Singh 1971; (10) Dickison 1990; (11) Guesdon et al. 2019; (12) Kubitzki 2014; (13) Matthews e Endress 2011; (14) Matthews e Endress 2013; (15) Mello 2017; (16) Niedenzu 1925; (17) Possobom et al. 2015; (18) Ramaya e Rajagopal 1971; (19) Salisbury 1967; (20) Souto e Oliveira 2005; (21) Souto e Oliveira 2008; (22) Souto e Oliveira 2013; (23) Souto e Oliveira 2014; (24) Souto e Oliveira 2020; (25) Vogel 1974; (26) Vogel 1990.

Figuras

Fig. 1 *Elatine lindbergii*. **a** Vista geral da planta; o retângulo destaca uma flor. **b** Detalhe de uma flor em antese; a inserção (à direita) amplia a sépala e mostra a glândula apical. *asterisco* gineceu, *gl* glândula calicinal, *pe* pétala, *sa* estame, *se* sépala.

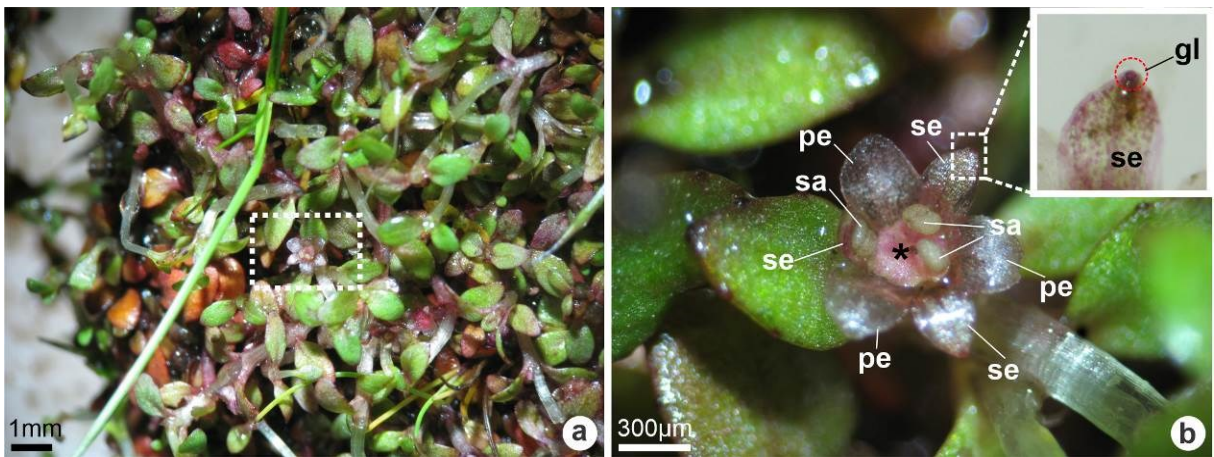


Fig. 2 Estrutura floral de *Bergia perennis*. Secções longitudinais (a, j-k) e transversais (b-i, l-o) do botão floral. **a** Reconstrução de um botão floral em secção longitudinal evidenciando o padrão geral de vascularização do perianto; as letras b-e indicam a posição das respectivas figuras. **b** Vista geral do pedicelo mostrando o cilindro vascular do tipo eustelo. **c-f** Vascularização do perianto e androceu. **g-i** Padrão de vascularização carpelar; em *i*, note os complexos ventrais, cada um irrigando dois carpelos adjacentes; a seta indica a margem entre carpelos adjacentes. **j** Vascularização apical da placenta. **k** Visão geral do óvulo na placenta. **l** Visão apical do ovário evidenciando o *compitum* (as setas indicam as margens independentes dos carpelos). **m** Vista geral do estilete evidenciando o canal estilar único e vista apical do estame; observe a antera tetraesporangiada com deiscência introrsa. **n** Detalhe de um microsporângio mostrando as camadas parietais e os grãos de pólen. **o** Detalhe do conectivo glandular (pontas de setas indicam idioblastos contendo compostos fenólicos). *asterisco* megasporângio, *ch* calaza, *cr* cristal, *db* feixe dorsal, *ed* endotécio, *en* endóstoma, *ex* exóstoma, *ep* epiderme, *fi* filete, *fu* funículo, *ii* tegumento interno, *oi* tegumento externo, *ov* óvulo, *pg* grão de pólen, *pt* traço de pétala, *sa* estame, *se* sépala, *st* traço de sépala, *sy* estigma, *tr* tricoma, *tt* traço de estame, *vb* feixe ventral, *vc* complexo ventral.

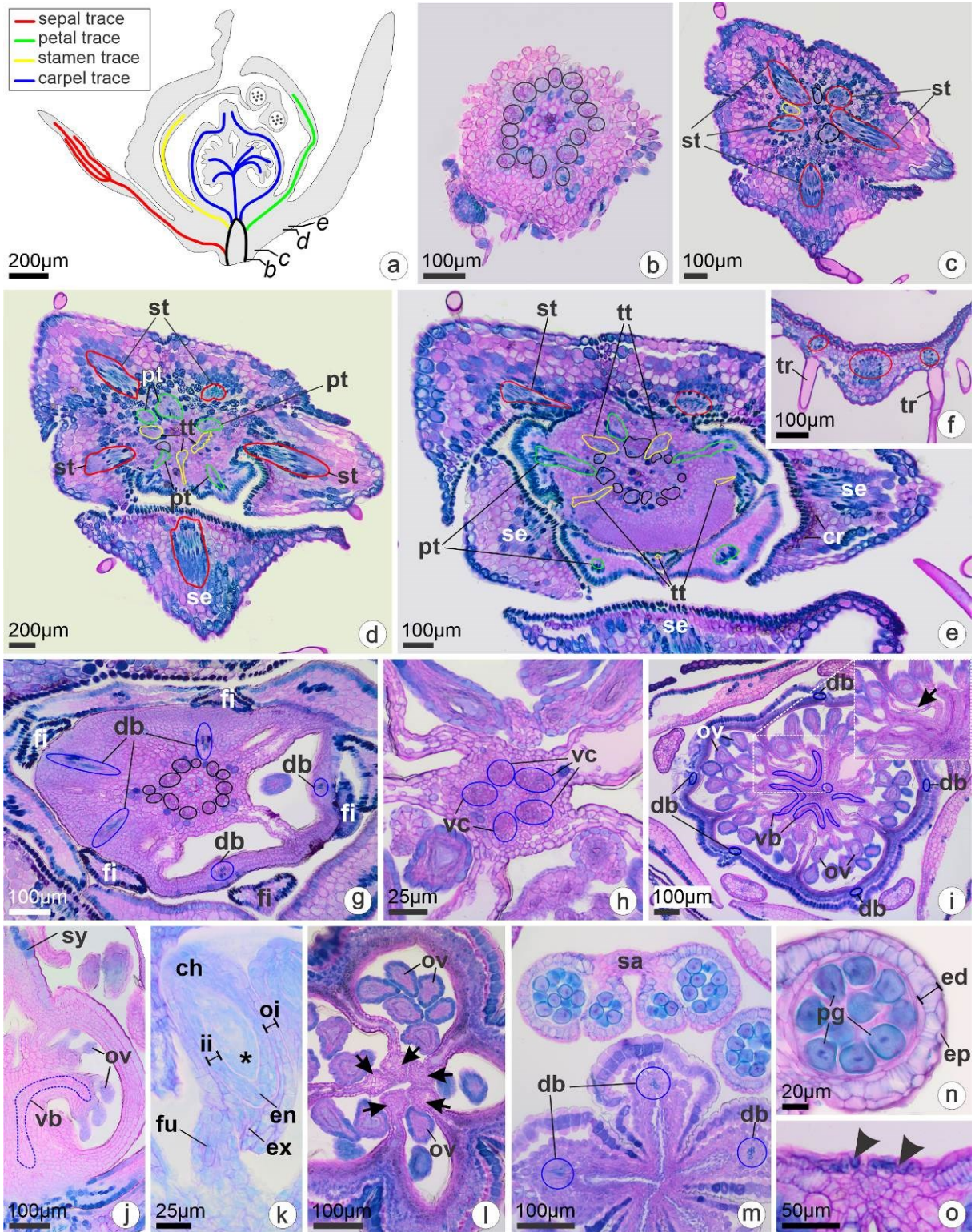


Fig. 3 Anatomia floral de *Elatine*. Secções longitudinais (a-c) e transversais (d-o) de botões florais (a-k, m-o) e fruto jovem (l). Cada coluna apresenta a espécie identificada acima: *E. gratiolooides* (a, d, g, j, m), *E. lindbergii* (b, e, h, k, n) e *E. triandra* (c, f, i, l, o). **a-c** Reconstruções de botões florais em secção longitudinal evidenciando o padrão de vascularização. **d-f** Vista geral do pedicelo exibindo o arranjo do cilindro vascular. **g-o** Emissão da vascularização do perianto e do androceu. *asterisco* aerênquima, *ac* complexo estame antissépalo-carpelo, *ca* cálice, *db* feixe dorsal, *pa* complexos pétala-estame antipétalo, *pt* traço de pétala, *st* traço de sépala, *tt* traço de estame, *xy* xilema.

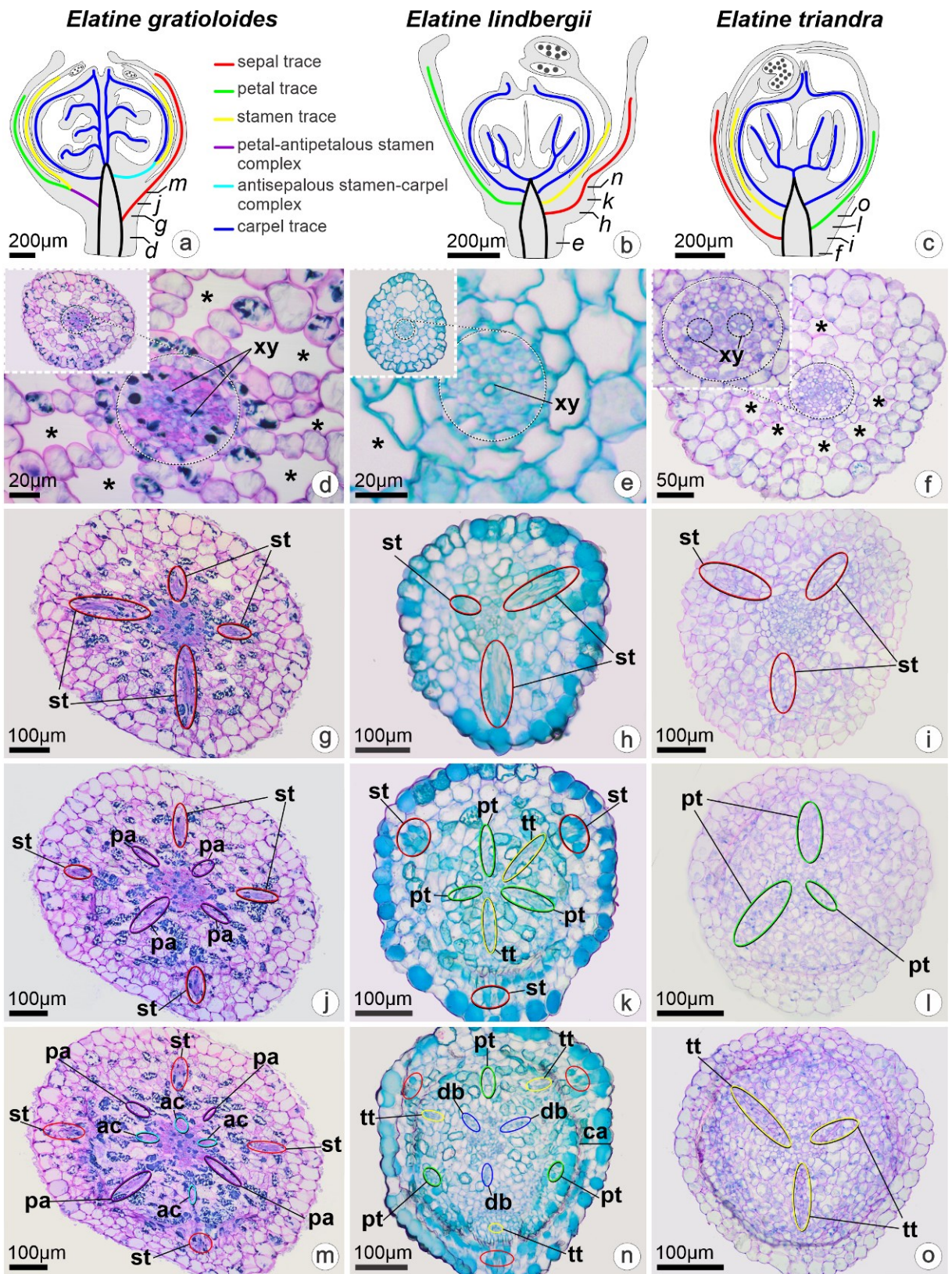


Fig. 4 Vascularização carpelar de *Elatine*. Secções transversais de botões florais (a-f, h-j) e fruto jovem (g). Cada coluna apresenta a espécie identificada acima: *E. gratioloides* (a, d-e, h), *E. lindbergii* (b, f, i) e *E. triandra* (c, g, j). **a-e** Início da emissão da vascularização carpelar periférica (feixes dorsais). **d-g** Diferenciação da vascularização carpelar central; observe os três complexos ventrais. **h-j** Emissão da vascularização dos óvulos. *ac* complexo estame antissépalo-carpelo, *ca* cálice, *cr* carpelo, *db* feixe dorsal, *fi* filete, *oa* ovário, *ov* óvulo, *pa* complexos pétala-estame antipétalo, *pe* pétala, *pt* traço de pétala, *se* sépala, *tt* traço de estame, *vb* feixe ventral, *vc* complexo ventral.

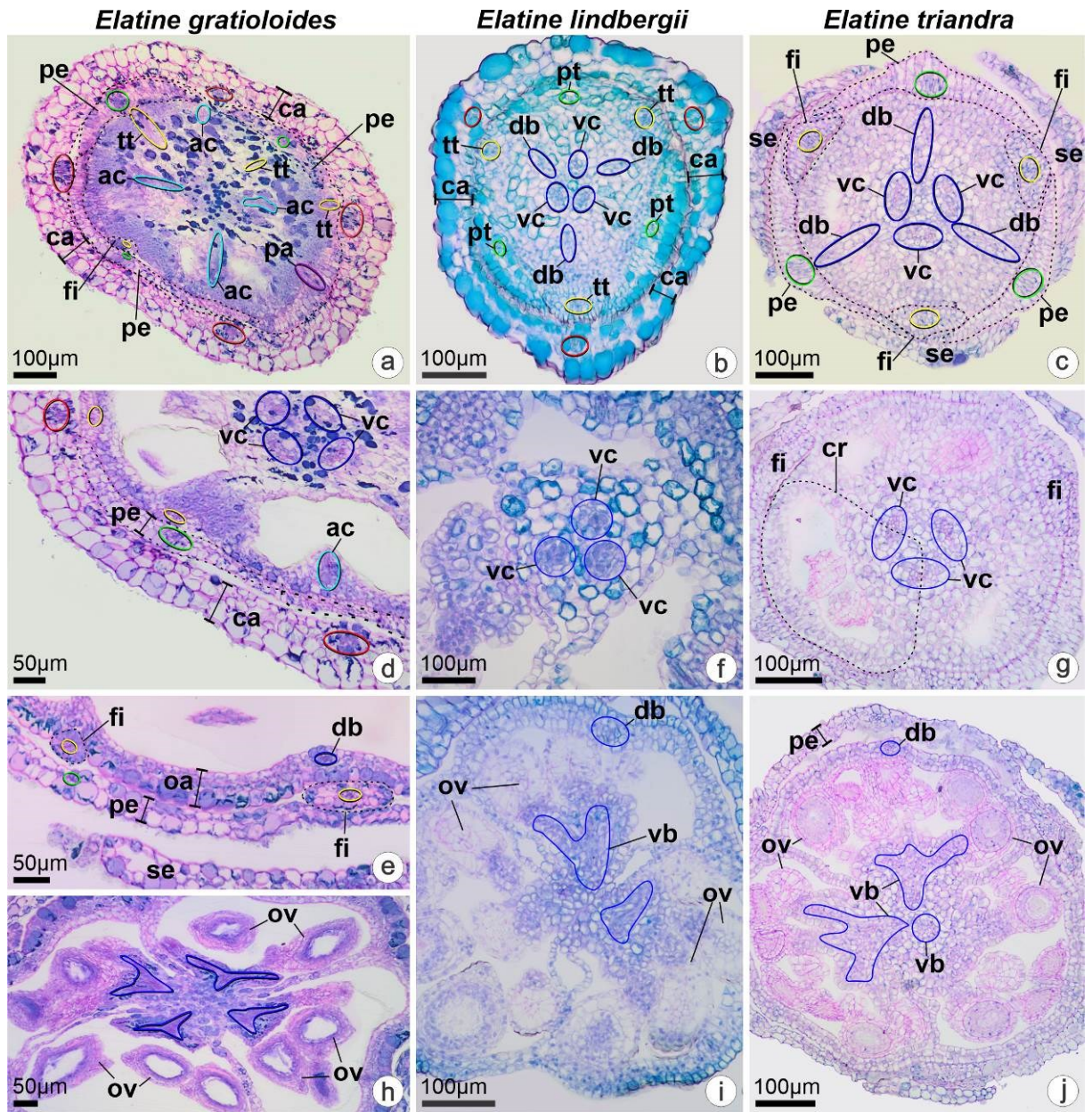


Fig. 5 Óvulos e região apical do ovário de *Elatine*. Secções longitudinais (a-c) e transversais (d-f) de botões florais. Cada coluna apresenta a espécie identificada acima: *E. gratioloides* (a, d), *E. lindbergii* (b, e) e *E. triandra* (c, f). **a-c** Inserção do óvulo na placenta; em *c*, destaque para a hipóstase. **d-f** *Compitum*. *seta cheia* paredes ovarianas, *seta vazia* vascularização do óvulo, *asterisco* nucelo, *as* estame, *ch* calaza, *db* feixe dorsal, *en* endóstoma, *ex* exóstoma, *fi* filete, *fu* funículo, *hy* hipóstase, *ii* tegumento interno, *oi* tegumento externo, *pl* placenta, *se* sépala, *vb* feixe ventral.

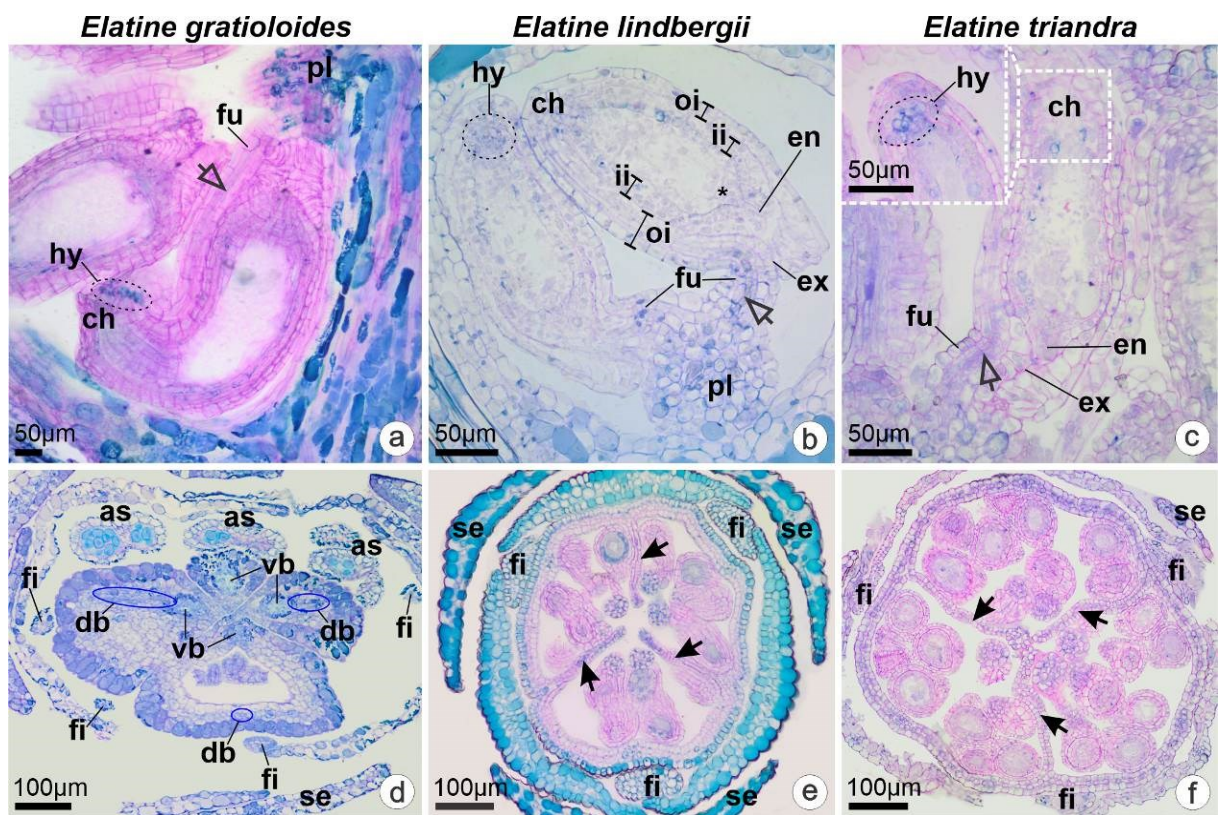


Fig. 6 Anatomia da antera de *Elatine*. Cada coluna e a última fileira de imagens apresentam a espécie identificada acima: *E. gratiolooides* (a, d, g), *E. lindbergii* (b, e, h, e a última linha, j-l) e *E. triandra* (c, f, i). **a-c** Vista geral da distribuição dos estames. **d-f** Anteras maduras. **g-i** Detalhe das paredes do microsporângio. **j** Epiderme exibindo células secretoras. **k-l** Grãos de pólen. *pontas de seta* células epidérmicas secretoras, *an* antera, *ed* endotécio, *ep* epiderme, *mi* microsporângio, *pe* pétala, *pg* grão de pólen, *pu* tubo polínico, *sc* células espermáticas, *sy* estigma, *ve* célula vegetativa.

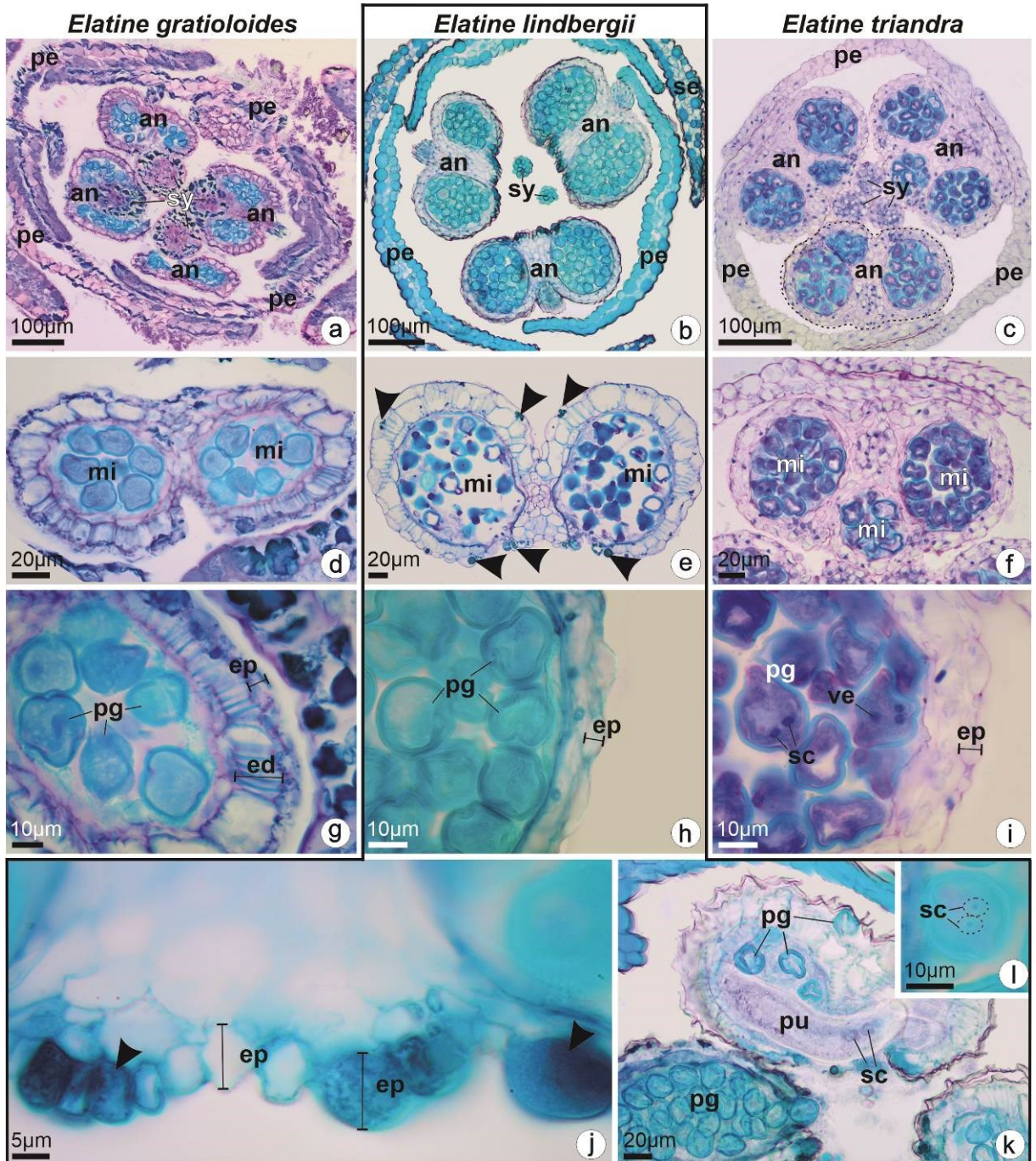
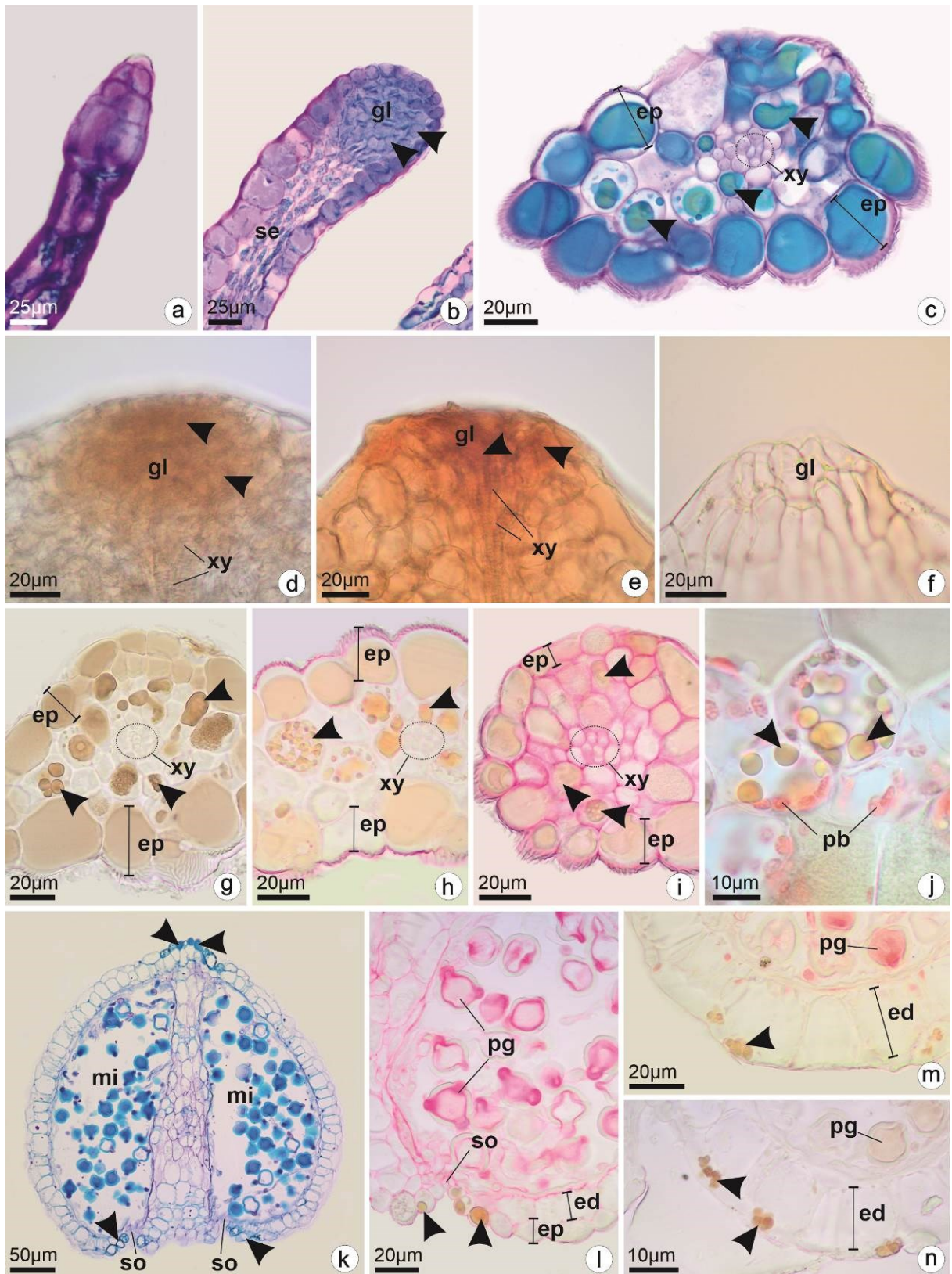


Fig. 7 Estruturas secretoras e histoquímica em flores de Elatinaceae. Secções longitudinais (a-b, k), transversais (c, g-j, l-n) da região apical de sépalas isoladas (a-j) e anteras (k-n). *Bergia perennis* (a), *Elatine gratioloides* (b, d), *E. lindbergii* (c, e, g-n) e *E. triandra* (f). **a** Glândula vestigial na região marginal da sépala. **b-c** Glândula vestigial no ápice da sépala. **d-f** Região apical das sépalas em cortes em branco; note a presença de tecido vascular em *d* e *e*, nas quais o ápice se destaca pela coloração natural das células. **g-j** Glândulas calicinais submetidas a testes histoquímicos; em marrom presença de compostos fenólicos (*g*), em rosa lipídios (*h*) e compostos pécticos (*i*) e em vermelho proteínas (*j*). **k** Vista geral da antera. **l-n** Anteras submetidas a testes histoquímicos, para compostos pécticos (*l*), proteínas (*m*) e compostos fenólicos (*n*). *ptas de seta* idioblastos, *ed* endotécio, *ep* epiderme, *gl* glândula, *mi* microsporângio, *pb* corpos proteicos, *pg* grãos de pólen, *se* sépala, *so* estômio, *xy* xilema.



CAPÍTULO III

Desvendando a homologia entre glândulas calicinais em Malpighiales: novos dados de Malpighiaceae basais

Manuscrito apresentado segundo as normas do periódico

Botanical Journal of the Linnean Society

**Desvendando a homologia entre glândulas calicinais em Malpighiales:
novos dados de Malpighiaceae basais**

Stéphani Karoline Vasconcelos Bonifácio^{1*}, André Márcio Araújo Amorim², Élder Antônio Sousa Paiva¹, Denise Maria Trombert Oliveira¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, PlantSeR Lab, Avenida Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

² Universidade Estadual de Santa Cruz Departamento de Ciências Biológicas, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, 45600-970, Ilhéus, Bahia, Brazil.

Stéphani K. V. Bonifácio

*skvbonifacio@gmail.com

Running title: The origin of the Malpighiaceae elaiophores

ORCID:

S. K. V. Bonifácio: 0000-0002-5821-6993

A. M. A. Amorim: 0000-0003-0712-3321

E. A. S. Paiva: 0000-0002-1440-4810

D. M. T. Oliveira: 0000-0003-1918-2433

Resumo

Malpighiales é uma ordem com diversificada morfologia vegetativa e reprodutiva, cujos representantes têm sido estudados nos últimos anos especialmente por suas estruturas glandulares. Em Malpighiaceae os elaióforos sepalares merecem especial atenção e têm sido considerados homólogos aos nectários extraflorais (NEFs) da própria família. Esta suposta homologia parece resultar da frequência desses dois tipos de estrutura secretora em espécies da família e da grande similaridade estrutural entre eles. Contudo, outros critérios não foram utilizados para se estabelecer a relação de homologia e tampouco o contexto filogenético em Malpighiales foi considerado. O objetivo deste trabalho foi compreender a origem evolutiva dos elaióforos de Malpighiaceae. Para tanto, analisamos a vascularização e ontogênese de elaióforos em dois clados basais de Malpighiaceae, comparando-os a outras famílias de Malpighiales em que há nectários sepalares. A vascularização e a ontogênese dos elaióforos de Malpighiaceae corroboram a origem dos elaióforos nas margens das sépalas, mesmo que sejam concrecidos ao receptáculo. Análises estruturais de NEFs, nectários sepalares e elaióforos, indicam a similaridade morfológica entre essas glândulas. Em Malpighiales há relatos de nectários sepalares em duas das principais linhagens da ordem, enquanto NEFs (em órgãos vegetativos) são descritos para as três linhagens. Assim, a presença de NEFs e nectários sepalares é plesiomórfica para ordem. Desse modo, a transição de nectários foliares para sepalares ocorreu no ancestral comum de Malpighiales e os precursores mais próximos dos elaióforos são os nectários sepalares, sendo homólogos entre si. Portanto, a história evolutiva dos elaióforos de Malpighiaceae é muito mais antiga e pode ser mais relevante para Malpighiales, cujas relações filogenéticas ainda não são bem esclarecidas.

Palavras-chave: byrsonimoid, elaióforos, galphimiod, nectário extrafloral, nectário floral, vascularização floral.

Introdução

O reconhecimento de relações de homologia entre estruturas secretoras muitas vezes não é uma tarefa fácil. Apesar disso, entender a evolução dessas estruturas em grupos taxonômicos pode oferecer dados importantes para a compreensão de relações filogenéticas (Gagliardi *et al.*, 2016). Em Malpighiales, por exemplo, estruturas secretoras são amplamente distribuídas entre os clados (p.ex. Machado *et al.*, 2008; Rocha *et al.*, 2009; Matthews & Endress, 2011; Paiva *et al.*, 2011; Weber *et al.*, 2015; Gagliardi *et al.*, 2016; Almeida &

Paiva, 2019), cujas relações filogenéticas permanecem não resolvidas (Xi *et al.*, 2012). Na ordem, são descritos nectários, coléteres, glândulas de resina (Paiva *et al.*, 2021), osmóforos (Paiva *et al.*, 2019), laticíferos (Pace *et al.*, 2019) e elaióforos (Possobom *et al.*, 2015; Possobom & Machado, 2018). Esses últimos são glândulas que secretam óleo e, em Malpighiaceae, estão localizadas na face abaxial das sépalas (Anderson, 1979, 1990; Vogel, 1990). O papel dos elaióforos para a evolução de Malpighiaceae é considerado muito importante, pois a eles está associado o conservantismo floral da família, mediante a manutenção da relação mutualística com abelhas coletoras de óleo (Anderson, 1979, 1990; Davis *et al.*, 2014).

Os elaióforos de Malpighiaceae são considerados homólogos aos nectários extraflorais (*sensu* Caspary 1848) presentes nos órgãos vegetativos das espécies da família (Anderson 1990; Subramanian *et al.*, 1990; Vogel, 1990; Castro *et al.*, 2001; Guesdon *et al.*, 2019). Essas glândulas são consideradas homólogas entre si por estarem amplamente distribuídas entre os indivíduos e por exibirem estrutura semelhante: em ambos os casos, as glândulas são delimitadas por epiderme em paliçada, encerrada por cutícula, sob a qual a secreção é armazenada (Vogel, 1990). Dessa forma, acredita-se que, durante a evolução de Malpighiaceae, houve a mudança do tipo de secreção liberada por estas glândulas calicinais que, no neotrópico, passou de néctar para óleo (Anderson, 1990; Vogel, 1990) e, nas espécies paleotropicals, que surgiram depois das neotropicais, uma reversão dessa condição (Guesdon *et al.*, 2019).

Entretanto, a proposição da homologia entre nectários extraflorais e elaióforos por Vogel (1990) é prévia aos trabalhos filogenéticos que mostram as relações de Malpighiaceae na ordem Malpighiales (Wurdack & Davis, 2009; Xi *et al.*, 2012); tampouco, as relações de parentesco reconhecidas à época eram as mesmas de hoje. Desse modo, a origem filogenética dos elaióforos de Malpighiaceae ainda não foi considerada no contexto da atual circunscrição da ordem Malpighiales.

A vascularização corresponde à parte mais conservativa da flor e, por isso, pode informar sobre a sua ancestralidade (Henslow, 1888; Arber, 1913), e como se espera que os clados basais exibam caracteres mais próximos ao ancestral comum entre as famílias, a análise da anatomia vascular floral de linhagens que primeiro divergiram em Malpighiaceae pode revelar como essas estruturas surgiram. Assim, o objetivo deste trabalho foi entender a origem evolutiva dos elaióforos, a partir da vascularização e da ontogênese de elaióforos em dois clados basais de Malpighiaceae, byrsonimoide e galphimioide, comparando-os a outras famílias de Malpighiales.

Material e métodos

Amostragem

Selecionamos três indivíduos para cada gênero dos clados galphimioide e byrsonimoide (Tabela 1). Esses clados foram selecionados por serem basais em Malpighiaceae e porque suas relações intergenéricas estão bem suportadas (Davis & Anderson, 2010); nessas condições, espera-se amostrar os estados plesiomórficos para a família. No caso dos gêneros ou espécies que exibem morfos glandulares e eglandulares (flores com e sem elaióforos respectivamente), nós amostramos ambas as formas e incluímos espécies do mesmo gênero que não apresentam essa variação.

Para a análise da vascularização floral, o material consistiu em botões florais próximos à antese provenientes de material herborizado ou de coletas em campo. Para determinar a origem dos elaióforos, além da vascularização, consideramos a ontogênese dessas estruturas. Para isso, selecionamos *Verrucularia glaucophylla* e *Lophanthera lactescens* (clado galphimioide) e *Byrsonima triopterifolia* (clado byrsonimoide).

Análises anatômicas

O material proveniente de exsicatas foi submetido ao processo de reversão da herborização, desidratado em série etílica e mantido em etanol 70% (Smith & Smith, 1942, modificado por Mello et al., 2019). Já o material coletado em campo foi fixado em formaldeído 37%, ácido acético, etanol 50%, 1:1:18 v/v (Johansen 1940) e, após 48 horas, armazenado em etanol 50%. Após, o material foi desidratado em série etílica, embebido em (2-hidroxietil)-metacrilato Leica (Paiva et al., 2011) e seccionado em micrótomo rotativo com 5-10µm de espessura. Os cortes foram corados com azul de toluidina 0,05% em pH 4,7 em tampão acetato (O'Brien et al., 1964, modificado) e montadas em Entellan.

As imagens obtidas em microscópio Olympus CX41 com câmera LC20 acoplada foram reunidas, alinhadas utilizando o software Image Composite Editor 2015, editadas no Corel Photo-Paint (2020) e organizadas no CorelDraw Graphics Suite (2020).

Terminologia adotada

Neste trabalho adotamos a terminologia topológica para nectários proposta por Caspary (1848), o qual classifica nectários extraflorais (NEFs) como aqueles dispostos fora da flor, em órgãos vegetativos, e nectários florais (NFs) aqueles presentes nas flores. Nas discussões, para evidenciar ainda mais o critério da posição, indicamos com exatidão a localização dos

nectários, mencionando o órgão onde ocorrem, p. ex: nectário sepalar refere-se aquele localizado na sépala. Quando mencionamos o aspecto funcional dos nectários (independentemente da sua localização), utilizamos os termos extranupcial (quando tiver função de proteção e não for relacionado a função nupcial, isto é, polinização) e nupcial (quando desempenhar papel de atração e recompensa a polinizadores) como originalmente proposto por Delpino (1886).

Por glândulas calicinais consideramos tanto elaióforos quanto nectários sepalares. Por isso, para evitar quaisquer ambiguidades, utilizamos o termo elaióforo para indicar as glândulas calicinais de Malpighiaceae que estão envolvidas na síntese e liberação de óleo. Mesmo naqueles casos em que não há informações sobre a natureza química da secreção, denominamos elaióforos os tipos glandulares que ocorrem nos cálices das espécies neotropicais.

As descrições da vascularização seguiram a terminologia adotada por Puri (1951), Souto & Oliveira (2013), Mello (2017) e Bonifácio *et al.* (2021). Nas quais utilizamos os seguintes termos: a) traço vascular para designar a unidade vascular que ainda não está no órgão, isto é, está em emissão para um órgão que ainda não está individualizado naquela altura (ex. traço de sépala); b) complexo vascular quando a unidade vascular irriga mais de um verticilo, p.ex. complexo sépala-pétala-estame antipétalo (a partir do qual são emitidos traços para a sépala, para a pétala e para o estame oposto a pétala). c) traços basípetos para designar aquelas unidades vasculares que têm orientação basípeta, isto é, com xilema voltado para a face externa do órgão. d) traços medianos de sépala modificados em complexos sépala-pétala, para referenciar a posição em relação à sépala, designa o traço mediano de sépala que também emite traço de pétala (Bonifácio *et al.*, 2021).

Considerando que o foco deste trabalho é tratar sobre a origem evolutiva dos elaióforos de Malpighiaceae, as análises da vascularização floral estão restritas aos verticilos associados a eles. Assim sendo, nas descrições nas quais o cálice e a corola estão envolvidos, somente serão apresentadas as suas emissões vasculares; de modo similar, quando apresentados cálice, corola e androceu, há o envolvimento de todos eles. Em todos os casos, a vascularização do gineceu não foi analisada.

Critérios de homologia

Para determinar as relações de homologia entre nectários e elaióforos, utilizamos os seguintes critérios: 1) Vascularização (a presença dos feixes vasculares e sua origem); 2) Ontogênese; 3) Posição (baseada na correspondência topológica); 4) Organização anatômica;

e 5) Histoquímica. Os dois primeiros critérios foram levantados neste trabalho para clados basais de Malpighiaceae. Já os demais critérios são provenientes de dados de literatura sobre Malpighiaceae e famílias próximas a ela, seguindo a filogenia mais recente de Malpighiales (Xi *et al.*, 2012) e estão sumarizados na tabela 2.

Resultados

No total, observamos três padrões de vascularização nos clados galphimioide e byrsonimoide, nos quais os elaióforos são vascularizados por traços laterais de sépala. Esses traços laterais são emitidos a partir de: (1) complexos sépala-pétala (*Galphimia*, *Verrucularia*, *Byrsonima* e *Blepharandra*), (2) complexos sépala-pétala-estame antipétalo (*Spachea* e *Lophanthera lactescens*), ou (3) traços medianos de sépala (*Diacidia* e *Lophanthera longifolia*).

Entre as espécies nas quais são emitidos complexos sépala-pétala, a distribuição dos traços laterais de sépala é diferente de acordo com o número e tamanho das glândulas.

Em *Galphimia*, analisamos espécie com os dois morfos - glandular e eglandular (*G. australis*) - e espécie completamente eglandular (*G. brasiliensis*). Os detalhes da vascularização do cálice e corola dessas espécies estão disponíveis na Fig. S1. Em ambos os casos, os traços medianos de sépala são emitidos primeiro (Fig. 1a), seguidos pelos complexos sépala-pétala (Fig. 1b). Esses ramificam-se lateralmente originando dois traços laterais de sépala e um traço de pétala. Os traços laterais, então, migram para a periferia do receptáculo em direção a duas sépalas adjacentes (Fig. 1c). Quando as glândulas estão presentes, os traços laterais as irrigam, e elas constituem pequenas protuberâncias na região receptacular, recobertas por epiderme paliçádica (Fig. 1d). O número total de glândulas por flor é variável (registramos o máximo de quatro) e nunca ocorrem aos pares. Em *G. australis*, os dois traços laterais de sépala adjacentes ao elaióforo o irrigam basipetamente (Fig. 1d); esse padrão é mantido no morfo eglandular. Em *G. brasiliensis*, que é eglandular, o padrão de emissão é o mesmo, mas não há traços basípetos.

Blepharandra hypoleuca, *Byrsonima stipulacea* e *Verrucularia glaucophylla*, por sua vez, exibem cálice 10-glandular, com dois elaióforos por sépala, os quais podem ser fusionados basalmente. Os morfos eglandulares de *Byrsonima stipulacea* mantiveram o padrão de vascularização do morfo glandular. Os detalhes da vascularização do cálice e corola dessas espécies estão disponíveis nas Figs. S1, S2 e S3. Cada complexo sépala-pétala se ramifica lateralmente, emitindo dois traços laterais de sépala, e cada um desses emite um traço basípeto e irriga o elaióforo correspondente (Fig. 1e-h).

Em *Lophanthera lactescens* e *Spachea elegans*, os elaióforos também são irrigados por traços laterais de sépala, mas originados a partir de complexos sépala-pétala-estame antipétalo (Fig. 2a). Os detalhes da vascularização do cálice e corola dessas espécies estão disponíveis na Fig. S4. Nessas espécies, a flor apresenta oito elaióforos, sendo a sépala anterior eglandular. Na base do receptáculo, do cilindro vascular, partem simultaneamente cinco traços medianos de sépala e cinco complexos sépala-pétala-estame antipétalo (Fig. 2b). Cada traço mediano de sépala forma o feixe mediano de sépala e cada complexo sépala-pétala-estame antipétalo se divide e irriga um estame antipétalo, uma pétala e, lateralmente, duas sépalas que recebem cada uma um traço que irriga a glândula (Fig. 2c-d). Nessa espécie cuja sépala anterior é eglandular, os traços laterais dessa sépala irrigam os elaióforos das sépalas adjacentes a ela (Fig. 3d). Desse modo, as sépalas látero-posteriores recebem três traços, as látero anteriores recebem quatro traços (os três delas mais um traço que iria para a sépala anterior) e a sépala anterior recebe um único traço. As pétalas e estames recebem um único traço vascular cada.

Em *Lophanthera longifolia*, os dez elaióforos são vascularizados por traços laterais de sépala vindos de traços medianos de sépala (Fig. 3a), à exceção do elaióforo adjacente à pétala posterior, que é irrigado a partir de um complexo sépala-pétala-estame antipétalo (Fig. 3b). Os detalhes da vascularização do cálice e corola nesta espécie podem ser vistos na Fig. S5. No receptáculo, são emitidos cinco traços medianos de sépala e, antes mesmo da ramificação desses traços, é possível observar a vascularização periférica irrigando os elaióforos (Fig. 3b). Do complexo sépala-pétala-estame antipétalo são emitidos um único traço lateral de sépala, o traço da pétala posterior e um traço de estame antipétalo (Fig. 3c-d).

Em *Diacidia aracaensis* estão presentes dez elaióforos, vascularizados por cinco traços medianos de sépala modificados em complexos sépala-pétala (Fig. 4a), os quais são emitidos logo na base do receptáculo (Fig. 4b). Esses, ramificam-se lateralmente, originando os dois traços laterais da sépala e um traço de pétala (Fig. 4c). Os traços laterais, então, migram para a periferia do receptáculo em direção as duas glândulas da sépala (Fig. 4d). Os detalhes da vascularização do cálice e corola dessas espécies estão disponíveis na Fig. S6.

Ontogênese dos elaióforos nos clados galphimioide e byrsonimoide

A ontogênese dos elaióforos de *Verrucularia glaucophylla*, *Lophanthera lactescens* e *Byrsonima triopterifolia* é similar. A formação dessas glândulas começa após a expansão das sépalas e pétalas nas flores. As células precursoras dos elaióforos se localizam na região proximal das sépalas, próximas à inserção dessas no receptáculo, e são distintas das demais

células pela elevada densidade do protoplasto e por apresentarem núcleos volumosos (Fig. 5a-b). A partir dessa fase, as glândulas são reconhecidas como duas protuberâncias entre sépalas adjacentes e é possível observar que os cordões procambiais já exibem o padrão de vascularização do perianto, inclusive a conformação dos futuros complexos vasculares (Fig. 5c-e).

O crescimento dos elaióforos é marcado por divisões celulares no meristema fundamental e protoderme (Fig. 5f-h). Em *B. triopterifolia*, as glândulas ficam restritas às margens das sépalas (Fig. 5i) e, à medida em que ocorrem as divisões celulares em diferentes planos, as glândulas se projetam das margens das sépalas em direção à região proximal do receptáculo (Fig. 5j). Em todas as espécies, a etapa seguinte é marcada pela expansão das glândulas, fase caracterizada por divisões celulares em planos variados principalmente nas camadas imediatamente internas à epiderme; essa, por sua vez acompanha o aumento de volume das glândulas por meio de divisões anticlinais de suas células (Fig. 5k-m). Ao final, as glândulas consistem, majoritariamente, de parênquima no qual são observados numerosos idioblastos fenólicos e da epiderme que as reveste. Na glândula a epiderme é uniestratificada, formada por células alongadas anticlinalmente e recobertas por cutícula evidente (Fig. 5n-s); chama atenção a ausência de estômatos. A presença de cristais também é notada em elaióforos de *B. triopterifolia*, entretanto, parece ser característica da anatomia de todos os verticilos florais dessa espécie (Fig. 5r).

Discussão

Origem ontogenética dos elaióforos de Malpighiaceae

A vascularização e a ontogênese dos elaióforos em clados basais de Malpighiaceae corroboram a sua origem calicinal. Os elaióforos de todas as espécies aqui estudadas, bem como aqueles descritos na literatura, são vascularizados por traços laterais de sépala (Souto & Oliveira 2013; Mello 2017; Bonifácio *et al.*, 2021). Esses traços, por sua vez, originam-se diretamente a partir de traços medianos de sépala ou derivam de complexos vasculares que envolvem cálice e corola (espécies com complexos sépala-pétala) ou também o androceu (espécies com complexos sépala-pétala-estame antipétalo). O compartilhamento vascular entre dois ou mais verticilos e entre sépalas adjacentes, incluindo suas respectivas glândulas, é um padrão bem conhecido na família (Souto & Oliveira, 2013; A.C.M.P. Mello, R.F. Almeida, A.M.A. Amorim e D.M.T. Oliveira; Bonifácio *et al.*, 2021). Já a origem dos traços vasculares para os elaióforos a partir do traço mediano de sépala é primeiramente reportada neste trabalho e só foi observada em *Lophanthera longifolia*.

Pela filogenia mais recente, *Lophanthera* (que inclui as duas espécies do gênero aqui analisadas) aparece como um dos primeiros gêneros a divergir em Malpighiaceae (Davis & Anderson, 2010; Davis *et al.*, 2020a, 2020b) e dados preliminares de *next generation sequencing* apontam o gênero como o mais basal para a família (Davis & Amorim, com. pess.). Assim, é possível que a condição de *L. longifolia* seja plesiomórfica, uma vez que é mais simples que as demais e corrobora a origem das glândulas nas margens das sépalas, como demonstrado pela ontogênese dos elaióforos aqui analisados, ou seja apenas uma autapomorfia da espécie.

Por outro lado, os demais gêneros dos clados basais acmantheroide (Bonifácio *et al.*, 2021), byrsonimoide e galphimioide (com exceção de *L. longifolia*) exibem compartilhamento dos traços laterais de sépala entre sépalas adjacentes, o que também poderia ser indicativo de condição plesiomórfica. A descrição morfológica de elaióforos basalmente fusionados (Anderson *et al.*, 2006) nessas linhagens de Malpighiaceae também indica a conexão das sépalas. Além disso, os estágios iniciais da ontogênese dos elaióforos e o compartilhamento vascular entre sépalas adjacentes corroboram a presença vestigial de cálice gamossépalo (Bonifácio *et al.*, 2021). A ocorrência de cálice gamossépalo conecta Malpighiaceae a outras famílias de Malpighiales que também apresentam sépalas conatas entre si, como Caryocaraceae (Dickison, 1990; Matthews & Endress, 2011), Elatinaceae (Bonifácio *et al.*, capítulo 2 neste volume), Euphorbiaceae (De-Paula *et al.*, 2011) e Rhizophoraceae (Matthews & Endress, 2011) por exemplo.

Já a presença dos complexos vasculares, em estágio procambial durante o desenvolvimento floral, e a sua ocorrência em clados mais derivados (Souto & Oliveira, 2013; A.C.M.P. Mello, R.F. Almeida, A.M.A. Amorim e D.M.T. Oliveira) reflete o conservantismo floral de Malpighiaceae, já destacado por Anderson (1979) para a morfologia geral da flor e também se manifesta internamente nas flores. Também indica que a morfologia floral, incluindo os elaióforos, pode não ser tão lábil quanto a literatura vem sugerindo (Davis & Anderson, 2010; Davis *et al.*, 2014; Guesdon *et al.*, 2019). Essa informação reforça a clássica interpretação de que a vascularização é a parte mais conservada da flor (Henslow, 1888; Arber, 1913) e, portanto, o último sistema de tecidos a ser modificado (Puri, 1951).

O padrão de vascularização do cálice também permite inferir, a partir da distribuição dos traços laterais de sépala, a respeito da supressão dos elaióforos na família. A presença dos elaióforos está associada a traços basípetos originados a partir dos complexos e traços que irrigam as sépalas. Isso é observado em nas espécies nas quais as glândulas são vascularizadas basalmente a emissão de quaisquer traços, sendo evidente em *Galphimia australis*, *Byrsonima*

stipulacea (neste trabalho) e *Pterandra pyroidea* (Bonifácio *et al.*, 2021), espécies nas quais os traços basípetos, entre sépalas adjacentes, indicam a migração vascular para as glândulas, e ocorrem tanto nos morfos glandulares quanto eglandulares. Já em *G. brasiliensis*, por outro lado, os traços basípetos são ausentes, provavelmente porque a redução está em curso há mais tempo na história evolutiva dessa espécie e foi acompanhada pela redução dos traços. A análise vascular corrobora a hipótese de Castro *et al.* (2001), que sugeriram que a perda de glândulas em *G. brasiliensis* foi resultado de perda e não fusão. A redução dos elaióforos pode ser o evento anterior a supressão deles em algumas linhagens, e permite prever o seu desaparecimento em certas linhagens incluindo algumas espécies de *Byrsonima*.

De outro ponto de vista, em *Coleostachys genipifolia* (gênero monoespecífico com sépalas eglandulares) traços vasculares ocorrem na periferia receptacular proximalmente à emissão de traços (Bonifácio *et al.*, 2021), o que indicaria uma perda mais recente evolutivamente. Assim, o vestígio da vascularização das glândulas pode ser interpretado como um sinal filogenético. Esse tipo de sinal filogenético também é observado em grupos relacionados a Malpighiaceae, como em *Caryocar* (ver figuras 30 e 43 de Dickison, 1990). Esses traços podem, ainda, ter sua direção modificada, expressando-se acropetamente de acordo com a extensão da glândula, como em *Janusia*, *Mascagnia* e *Tetrapteryx* descritas por Souto & Oliveira (2013). Desse modo, considerando-se a existência de relação entre traços basípetos e elaióforos, registra-se mais uma evidência de que elaióforos constituem estruturas filogeneticamente bem estabelecidas e muito bem conservadas na evolução floral de Malpighiaceae.

Origem evolutiva dos elaióforos de Malpighiaceae

A Fig. 5 relaciona critérios de homologia entre NEFs, nectários sepalares e os elaióforos. As relações entre cada uma das glândulas representam similaridades baseadas nos critérios, os quais são fundamentados nos dados elencados neste trabalho e literatura pertinente sobre vascularização e ontogênese em outras espécies de Malpighiaceae e famílias de Malpighiales (discutidas ao longo do texto); descrições taxonômicas para tratar posição, e trabalhos de anatomia sobre o tema, que tratassem da estrutura e histoquímica.

A presença de tecido vascular irrigando NEFs e elaióforos é conhecida para Malpighiaceae e representa uma ligação entre esses dois tipos de glândulas, pois nectários costumam ser vascularizados por xilema e floema, assim como os elaióforos já estudados em representantes desta família (Araújo & Meira 2016; Possobom *et al.*, 2017). Entretanto, a literatura usualmente não trata da origem desses traços, isto é, a partir de quais órgãos eles

surtem. NEFs recebem traços dos órgãos vegetativos dos quais se originaram; se originados de folhas recebem traços foliares, por exemplo. Já nectários florais são irrigados por traços de peças dos verticilos florais, como nos elaióforos de Malpighiaceae os quais são vascularizados por traços de sépala, no caso de *Byrsonima* e *Galphimia* (neste trabalho). Caso presumivelmente semelhante aos nectários sepalares de outras famílias de Malpighiales, como *Caryocar brasiliense* A.St.-Hil. (Caryocaraceae, Matthews & Endress, 2011) e *Mabea* spp. (Euphorbiaceae, Almeida, 2015). Dessa forma, nectários sepalares e os elaióforos de Malpighiaceae têm a mesma origem: as sépalas.

Mesmo que informações de vascularização sejam desconhecidas para a maioria dos nectários sepalares, a posição é outro critério que pode ser adotado. Ela corrobora a homologia entre nectários sepalares e elaióforos, uma vez que nas duas situações constituem glândulas calicinais (Fig. 5).

Se considerarmos a ontogênese dos elaióforos nas duas linhagens basais aqui estudadas e os nectários foliares de *Banisteriopsis muricata* (Nery *et al.*, 2017), os dois têm origem a partir da protoderme e meristema fundamental. Porém, não conhecemos até o momento informações ontogenéticas sobre nectários sepalares em linhagens de Malpighiales, o que poderia esclarecer se essas glândulas compartilham desenvolvimento semelhante. No entanto, é possível que todos os nectários com estrutura parenquimática, tanto extraflorais quanto florais, compartilhem dos mesmos passos ontogenéticos, independentemente da família em que ocorrem, como os nectários foliares de *Hymenaea stigonocarpa* Hayne (Fabaceae) exibem as mesmas etapas de desenvolvimento (Paiva & Machado, 2006). A homologia entre NEFs e NFs ainda é uma questão não respondida, uma vez que as bases genéticas que regulam sua expressão não são bem entendidas (Weber & Keeler, 2013).

A organização estrutural é muito semelhante para NEFs e nectários sepalares em diversos grupos taxonômicos: parênquima vascularizado, envolto por epitélio secretor unisseriado, encerrado por cutícula (Matthews & Endress, 2011; Almeida, 2015; Araújo & Meira, 2016), o que verificamos ser similar para os elaióforos em Malpighiaceae. NEFs e elaióforos de *Diplopterys pubipetala*, inclusive, compartilham da mesma maquinaria celular de síntese, com citoplasma rico em mitocôndrias, retículo endoplasmático rugoso e liso, além de plastídios (Possobom *et al.*, 2015; 2017).

Cristais de oxalato são relatados para nectários, como nos NEFs de *Passiflora* spp. (Durkee, 1982). Nos elaióforos, a presença de cristais não é relatada na literatura e não foi observada diferença na sua distribuição nas espécies aqui estudadas, pois estavam amplamente distribuídos por todas as peças florais, p.ex. *Byrsonima triopterifolia*.

Sobre a secreção, dados histoquímicos relatam a presença de açúcares em elaióforos e lipídios em nectários. A presença de lipídios em NEFs de folhas de Malpighiaceae é relatada para diferentes gêneros, como *Galphimia* (Castro *et al.*, 2001), *Diplopterys* (Possobom *et al.*, 2010) e *Banisteriopsis* (Araújo & Meira, 2016). Nos elaióforos é relatada a presença de exsudatos mistos contendo lipídios, proteínas e polissacarídeos (Possobom *et al.*, 2015; Araújo & Meira, 2016; Possobom *et al.*, 2017; Possobom & Machado, 2018) ou lipídios e açúcar (Castro *et al.*, 2001). Em gêneros de Malpighiaceae distribuídos no Velho Mundo, onde não há abelhas coletoras de óleo, as glândulas calicinais constituem nectários sem quaisquer resquícios de substâncias lipídicas (Guesdon *et al.*, 2019). Merece destacar, portanto, que estes tipos glandulares apresentam toda a maquinaria de síntese tanto para óleos quanto para néctar. Não há, portanto, do ponto de vista anatômico ou de biologia da secreção, nenhum indicativo da impossibilidade de que elaióforos sejam precedidos por nectários extranupciais, como acreditamos ocorrer em Malpighiaceae.

É interessante que dados de relações ecológicas entre espécies de Malpighiaceae e formigas, relatam o aumento da taxa de frutificação por meio do patrulhamento desses insetos em botões florais de *Byrsonima crassifolia* (Fernandez *et al.*, 2005), gênero pertencente ao clado byrsonimoide caracterizado pela ausência de NEFs (assim como em galphimioide) (Anderson *et al.*, 2006). Nessa espécie, os autores descrevem que embora os elaióforos desempenhem função de atração de polinizadores, usualmente relatada para eles (Sazima & Sazima, 1989; Sigrist & Sazima, 2004), podem secretar substâncias que atraiam as formigas (Fernandez *et al.*, 2005), como a presença de glucose observada por Possobom *et al.* (2017) em *Byrsonima coccolobifolia* e *Banisteriopsis variabilis*. Certamente, dependendo do período fenológico da planta, há mudança nas concentrações dos compostos químicos da secreção, predominando açúcar, quando desempenharem função de defesa similar àquela dos nectários extranupciais e, por outro lado, predominando óleo quando exercerem função nupcial, atraindo agentes polinizadores. Análises histoquímicas que acompanhem as fases fenológicas dessas plantas podem ser reveladores e corroborarem ainda mais a origem dos elaióforos a partir de nectários sepalaes.

Dados sobre a natureza secretora, vascularização e desenvolvimento floral são escassos para as famílias e/ou para as espécies nas quais nectários sepalaes são descritos em Malpighiales (Tabela 2). Em Linaceae, as glândulas calicinais são vascularizadas a partir de traços laterais de sépala (Narayana & Rao, 1969) o que parece ser o caso de *Mabea* (Euphorbiaceae) (Almeida, 2015). Mesmo para *Caryocar* (Caryocaraceae), gênero em que há dados sobre a vascularização floral, não há registro dos traços que vascularizam as glândulas.

Entretanto, neste caso as glândulas calicinais são nectários sepalares, uma vez que a presença de néctar é relatada por trabalhos que tratam de relações ecológicas, como o patrulhamento por formigas (Oliveira, 1997, Oliveira & Freitas, 2004).

Se aplicarmos a ocorrência dos NEFs e nectários sepalares em um contexto filogenético de Malpighiales (Fig. 6) é possível entender que, por parcimônia, a relação mais proximal provavelmente está entre elaióforos e nectários sepalares. A presença de glândulas calicinais na face abaxial das sépalas é relatada para as seguintes famílias de Malpighiales: Euphorbiaceae (Radcliffe-Smith, 2001; Almeida, 2015; Farias *et al.*, 2019), Linaceae (Narayana & Rao, 1969), Passifloraceae (Knapp & Mallet, 1984; Bernacci *et al.*, 2008; Shivanna, 2012), Humiriaceae (Cuatrecasas, 1961; Wurdack & Zartman, 2019), Chrysobalanaceae (Prance & White, 1988; Asprino & Amorim, 2016), Caryocaraceae (Oliveira, 1988; Oliveira, 1997; Oliveira & Freitas, 2004; Matthews & Endress, 2011) e Elatinaceae (Niedenzu, 1925; Bonifácio *et al.*, capítulo 2 neste volume). Vestígios de estruturas secretoras também foram observados nas margens de sépalas de *Bergia perennis* e no ápice de sépalas de *Elatine gratioloides* (Bonifácio *et al.*, capítulo 2 neste volume). Dessa forma, a ocorrência de glândulas calicinais (sem especificar o tipo de secreção) abrange duas das três principais linhagens de Malpighiales, os clados 1 e 3 (Xi *et al.*, 2012).

Já a distribuição dos NEFs entre as Malpighiales acontece nos três clados da ordem (Xi *et al.*, 2012; Weber & Keeler, 2013; Weber *et al.*, 2015) (Fig. 7). A presença de nectários extraflorais em famílias de Malpighiales é muito bem conhecida (Durkee, 1982; Prance & White, 1988; Araújo *et al.*, 2010; Weber & Keeler, 2013, Weber *et al.* 2015, entre outros) e compreende cerca de um quarto de todos os nectários extraflorais descritos entre as angiospermas (Weber & Keeler, 2013). Dessa forma, tanto a presença dos nectários sepalares quanto dos nectários extraflorais podem ser apontados como plesiomórficos para Malpighiales (Fig. 7).

Para Vogel (1990), a presença abundante de nectários extraflorais em Malpighiaceae indica que eles são a estrutura “(...) plesiomórfica geral a partir da qual os elaióforos evoluíram” (p. 137). Desse modo, é recorrente considerar que os elaióforos e nectários extraflorais são homólogos (Anderson, 1990; Cocucci *et al.*, 1996, Castro *et al.*, 2001; Araújo & Meira, 2016; Guesdon *et al.*, 2019). Tal afirmativa tem sido corroborada pelos trabalhos envolvendo essas estruturas secretoras em Malpighiaceae. Já para linhagens paleotropicals, é conhecida a presença exclusiva de carboidratos na secreção, como *Hiptage benghalensis* (L.) Kurz (Ren *et al.*, 2013) e *Acridocarpus* (Guesdon *et al.*, 2019), constituindo nectários

sepalares. De acordo com Guesdon *et al.* (2019), a presença de carboidratos na secreção dos elaióforos indica uma relação entre eles e os nectários, corroborando a hipótese de homologia.

Contudo, se NEFs e nectários sepalares são plesiomórficos para todas as linhagens de Malpighiales, o evento de transição dos nectários de órgãos vegetativos para a flor ocorreu no ancestral comum para todas as linhagens da ordem. Portanto, os precursores dos elaióforos são os nectários sepalares.

Vale ressaltar que, filogeneticamente, nem todas as relações entre os clados de Malpighiales estão bem resolvidas, o que tem sido atrelado à rápida origem e diversificação do grupo durante o Cretáceo (Davis *et al.*, 2005; Xi *et al.*, 2012). Nesse mesmo período, já havia formigas forrageando árvores (Nelsen *et al.*, 2018) e sabe-se que a presença de NEFs pode, indiretamente, aumentar a taxa de diversificação nos clados em que ocorrem (Weber & Agrawal, 2014). Assim, trabalhos que enfoquem a evolução dos nectários florais (com função extranupcial) podem ser promissores para a ordem, mas são necessários estudos que revisem a distribuição, origem e tipo de secreção de glândulas calicinais em Malpighiales.

Conclusão

O uso de diferentes critérios de homologia, incluindo a vascularização e a ontogênese dos elaióforos de galphimioide e byrsonimoide (Malpighiaceae), comparados aos dados de literatura sobre nectários sepalares e nectários extraflorais de outras linhagens diversas de Malpighiales, nos permitiu concluir que a presença de NEFs e nectários sepalares é plesiomórfica para a ordem. Assim, a modificação dos NEFs para NFs possivelmente aconteceu em linhagens ancestrais de Malpighiales, muito antes do surgimento de Malpighiaceae. Desse modo, os elaióforos de Malpighiaceae provavelmente surgiram a partir dos nectários sepalares, e sua história evolutiva é muito mais antiga do que a literatura vem sugerindo.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. AMAA e DMTO agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de produtividade em pesquisa (processos 312404/2018-2 e 305686/2018-6, respectivamente). Os autores agradecem à curadoria do Herbário do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) pela doação das amostras utilizadas neste trabalho.

Referências

- Almeida AL. 2015. Nectários em inflorescência de *Mabea fistulifera* Mart. (Euphorbiaceae): anatomia e composição química do néctar. Dissertação, Universidade Federal de Viçosa.
- Almeida AL. 2020. Evolução dos nectários e inflorescências de *Mabea* Aubl. (Euphorbiaceae). Tese, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Almeida AL, Paiva EAS. 2019. Colleters in *Mabea fistulifera* Mart. (Euphorbiaceae): Anatomy and biology of the secretory process. *Flora* 258: 151439. - doi: 10.1016/j.flora.2019.151439
- Anderson WR. 1979. Floral conservatism in neotropical Malpighiaceae. *Biotropica* 11: 219–223. - doi: 10.2307/2388042
- Anderson WR. 1990. The Origin of the Malpighiaceae - The evidence from morphology. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 64: 210–224.
- Anderson WR, Anderson C, Davis CC. 2006. Malpighiaceae. Accessed 4 November 2021, from <http://herbarium.lsa.umich.edu/malpigh/index.html>
- Araújo JS, Azevedo AA, Silva LC, Meira RMSA. 2010. Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 16 species of Malpighiaceae found in the Cerrado area (Brazil). *Plant Systematics and Evolution* 286: 117–131. - doi: 10.1007/s00606-010-0268-3
- Araújo JS, Meira RMSA. 2016. Comparative anatomy of calyx and foliar glands of *Banisteriopsis* C.B. Rob. (Malpighiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 30: 112–123. - doi: 10.1590/0102-33062015abb0248
- Arber A. 1913. On the structure of the androecium in *Parnassia* and its bearing on the affinities of the genus. *Annals of Botany* 27: 491–510. - doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a089471
- Asprino R, Amorim AM. 2016. Flora da Bahia: *Hirtella* (Chrysobalanaceae). *Sitientibus série Ciências Biológicas* 16: 01–20. - doi: 10.13102/scb1099
- Bernacci LC, Soares-Scott MD, Junqueira NTV, Passos IRDS, Meletti LMM. 2008. *Passiflora edulis* Sims: The correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). *Revista Brasileira de Fruticultura* 30: 566–576. - doi: 10.1590/S0100-29452008000200053
- Bonifácio SKV, Almeida RF, Amorim AMA, Oliveira DMT 2021. Floral synorganization in acmantheroid clade suggests hypotheses to explain elaiophore suppression in Malpighiaceae. *Flora* 281: 151870. - doi: 10.1016/j.flora.2021.151870
- Caspary R. 1848. De nectariis. Adolphum Marcum. *Botanische Zeitung* 6: 628–630.
- Castro MA, Vega AS, Múlgura ME. 2001. Structure and ultrastructure of leaf and calyx

- glands in *Galphimia brasiliensis* (Malpighiaceae). *American Journal of Botany* 88: 1935–1944. - doi: 10.2307/3558420
- Cocucci AA, Holgado AM, Anton AM. 1996. Estudio morfológico y anatómico de los eleóforos pedicelados de *Dinemandra ericoides*, Malpigiácea endémica del desierto de Atacama, Chile. *Darwiniana* 34: 183–192.
- Cuatrecasas J. 1961. A taxonomic revision of the Humiriaceae. *Contributions from the United States National Herbarium* 35: 25–214.
- Davis CC, Anderson WR. 2010. A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *American Journal of Botany* 97: 2031–2048. - doi: 10.3732/ajb.1000146
- Davis CC, Marinho LC, Amorim AMA. 2020a. *Andersoniella*: a new genus of neotropical Malpighiaceae. *Harvard Papers in Botany* 25: 51–56. - doi: 10.3100/hpib.v25iss1.2020.n6
- Davis CC, Marinho LC, Amorim AM. 2020b. *Andersoniodoxa*, a replacement name for *Andersoniella* (Malpighiaceae). *Phytotaxa* 470: 121–122. - doi: 10.11646/phytotaxa.470.1.9
- Davis CC, Schaefer H, Xi Z, Baum DA, Donoghue MJ, Harmon LJ. 2014. Long-term morphological stasis maintained by a plant-pollinator mutualism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 5914–5919. - doi: 10.1073/pnas.1403157111
- Davis CC, Webb CO, Wurdack KJ, Jaramillo CA, Donoghue MJ. 2005. Explosive radiation of Malpighiales supports a mid-Cretaceous origin of modern tropical rain forests. *The American Naturalist* 165: E36–E65. - doi: 10.1086/428296
- Delpino F. 1886. Funzione mirmecofila nel regno vegetale. In: *Memoire della R. Accademia delle Scienze dell'Istituto di Bologna* 4: 215–392.
- De-Paula OC, Sajo M das G, Prenner G, Cordeiro I, Rudall PJ. 2011. Morphology, development and homologies of the perianth and floral nectaries in *Croton* and *Astraea* (Euphorbiaceae-Malpighiales). *Plant Systematics and Evolution* 292: 1–14. - doi: 10.1007/s00606-010-0388-9
- Dickison WC. 1990. A study of the floral morphology and anatomy of the Caryocaraceae. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 117: 123–137.
- Durkee LT. 1982. The floral and extra-floral nectaries of *Passiflora*. II. The Extra-Floral Nectary. *American Journal of Botany* 69: 1420–1428. - doi: 10.2307/2443103
- Farias SQ, Medeiros D, Riina. R 2019. A new species of dragon's blood *Croton*

- (Euphorbiaceae) from Serra dos Órgãos (Rio de Janeiro, Brazil). *PhytoKeys* 126: 13–24. - doi: 10.3897/phytokeys.126.35649
- Fernandez GW, Fagundes M, Greco MKB, Barbeitos MS, Santos JC. 2005. Ants and their effects on an insect herbivore community associated with the inflorescences of *Byrsonima crassifolia* (Linnaeus) H.B.K. (Malpighiaceae). *Revista Brasileira de Entomologia* 49: 264-269.
- Gagliardi KB, Cordeiro I, Demarco D. 2016. Protection and attraction: Bracts and secretory structures in reduced inflorescences of Malpighiales. *Flora* 220: 52–62. - doi: 10.1016/j.flora.2016.02.003
- Guesdon IR, Amorim AM, Meira RMSA. 2019. Functional role and evolutionary contributions of floral gland morphoanatomy in the Paleotropical genus *Acridocarpus* (Malpighiaceae). *PLoS ONE* 14: 1–20. - doi: 10.1371/journal.pone.0222561
- Henslow G. 1888. *The origin of floral structures through insect and other agencies*. – doi: 10.5962/bhl.title.24161
- Johansen DA. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, London, First Edit, pp. 530. - doi: 10.2307/3222557
- Knapp S, Mallet J. 1984. Two new species of *Passiflora* (Passifloraceae) from Panama, with comments on their natural history. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 71: 1068–1074. - doi: 10.2307/2399243
- Machado SR, Morellato LPC, Sajo MG, Oliveira OS. 2008. Morphological patterns of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian cerrado. *Plant Biology* 10: 660–673. - doi: 10.1111/j.1438-8677.2008.00068.x
- Matthews ML, Endress PK. 2011. Comparative floral structure and systematics in Rhizophoraceae, Erythroxylaceae and the potentially related Ctenolophonaceae, Linaceae, Irvingiaceae and Caryocaraceae (Malpighiales). *Botanical Journal of the Linnean Society* 166: 331–416. - doi: 10.1111/j.1095-8339.2011.01162.x
- Mello ACMP. 2017. Anatomia foliar e floral de *Amorimia* (Malpighiaceae) e suas aplicações filogenéticas. Dissertação, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Mello ACMP, Almeida RF, Amorim AMA, Oliveira DMT. 2019. Leaf structure in *Amorimia* and closely related Neotropical genera and implications for their systematics and leaf evolution in Malpighiaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 191: 102–127. - doi: 10.1093/botlinnean/boz028
- Narayana LL, Rao D. 1969. Contributions to the floral anatomy of Linaceae. *Journal of Japanese Botany* 44: 289–294.

- Nelsen MP, Ree RH, Moreau CS. 2018. Ant-plant interactions evolved through increasing interdependence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115: 12253–12258. - doi: 10.1073/pnas.1719794115
- Nery LA, Vieira MF, Ventrella MC. 2017. Leaf glands of *Banisteriopsis muricata* (Malpighiaceae): distribution, secretion composition, anatomy and relationship to visitors. *Acta Botanica Brasilica* 31: 459–467. - doi: 10.1590/0102-33062017abb0108
- Nieden zu F. 1925. Elatinaceae. In: *Die natürlichen Pflanzenfamilien* (A Engler, K Prantl eds). Leipzig: Engelmann, 2nd ed.
- O'Brien TP, Feder N, McCully ME. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368–373. - doi: 10.1007/BF01248568
- Oliveira PSMC. 1988. *Sobre a interação de formigas com pequi-do-cerrado, Caryocar brasiliense Camb. (Caryocaraceae): o significado ecológico de nectários extraflorais*. Tese, Universidade Estadual de Campinas.
- Oliveira OS. 1997. The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). *Functional Ecology* 11: 323–330. - doi: 10.1046/j.1365-2435.1997.00087.x
- Oliveira PS, Freitas AVL. 2004. Ant-plant-herbivore interactions in the neotropical Cerrado savanna. *Naturwissenschaften* 91: 557–570. - doi: 10.1007/s00114-004-0585-x
- Pace MR, Cunha Neto IL, Santos-Silva LNN, Melo-de-Pinna GFA, Acevedo-Rodríguez P, Almeida RF, Amorim AM, Angyalossy V. 2019. First report of laticifers in lianas of Malpighiaceae and their phylogenetic implications. *American Journal of Botany* 106: 1156–1172. - doi: 10.1002/ajb2.1350
- Paiva EAS, Machado SR. 2006. Ontogênese, anatomia e ultra-estrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae – Caesalpinioideae). *Acta Botanica Brasilica* 20: 471–482.
- Paiva EAS, Couy-Melo GA, Ballego-Campos I. 2021. Colleters, extrafloral nectaries, and resin glands protect buds and young leaves of *Ouratea castaneifolia* (DC.) Engl. (Ochnaceae). *Plants* 10: 1680. - doi: 10.3390/plants10081680
- Paiva EAS, Dötterl S, De-Paula OC, Schlindwein C, Souto LS, Vitarelli NC, da Silva CI, Mateus S, Alves-dos-Santos I, Oliveira DMT. 2019. Osmophores of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae): a particular structure of the androecium that releases an unusual scent. *Protoplasma* 256: 971–981. - doi: 10.1007/s00709-019-01356-4
- Paiva EAS, Pinho SZ de, Oliveira DMT. 2011. Large plant samples: how to process for GMA embedding? In: *Light microscopy: methods and protocols* (H Chiarini-Garcia, RCN

- Melo eds). New York, Springer/H, Vol. 689. - doi: 10.1007/978-1-60761-950-5
- Possobom CCF, Guimarães E, Machado SR. 2010. Leaf glands act as nectaries in *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae). *Plant Biology* 12: 863–870. - doi:10.1111/j.1438-8677.2009.00304.x
- Possobom CCF, Guimarães E, Machado SR. 2015. Structure and secretion mechanisms of floral glands in *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae), a neotropical species. *Flora* 211: 26–39. - doi: 10.1016/j.flora.2015.01.002
- Possobom CCF, Machado SR. 2017. Elaiophores in three Neotropical Malpighiaceae species: a comparative study. *Plant Systematics and Evolution* 304: 15–32. - doi: 10.1007/s00606-017-1443-6
- Prance GT, White F. 1988. The genera of Chrysobalanaceae: a study in practical and theoretical Taxonomy and its relevance to evolutionary biology. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 320: 1–184.
- Puri V. 1951. The role of floral anatomy in the solution of morphological problems. *The Botanical Review* 17: 471–553. - doi: 10.1007/BF02882536
- Radcliffe-Smith A. 2001. Genera *Euphorbiacearum*. Kew: Royal Botanic Gardens Kew.
- Ren M, Zhong Y, Song X. 2013. Mirror-image flowers without buzz pollination in the Asian endemic *Hiptage benghalensis* (Malpighiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 173: 764–774. - doi: https://doi.org/10.1111/boj.12101
- Rocha DI, Da Silva LC, Valente VMM, Francino DMT, Meira RMSA. 2009. Morphoanatomy and development of leaf secretory structures in *Passiflora amethystina* Mikan (Passifloraceae). *Australian Journal of Botany* 57: 619–626. - doi: 10.1071/BT09158
- Sazima M, Sazima I. 1989. Oil-Gathering Bees Visit Flowers of Eglandular Morphs of the Oil-Producing Malpighiaceae. *Botanica Acta* 102: 106–111.
- Shivanna KR. 2012. Reproductive assurance through unusual autogamy in the absence of pollinators in *Passiflora edulis* (passion fruit). *Current Science* 103: 1091–1096.
- Sigrist MR, Sazima M. 2004. Pollination and reproductive biology of twelve species of neotropical Malpighiaceae: stigma morphology and its implications for the breeding system. *Annals of Botany* 94: 33–41.
- Smith FH, Smith EC. 1942. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *American Journal of Botany* 29: 464–471. - doi: 10.2307/2437312
- Souto LS, Oliveira DMT. 2013. Evaluation of the floral vasculature of the *Janusia*, *Mascagnia* and *Tetrapteryx* species as a tool to explain the decrease of floral organs in

- Malpighiaceae. *Flora* 208: 351–359. - doi: 10.1016/j.flora.2013.05.002
- Subramanian RB, Arumugasamy K, Inamdar JA. 1990. Studies in the secretory glands of *Hiptage sericea* (Malpighiaceae). *Nordic Journal of Botany* 10: 57–62. - doi: 10.1111/j.1756-1051.1990.tb01753.x
- Vogel S. 1990. History of the Malpighiaceae pollination ecology. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 130–142.
- Weber MG, Agrawal AA. 2014. Defense mutualisms enhance plant diversification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 16442–16447. - doi: 10.1073/pnas.1413253111
- Weber MG, Keeler KH. 2013. The phylogenetic distribution of extrafloral nectaries in plants. *Annals of Botany* 111: 1251–1261. - doi: 10.1093/aob/mcs225
- Weber MG, Porturas LD, Keeler KH. 2015. World List of plants with extrafloral nectaries. Accessed 23 September 2021, from <http://www.extrafloralnectaries.org/>
- Wurdack KJ, Davis CC. 2009. Malpighiales phylogenetics: Gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life. *American Journal of Botany* 96: 1551–1570. - doi: 10.3732/ajb.0800207
- Wurdack KJ, Zartman CE. 2019. Insights on the systematics and morphology of Humiriaceae (Malpighiales): androecial and extrafloral nectary variation, two new combinations, and a new *Sacoglottis* from Guyana. *PhytoKeys* 124: 87–121. - doi: 10.3897/phytokeys.124.34679
- Xi Z, Ruhfel BR, Schaefer H, Amorim AM, Sugumaran M, Wurdack KJ, Endress PK, Matthews ML, Stevens PF, Mathews S, Davis CC. 2012. Phylogenomics and a posteriori data partitioning resolve the Cretaceous angiosperm radiation Malpighiales. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109: 17519–17524. - doi: 10.1073/pnas.1205818109

Tabela 1: Amostras dos representantes de galphimioide e byrsonimoide utilizados nesse trabalho. EG cálice eglandular, GL cálice glandular.

Clado	Espécie	Voucher	Amostras	Localidade	Condição glandular do cálice
galphimioide	<i>Galphimia australis</i> Chodat	Vasco 20495	Herborizado	Minas Gerais, Brasil	EG
		Queiroz 12643	Herborizado	Rio Grande do Sul, Brasil	EG
		Poliquesi 495	Herborizado	Santa Catarina, Brasil	EG
		Irwin 26193	Herborizado	Minas Gerais, Brasil	GL
		Rezende 2182	Herborizado	Minas Gerais, Brasil	GL
	<i>Galphimia brasiliensis</i> A.Juss.	Cardoso 916	Herborizado	Bahia, Brasil	EG
		Santos 3070	Herborizado	Bahia, Brasil	EG
		Bastos 162	Herborizado	Bahia, Brasil	EG
	<i>Lophanthera longifolia</i> (Kunth) Griseb.	Fraga 3014	Herborizado	Pará, Brasil	GL
	<i>Lophanthera longifolia</i> (Kunth) Griseb.	Santos 23	Herborizado	Amazonas, Brasil	GL
	<i>Lophanthera lactescens</i> Ducke	Bonifácio 30	Fixado	Minas Gerais, Brasil	GL
	<i>Spachea elegans</i> A.Juss.	Martinelli 17422	Herborizado	Roraima, Brasil	GL
	<i>Verrucularia glaucophylla</i> Juss.	Amorim et al. 10944	Fixado	Bahia, Brasil	GL
		Amorim et al. 10947	Fixado	Bahia, Brasil	GL

		Amorim et al. 10948	Fixado	Bahia, Brasil	GL
byrsonimoide	<i>Byrsonima stipulacea</i> A.Juss.	Amorim et al. 3355	Herborizado	Espírito Santo, Brasil	EG
		D. Sucre 8353	Herborizado	Espírito Santo, Brasil	EG
		Jardim et al. 4327	Herborizado	Bahia, Brasil	EG
		V. Demuner et al. 3622	Herborizado	Espírito Santo, Brasil	GL
		Folli, D.A. s.n.	Herborizado	Espírito Santo, Brasil	GL
		Kollmann et al. 2536	Herborizado	Espírito Santo, Brasil	GL
	<i>Byrsonima triopterifolia</i> A.Juss.	Amorim 10797	Fixado	Bahia, Brasil	GL
		Amorim. 10798	Fixado	Bahia, Brasil	GL
		Amorim. 10799	Fixado	Bahia, Brasil	GL
	<i>Blepharandra hypoleuca</i> Griseb.	Martinelli 17280	Herborizado	Amazonas, Brasil	GL
		Forzza 6559	Herborizado	Amazonas, Brasil	GL
	<i>Diacidia aracaensis</i> W.R.Anderson	Forzza 6561	Herborizado	Amazonas, Brasil	GL
		Amorim 8617	Herborizado	Amazonas, Brasil	GL

Tabela 2: Ocorrência de glândulas semelhantes a nectários em sépalas de Malpighiales.

Família	Espécies	Evidência de nectário?	Posição	Glândulas presentes em todas as sépalas	Posição no órgão	Número de nectários por órgão	Origem ontogenética?	Origem do traço que vasculariza (se presente)	Literatura
Euphorbiaceae	<i>Mabea fistulifera</i> ¹ ; <i>Croton echinocarpus</i> e <i>Croton urucurana</i> ² , <i>Croton rizzinii</i> ³	Sim (histoquímica) para <i>Mabea</i>	Externa às sépalas (face abaxial) ou alternando a elas	Sim	Margem, região mediana	1 a vários	?	Traços laterais de sépala em <i>Mabea</i> (presumivelmente)	¹ Almeida, 2015; ² Feio et al., 2016; ³ Farias et al., 2019
Linaceae	<i>Acioa edulis</i>	?	Externo às sépalas	Em 3 das 5 sépalas (as internas não apresentam)	Margem da sépala	Vários	?	Traços laterais de sépala	Narayana & Rao, 1969
Passifloraceae	<i>Passiflora macdougaliana</i> ¹ ; <i>P. edulis</i> ^{2,3}	Formigas visitando	Face abaxial da sépala	Em 3 ou em todas	Margem de toda a sépala	1 ou 2	?	?	¹ Knapp & Mallet, 1984; ² Bernacci et al., 2008; ³ Shivanna, 2012.
Humiriaceae	<i>Sacoglottis amazonica</i> ^{1,2}	?	Face abaxial da sépala	Sim	Margem ou ápice de toda a sépala	Vários	?	?	¹ Cuatrecasas, 1961; ² Wurdack & Zartman, 2019
Chrysobalanaceae	<i>Dactyladenaea</i> ¹ <i>Hirtella</i> ²		Face abaxial da sépala		Marginal ou mediana	1?	?	?	¹ Prance & White, 1988; ² Asprino & Amorim, 2016
Elatinaceae	<i>Bergia perennis</i> ; <i>Elatine gratioloides</i>	?	Não se aplica	Sim	Margem ou ápice	1 ou 2	?	Não se aplica (não é vascularizado)	Bonifácio et al., capítulo 2 neste volume
Caryocaraceae	<i>Caryocar brasiliense</i> ^{1,2,3,4}	Sim	Face abaxial da sépala	?	Região mediana	1	?	?	¹ Oliveira 1988; ² Oliveira e Freitas, 2004; ³ Machado et al., 2008; ⁴ Matthews & Endress, 2011.

Figuras

Fig. 1 Vascularização floral de *Galphimia australis* (a-d) e *Verrucularia glaucophylla* (e-h). As cores representam: complexos sépala-pétala (rosa), elaióforos (azul escuro), traços de estame (amarelo), traços de pétala (verde), traços de sépala (vermelho), e cilindro vascular (preto). Círculos vermelhos representam traços basípetos, delineados em vermelho delimitam uma sépala e os tracejados em preto indicam a altura aproximada das secções. (a) Diagrama de botão floral em secção longitudinal evidenciando a vascularização dos elaióforos; note que os elaióforos só se estendem na região oposta a pétala. (b-c) Diagramas do receptáculo evidenciando a emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala. (d) Fotomicrografia de secção transversal do botão floral evidenciando o elaióforo entre duas sépalas adjacentes na região acima da emissão dos traços laterais. (e) Diagrama de botão floral em secção longitudinal evidenciando a vascularização dos elaióforos. (f-g) Diagramas do receptáculo evidenciando a emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala; note os traços basípetos na margem da sépala em g. (h) Fotomicrografia de secção transversal do botão floral evidenciando dois elaióforos entre duas sépalas adjacentes na região acima da emissão dos traços laterais. *ponta de seta* traço basípeto, *el* elaióforo, *pt* traço de pétala, *sl* traço lateral de sépala, *tt* traço de estame antipétalo. Barras de escala = 200µm.

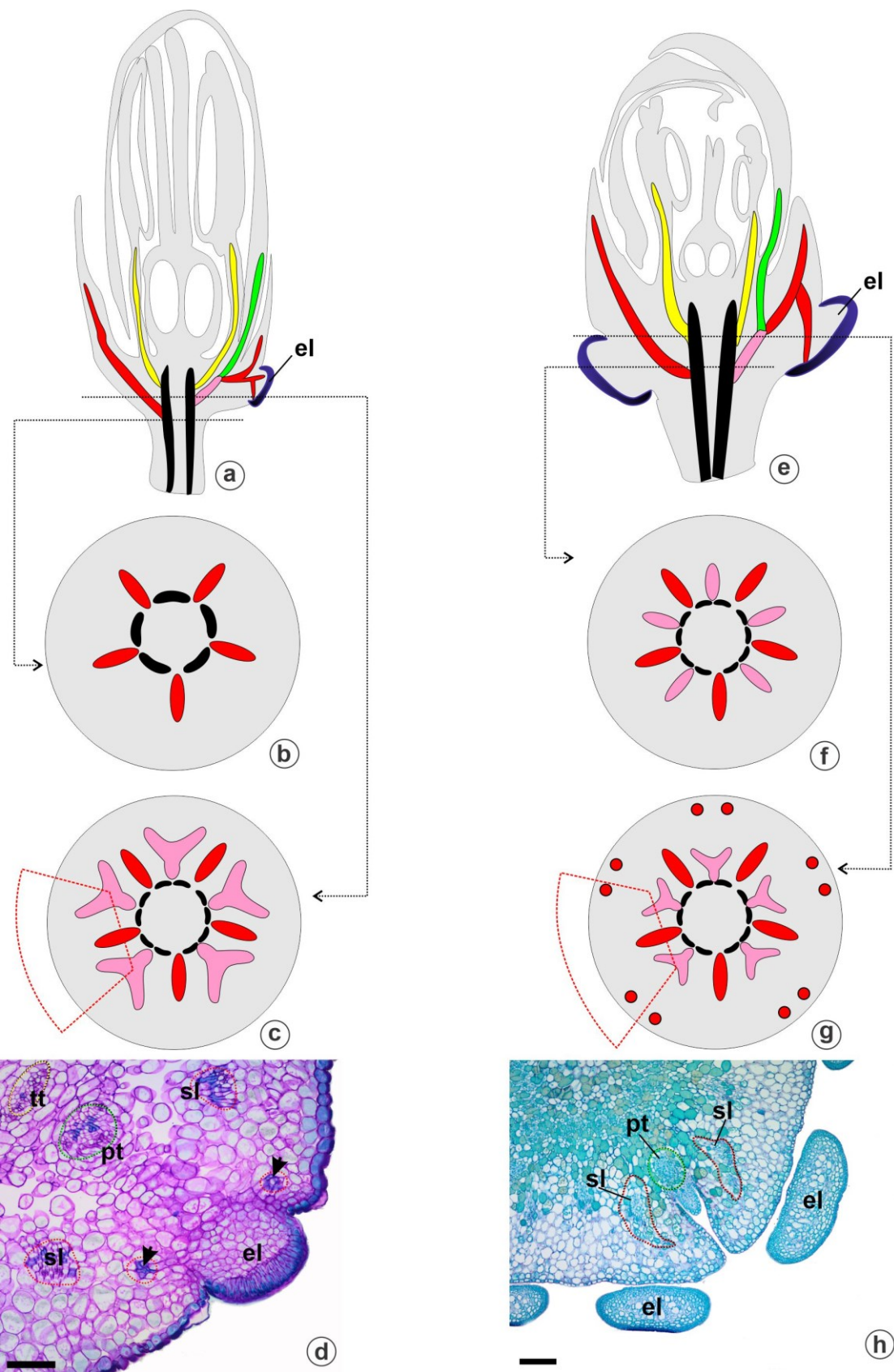


Fig. 2 Vascularização floral de *Spachea elegans*. As cores representam: complexos sépala-pétala-estame antipétalo (azul claro), elaióforos (azul escuro), traços de estame (amarelo), traços de pétala (verde), traços de sépala (vermelho), e cilindro vascular (preto). Círculos vermelhos representam traços basípetos, delineados em vermelho delimitam uma sépala e os tracejados em preto indicam a altura aproximada das secções. (a) Diagrama de botão floral em secção longitudinal evidenciando a vascularização dos elaióforos. (b-c) Diagrama do receptáculo evidenciando a emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala-estame antipétalo; note os traços basípetos na margem da sépala em *c*. (d) Fotomicrografia de secção transversal do botão floral os elaióforos na altura da ramificação dos complexos; note que um dos elaióforos adjacentes a sépala anterior recebe dois traços laterais vindos do complexo sépala-pétala-estame antipétalo (retângulo). *as* sépala anterior, *el* elaióforo, *pt* traço de pétala, *ss* complexo sépala-pétala-estame antipétalo, *st* traço mediano de sépala, *tt* traço de estame antipétalo. Barra de escala = 200µm.

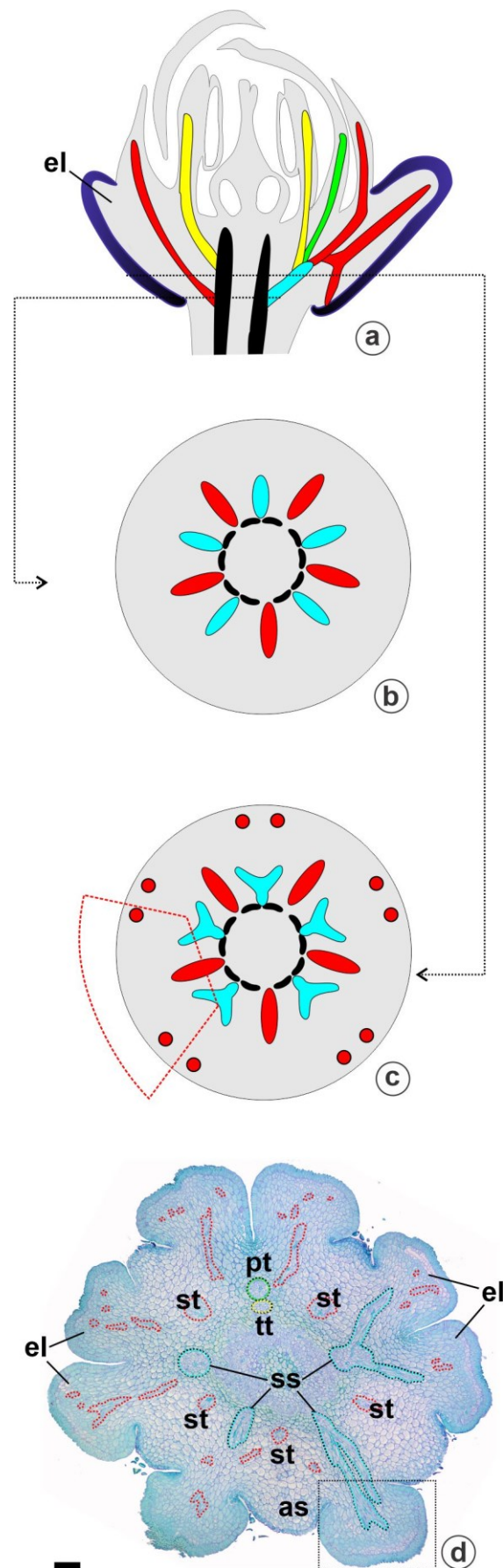


Fig. 3 Vascularização floral de *Lophanthera longifolia*. As cores representam: complexos sépala-pétala-estame antipétalo (azul claro), elaióforos (azul escuro), traços de estame (amarelo), traços de pétala (verde), traços de sépala (vermelho), e cilindro vascular (preto). Círculos vermelhos representam traços basípetos, delineados em vermelho delimitam uma sépala e os tracejados em preto indicam a altura aproximada das secções. (a) Diagrama de botão floral em secção longitudinal evidenciando a vascularização dos elaióforos. (b) Fotomicrografia de secção transversal do botão floral na região distal do receptáculo; note que os elaióforos são irrigados pela vascularização periférica do receptáculo. (c) Diagrama do receptáculo evidenciando a emissão dos traços medianos de sépala e complexo sépala-pétala-estame antipétalo; note que há apenas um complexo vascular que emite apenas um traço lateral de sépala, enquanto nas demais sépalas os traços laterais vêm dos traços medianos de sépala. (d) Fotomicrografia de secção transversal do botão floral evidenciando a ramificação dos traços medianos de sépala. *el* elaióforo, *et* estame antissépalo, *pt* traço de pétala, *st* traço mediano de sépala, *ss* complexo sépala-pétala-estame antipétalo, *tp* complexo pétala-estame antipétalo, *tt* traço de estame antipétalo. Barras de escala = 200µm.

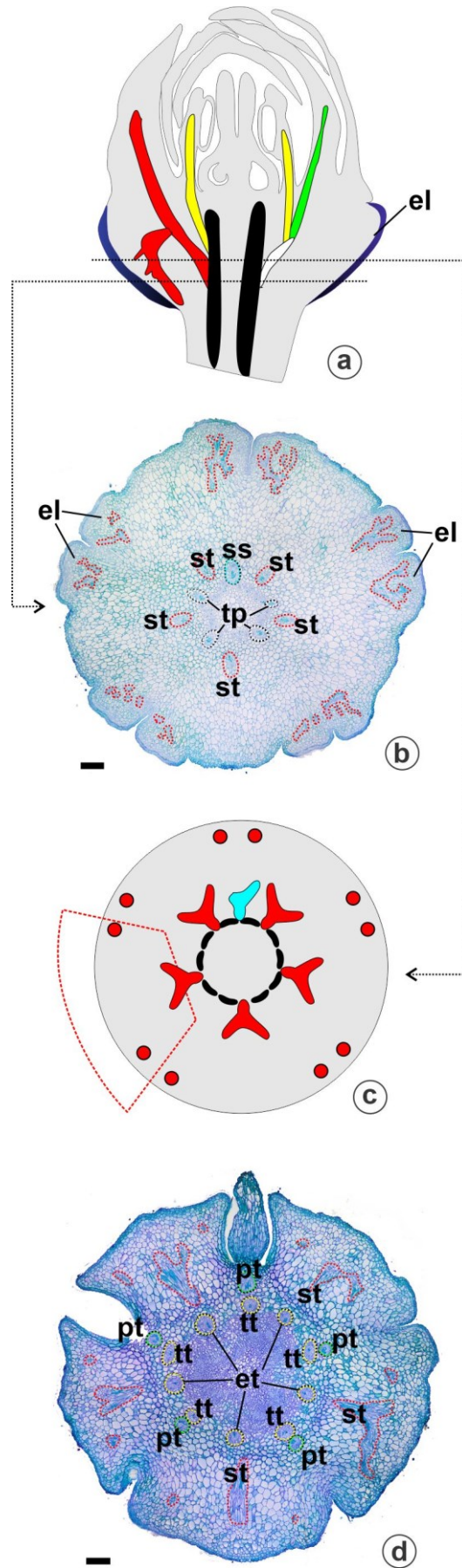


Fig. 4 Vascularização floral de *Diacidia aracaensis*. As cores representam: complexos sépala-pétala (rosa), elaióforos (azul escuro), traços de estame (amarelo), traços de pétala (verde), traços de sépala (vermelho), e cilindro vascular (preto). Círculos vermelhos representam traços basípetos, delineados em vermelho delimitam uma sépala e os tracejados em preto indicam a altura aproximada das secções. (a) Diagrama de botão floral em secção longitudinal evidenciando a vascularização dos elaióforos. (b-c) Diagramas do receptáculo evidenciando a emissão dos traços medianos de sépala modificados em complexos sépala-pétala; note que não são emitidos quaisquer traços nas regiões entre sépalas. (d) Fotomicrografia de secção transversal do botão floral evidenciando a ramificação dos complexos sépala-pétala; note a separação de um traço de pétala a partir do complexo. *el* elaióforo, *pt* traço de pétala, *sl* traço lateral de sépala, *sp* traço mediano de sépala modificado em complexo sépala-pétala. Barra de escala = 200µm.

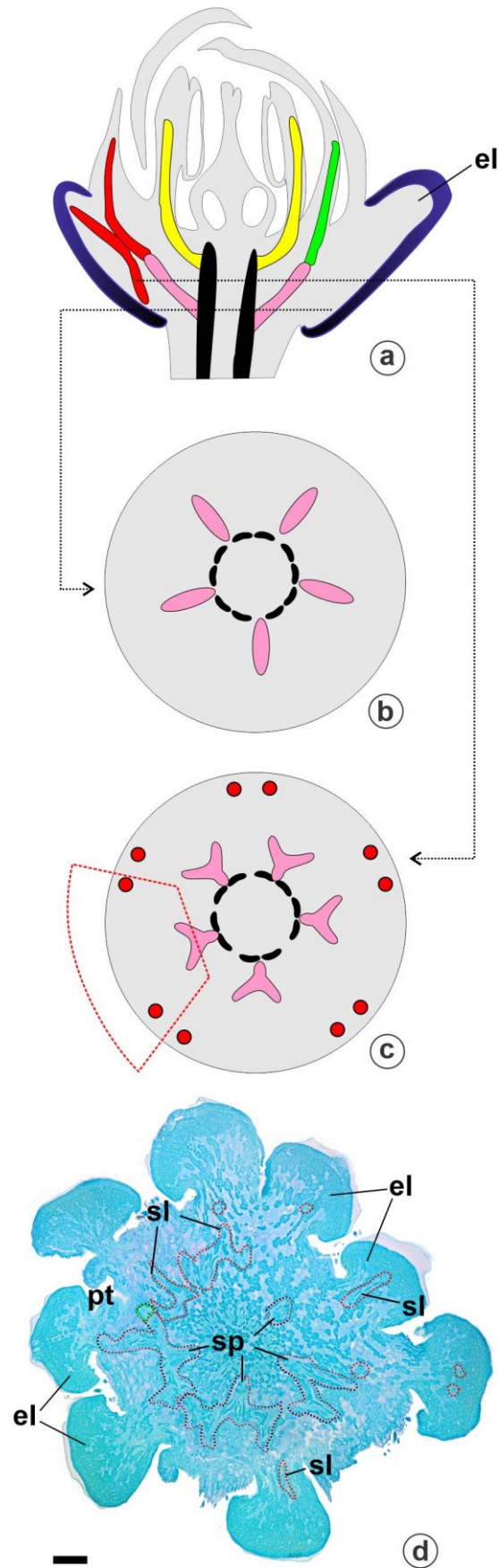


Fig. 5 Ontogênese dos elaióforos de *Lophanthera lactescens* (A, C, F, K, N-O), *Verrucularia glaucophylla* (B, D, G, L, P-Q) e *Byrsonima triopterifolia* (E, H-J, M, R-S). Secções longitudinais (A-B, N, P, R) e transversais (C-M, O, Q, S). Tracejados vermelhos indicam tecido procambial e elipses em preto os primórdios glandulares. (A-B) Vista geral de botões florais jovens com a localização dos primórdios glandulares. (C-I) Estágios iniciais da ontogênese das glândulas de sépalas adjacentes durante o desenvolvimento floral; notar posição marginal das glândulas em I. (J-M) Fase de expansão dos elaióforos. (N-S) Fase final da maturação das glândulas; observar cutícula recobrendo epiderme em paliçada. *setas* divisões celulares, *br* bractéola, *cr* cristais, *ct* cutícula, *el* elaióforo, *ep* epiderme, *gm* meristema fundamental, *pa* parênquima subglandular, *pe* pétala, *pr* protoderme, *se* sépala. Barras de escala = 20µm (G-I, L, S), 50µm (F, K, M, O, Q), 100µm (A-E, J) e 200µm (N, P, R).

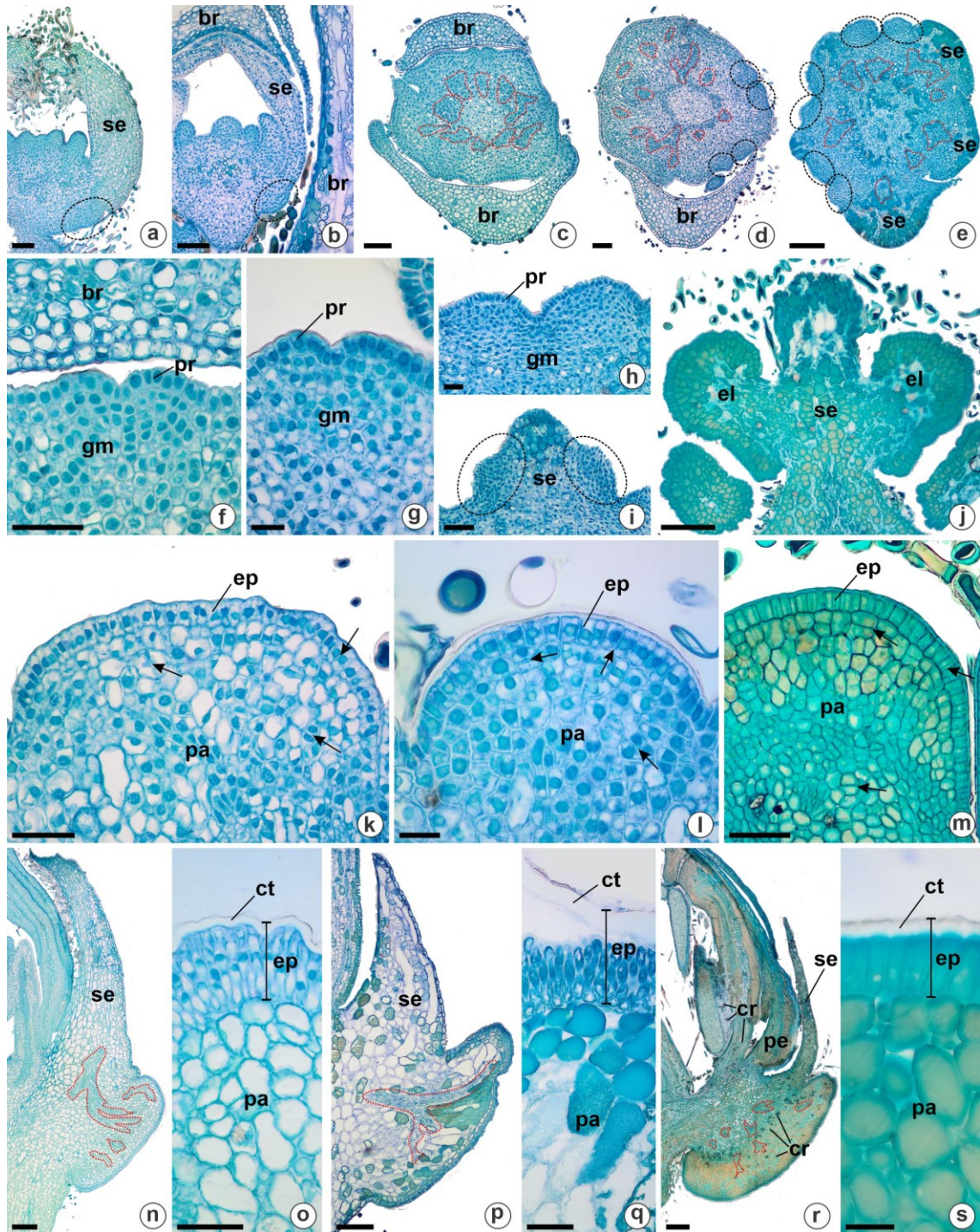


Fig. 6 Relações de similaridade (tracejados) entre nectários extraflorais, nectários sepalares e elaióforos em Malpighiales como critérios de homologia: vascularização (1), ontogênese (2), posição (3), anatomia (4) e histoquímica (5). Note pelas chaves que nectários sepalares e elaióforos são subtipos de glândulas calicinais e que majoritariamente (asteriscos) desempenham função nupcial, enquanto na maioria dos casos nectários extraflorais são extranupciais, embora nectários sepalares também o possam ser. As ilustrações abaixo representam as relações evolutivas possíveis entre nectários extraflorais, nectários sepalares e elaióforos.

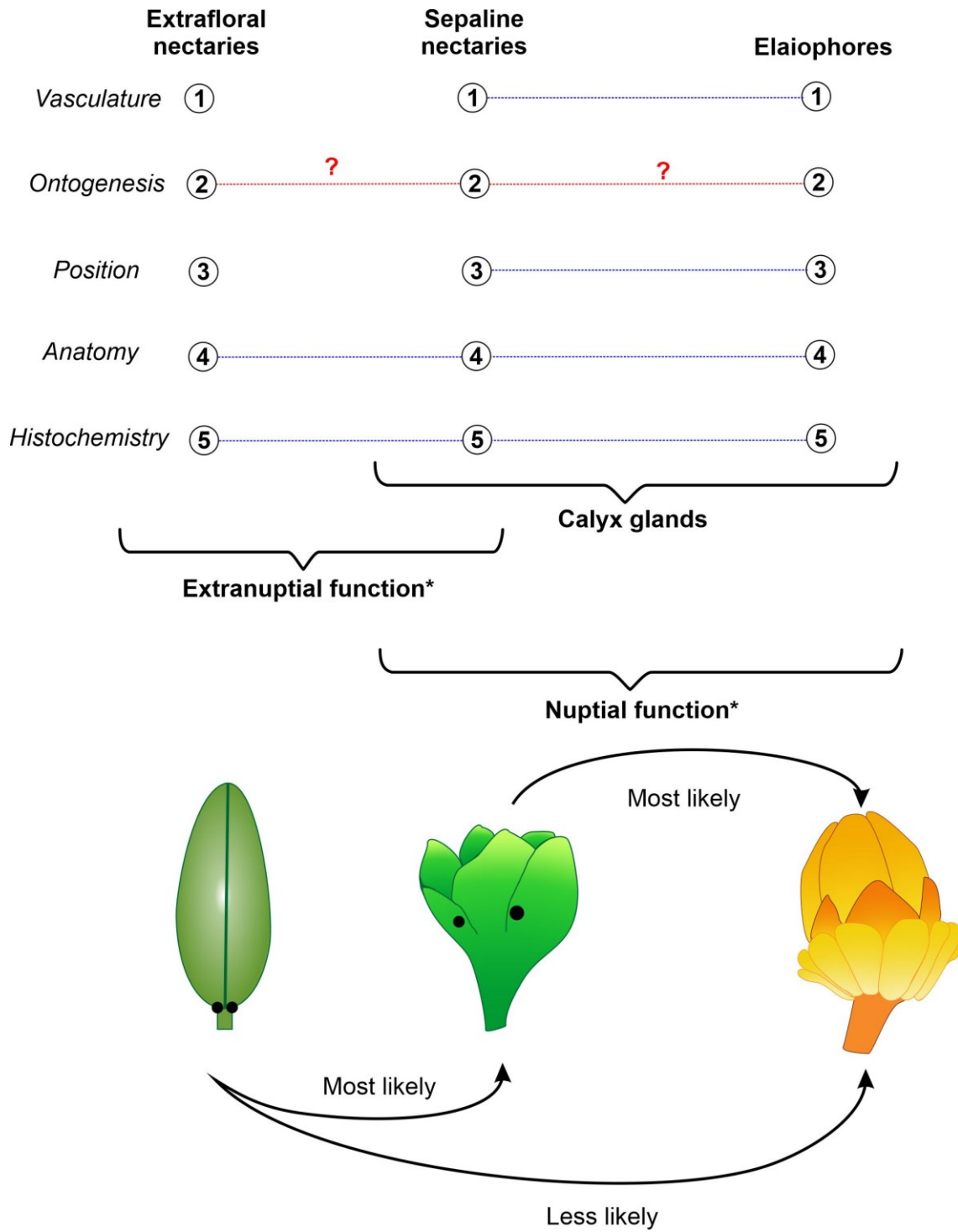
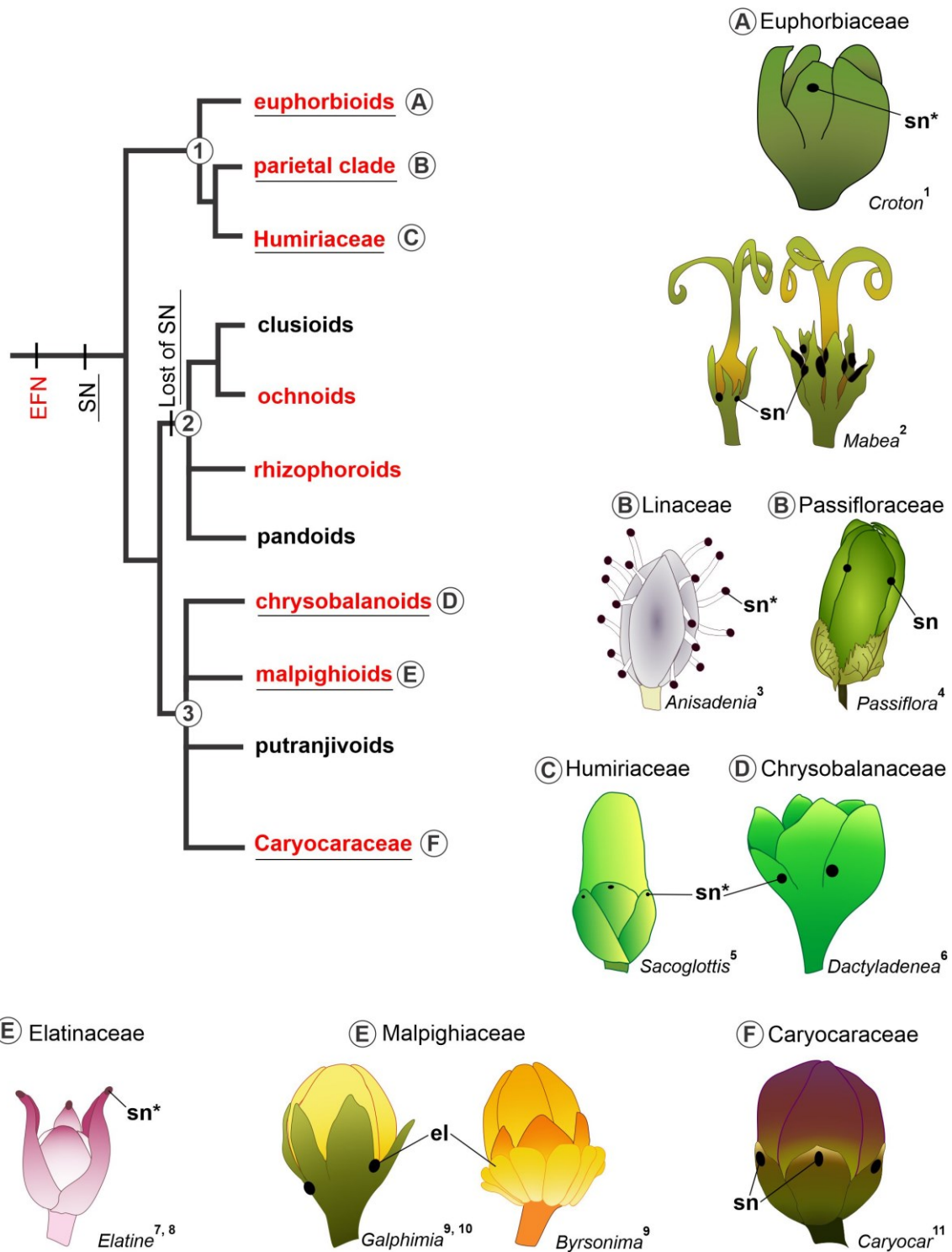


Fig. 7 Distribuição dos nectários extraflorais (grifos em vermelho) e nectários sepalaes em famílias de Malpighiales (sublinhado), apresentada em topologia baseada em Xi et al. (2012). As letras maiúsculas indicam os subclados das respectivas famílias e as ilustrações. Para nectários extraflorais foram consideradas apenas aqueles dispostos em órgãos vegetativos e segue as informações de Weber et al. (2015). Note que nectários sepalaes não são descritos para o clado 2. Números sobrescritos aos gêneros cujas flores estão ilustradas correspondem à fonte dos dados: ¹ Feio et al. (2016); ² Almeida (2020); ³ Narayana e Rao (1969); ⁴ Knapp e Mallet (1984); ⁵ Wurdack e Zartman (2019); ⁶ Prance e White (1988); ⁷ Niedenzu (1925); ⁸ Bonifácio et al. (neste volume, capítulo 2); ⁹ Castro et al. (2001); ¹⁰ Este trabalho; ¹¹ Oliveira (1988). EFN nectário extrafloral, sn nectário sepalar, sn* nectário sepalar sem confirmação de testes histoquímicos. As cores são fantasia.

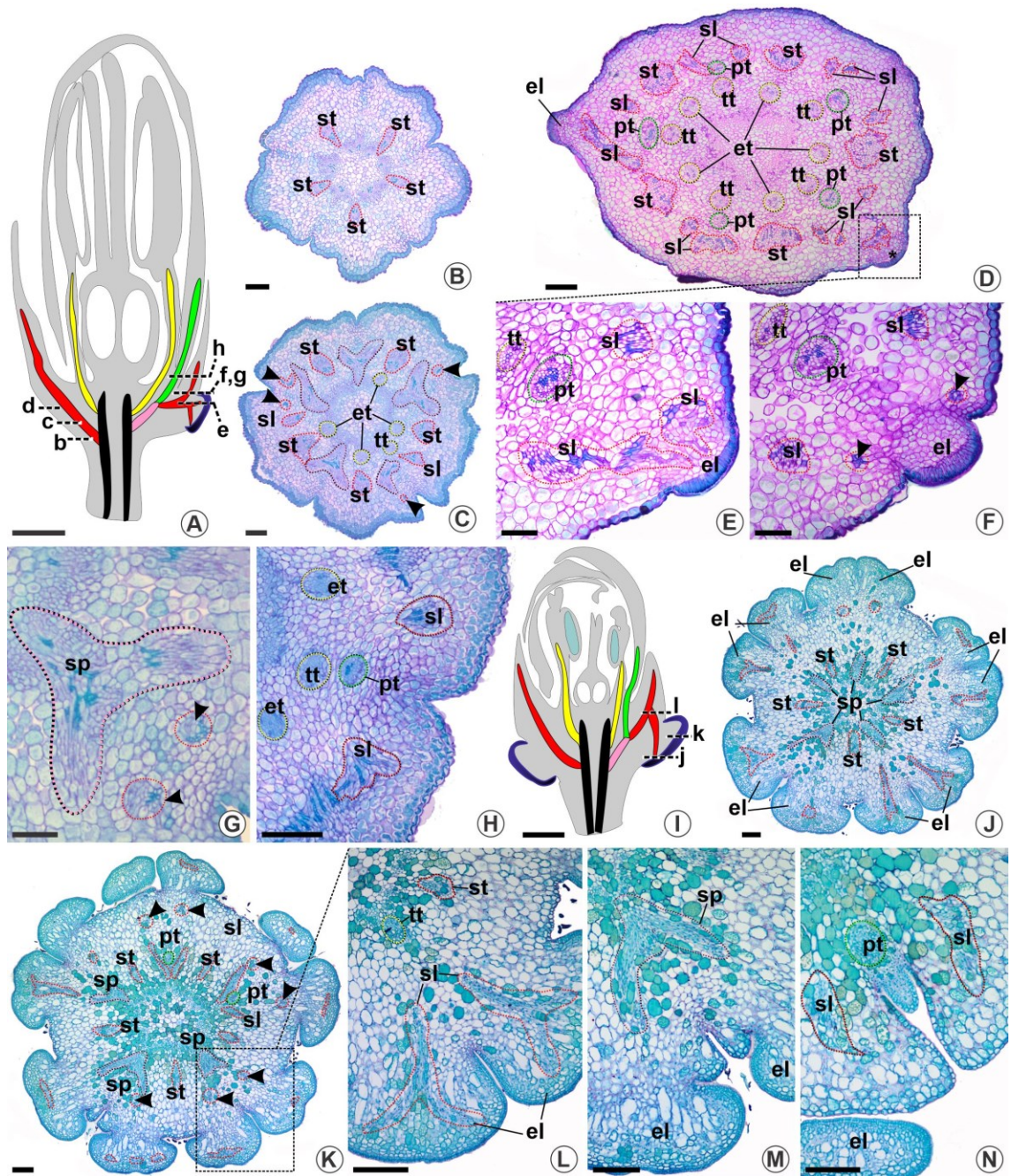


MATERIAL SUPLEMENTAR

Vascularização do cálice envolvendo a emissão de complexos sépala-pétala nas espécies *Galphimia australis*, *G. brasiliensis* e *Verrucularia glaucophylla*, do clado galphimioide.

(Figura na página seguinte)

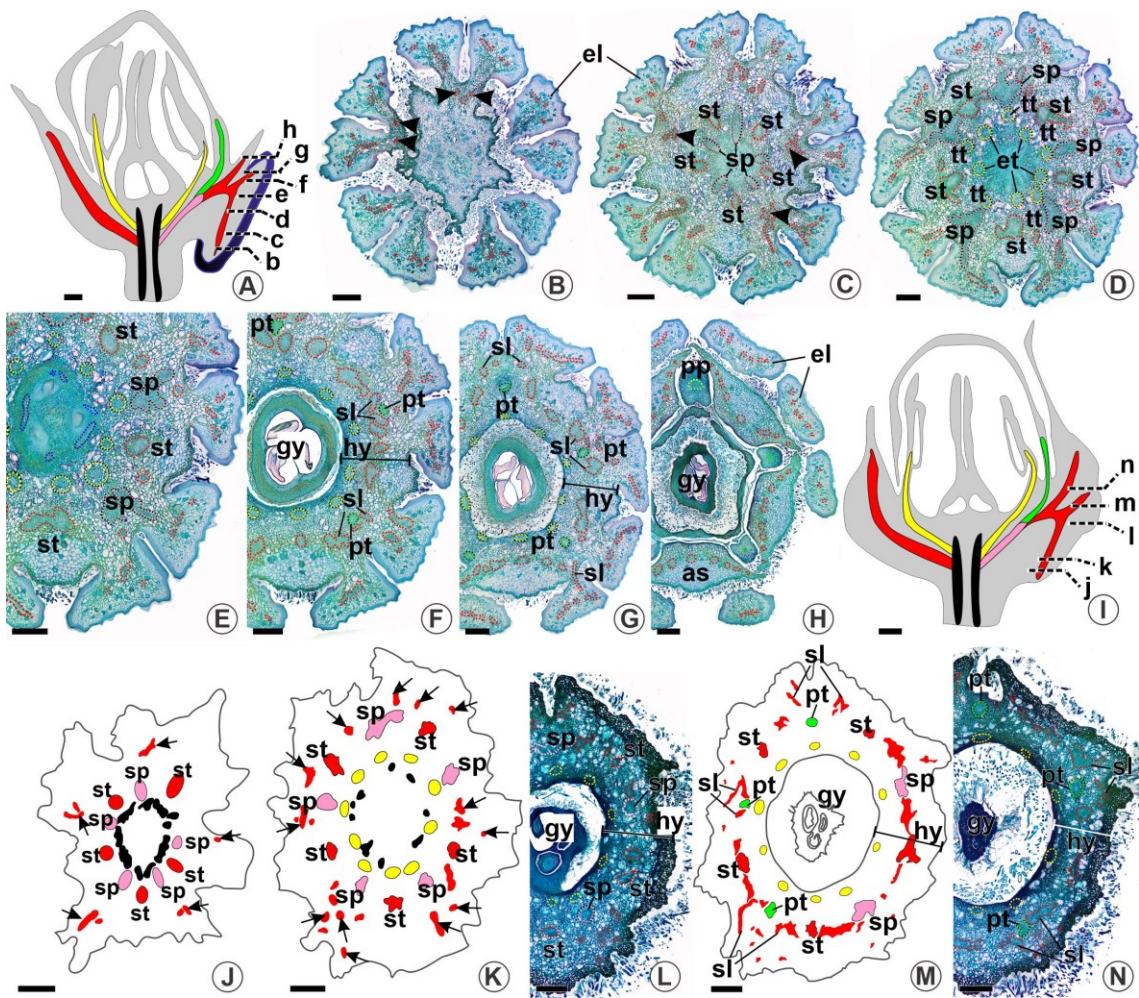
Fig. S1 Padrão de vascularização floral de *Galphimia australis* (A-G), *G. brasiliensis* (H) e *Verrucularia glaucophylla* (I-N). As cores representam: traços de sépala (vermelho), traços de pétala (verde), traços de estame (amarelo), complexos sépala-pétala (rosa), glândulas calicinais (azul escuro) e cilindro vascular (preto). (A, I) Diagramas de botões florais em secção longitudinal evidenciando a vascularização das glândulas calicinais; as letras acompanhadas dos tracejados indicam as alturas nas quais as respectivas figuras foram obtidas. (B-H, J-N) Fotomicrografias de secções transversais do botão floral em diferentes alturas. (B-H) Sequência da emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala; cada complexo sépala-pétala após emitido, ramifica-se e origina internamente o traço de pétala e lateralmente dois traços laterais de sépala, que irrigam as glândulas; em E, observar os traços laterais de sépalas adjacentes irrigando a mesma glândula e, em F-G, notar a presença de traços basípetos nos morfos glandular e eglandular de *G. australis* (ponta de seta), respectivamente. (J-N) Sequência da emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala; em K, notar a presença de traços basípetos (ponta de seta) e, em L, observar que cada traço lateral de sépala irriga a glândula correspondente daquela sépala. et traço de estame antissépalo, gl glândula, pt traço de pétala, sl traço lateral de sépala, sp complexo sépala-pétala, st traço mediano de sépala, tt traço de estame antipétalo. Barras de escala = 200µm.



Vascularização do cálice envolvendo a emissão de complexos sépala-pétala na espécie *Byrsonima stipulacea*, do clado byrsonimoide.

(Figura na página seguinte)

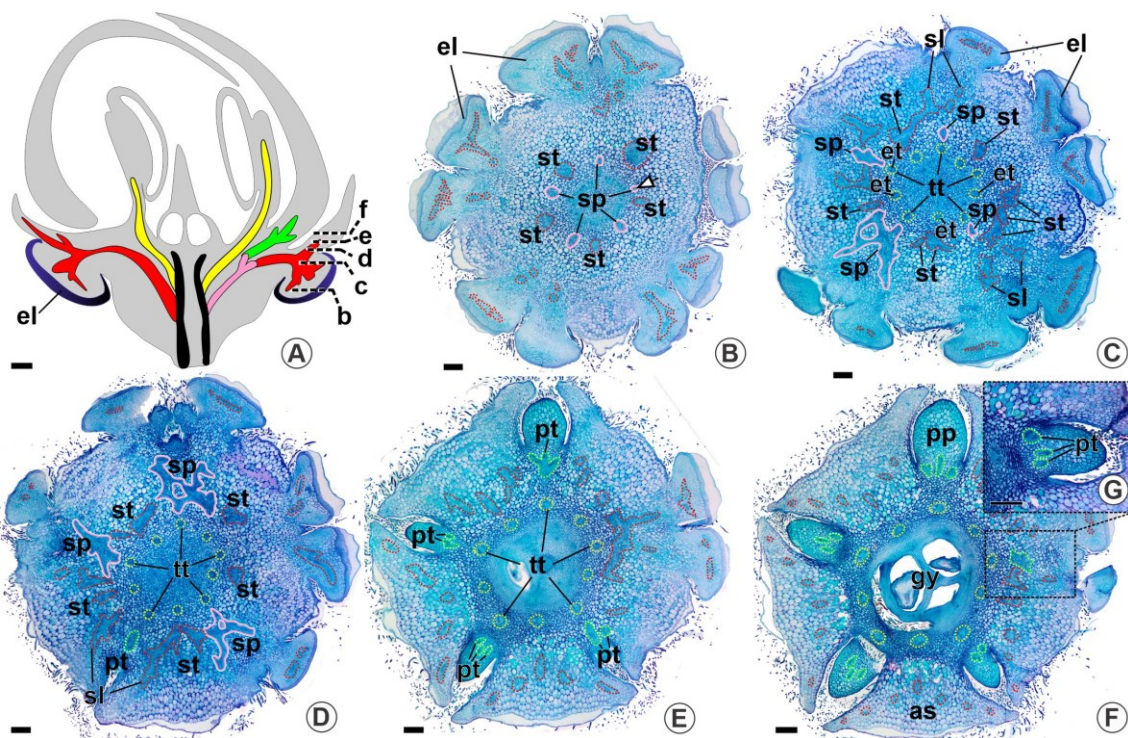
Fig. S2 Padrão da vascularização floral de *Byrsonima stipulacea* em seus morfos glandular (A-H) e eglandular (I-N). As cores representam: traços de sépala (vermelho), traços de pétala (verde), traços de estame (amarelo), complexos sépala-pétala (rosa), glândulas calicinais (azul escuro) e cilindro vascular (preto). (A, I) Diagramas de botões florais em secção longitudinal evidenciando a vascularização das glândulas calicinais (em azul escuro) e, na ausência delas, do receptáculo; as letras acompanhadas dos tracejados indicam as alturas nas quais as respectivas figuras foram obtidas. (B-H, L, N) Fotomicrografias de secções transversais do botão floral em diferentes alturas. (J-K, M) Diagramas de secções transversais ilustrando a vascularização. (B-H) Sequência da emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala; cada complexo sépala-pétala é emitido e se ramifica na periferia do receptáculo; a partir de E, observar os traços laterais de sépala irrigando as glândulas e, em F-G, notar a presença de hipanto. (J-N) Sequência da emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala no morfo eglandular; observar que, mesmo na ausência das glândulas (setas), a periferia do receptáculo é vascularizada e, em M-N, notar a presença do hipanto. pontos de seta traços basípetos, et traço de estame antissépalo, gl glândula, gy gineceu, hy hipanto, pp pétala posterior, pt traço de pétala, sl traço lateral de sépala, sp complexo sépala-pétala, st traço mediano de sépala, tt traço de estame antipétalo. Barras de escala = 400µm.



Vascularização do cálice envolvendo a emissão de complexos sépala-pétala na espécie *Blepharandra hypoleuca*, do clado byrsonimoide.

(Figura na página seguinte)

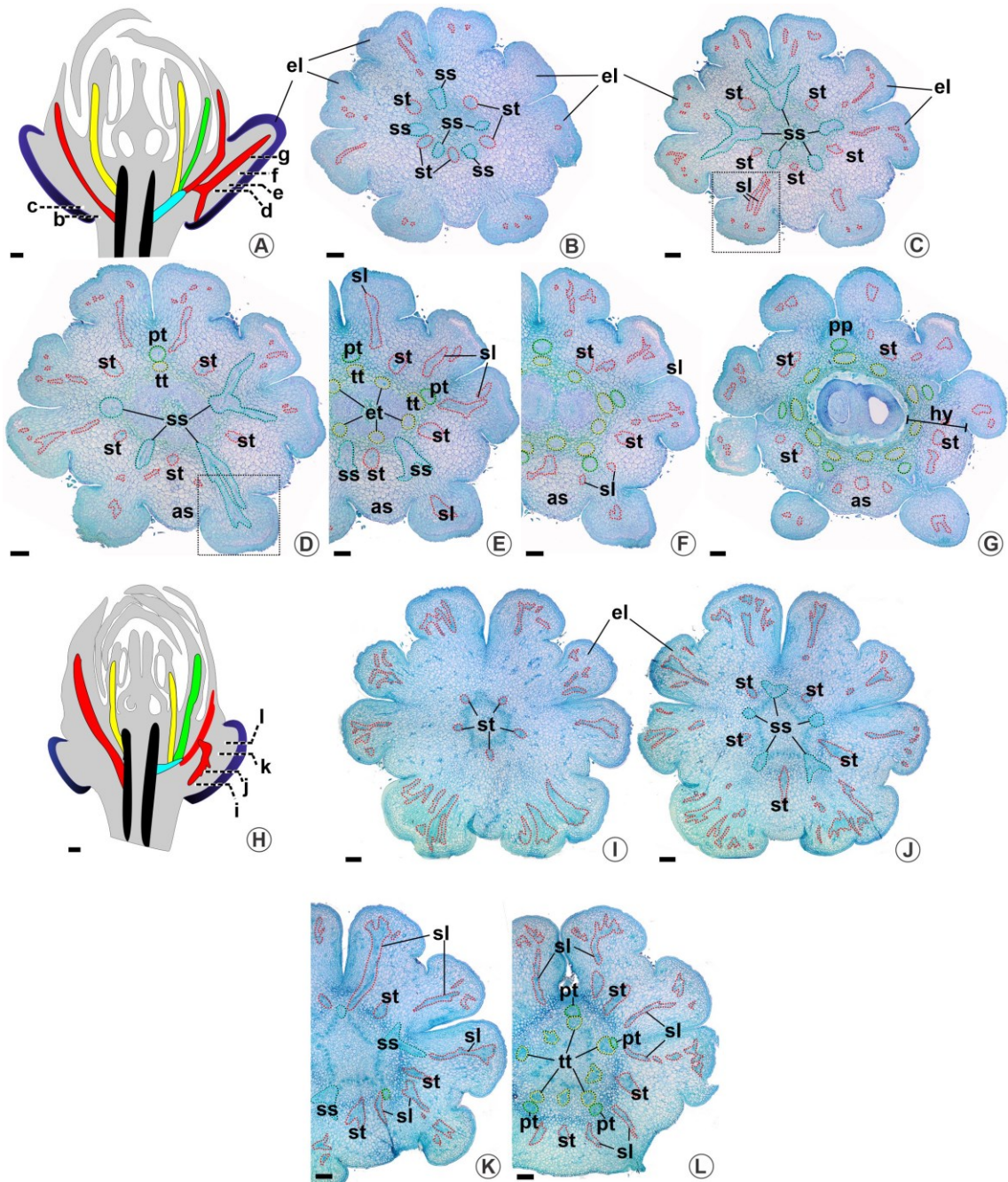
Fig. S3 Padrão da vascularização floral de *Blepharandra hypoleuca* (A-G). As cores representam: traços de sépala (vermelho), traços de pétala (verde), traços de estame (amarelo), complexos sépala-pétala (rosa), glândulas calicinais (azul escuro) e cilindro vascular (preto). (A) Diagrama do botão floral em secção longitudinal evidenciando a vascularização das glândulas calicinais; as letras acompanhadas dos tracejados indicam as alturas nas quais as respectivas figuras foram obtidas. (B-G) Fotomicrografias de secção transversal do botão floral em diferentes alturas. (B-G) Sequência da emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala; a partir de C, observar os traços laterais de sépala vindos dos complexos sépala-pétala irrigando as glândulas. as sépala anterior, et traço de estame antissépalo, gl glândula, gy gineceu, pp pétala posterior, pt traço de pétala, sl traço lateral de sépala, sp complexo sépala-pétala, st traço mediano de sépala, tt traço de estame antipétalo. Barras de escala = 200µm.



Vascularização do cálice envolvendo a emissão de complexos sépala-pétala-estame antipétalo nas espécies *Spachea elegans* e *Lophanthera lactescens*, do clado galphimioide.

(Figura na página seguinte)

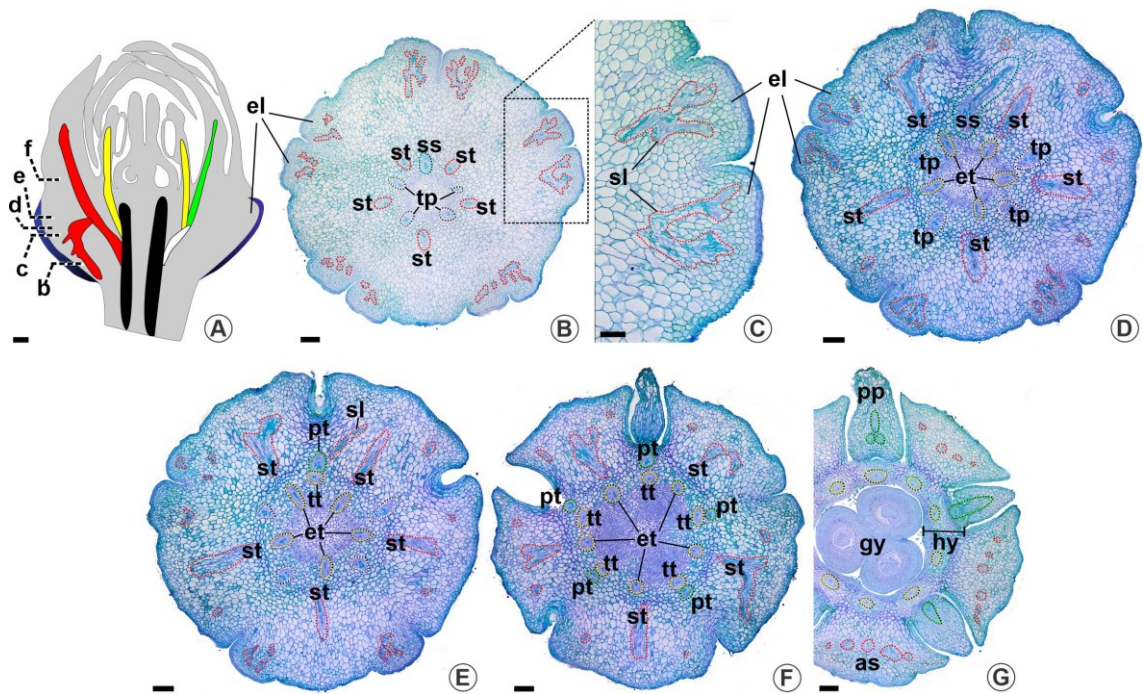
Fig. S4 Padrão de vascularização floral de *Spachea elegans* (A-G) e *Lophanthera lactescens* (H-L). As cores representam: traços de sépala (vermelho), traços de pétala (verde), traços de estame (amarelo), complexos sépala-pétala-estame antipétalo (azul claro), glândulas calicinais (azul escuro) e cilindro vascular (preto). (A, H) Diagramas de botões florais em secção longitudinal evidenciando a vascularização das glândulas calicinais; as letras acompanhadas dos tracejados indicam as alturas nas quais as respectivas figuras foram obtidas. (B-G, I-L) Fotomicrografias de secções transversais do botão floral em diferentes alturas. (B-G) Sequência da emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala-estame antipétalo; a partir de D, observar que após cada complexo se ramificar em direção a periferia do receptáculo, se individualizam a partir dele internamente um traço de estame antipétalo, e externamente um traço de pétala, lateralmente são emitidos dois traços laterais de sépala que irrigam duas glândulas adjacentes; note em C e em D que as sépalas adjacentes a sépala anterior recebem quatro traços laterais de sépala; notar em G, a presença de hipanto. (I-L) Sequência da emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala-estame antipétalo; a partir de K, observar os traços laterais de sépala irrigando as glândulas. as sépala anterior, et traço de estame antissépalo, gl glândula, gy gineceu, hy hipanto, pp pétala posterior, pt traço de pétala, sl traço lateral de sépala, ss complexo sépala-pétala-estame antipétalo, st traço mediano de sépala, tt traço de estame antipétalo. Barras de escala = 200µm.



Vascularização do cálice envolvendo somente a emissão de traços medianos de sépala e um único complexo sépala-pétala-estame antipétalo na espécie *Lophanthera longifolia*, do clado galphimioide.

(Figura na página seguinte)

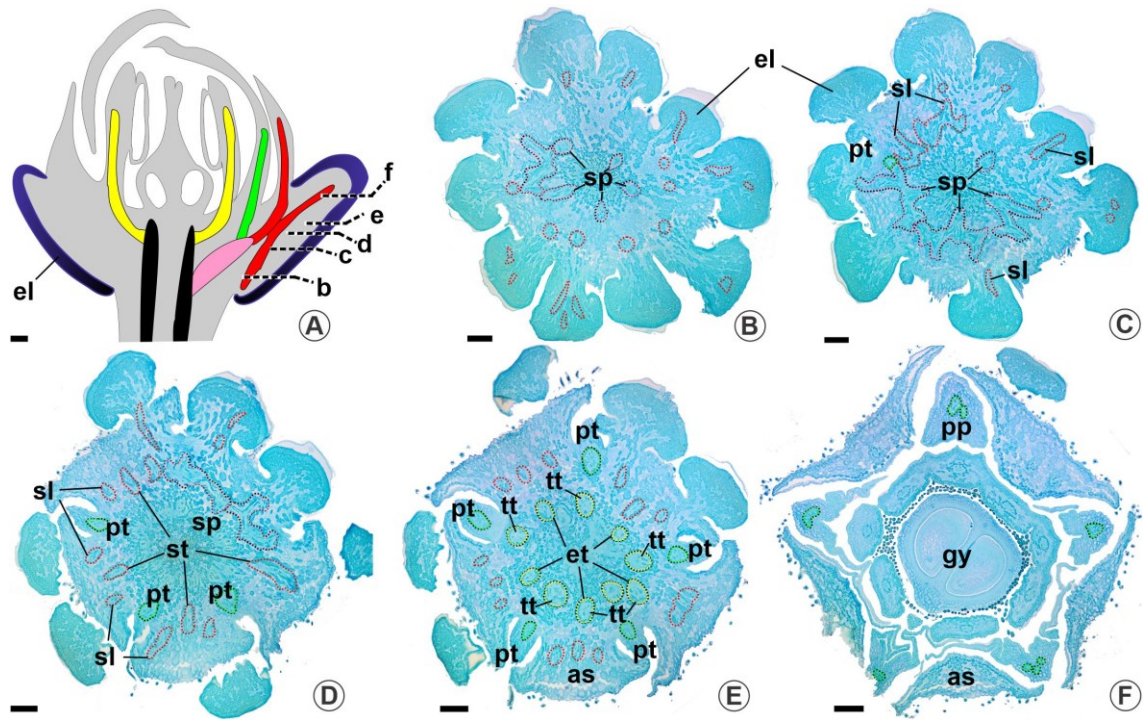
Fig. S5 Padrão de vascularização floral de *Lophanthera longifolia*. As cores representam: traços de sépala (vermelho), traços de pétala (verde), traços de estame (amarelo), complexo sépala-pétala-estame antipétalo (azul claro), complexos pétala-estame antipétalo (branco), glândulas calicinais (azul escuro) e cilindro vascular (preto). (A) Diagrama do botão floral em secção longitudinal evidenciando a vascularização das glândulas calicinais; as letras acompanhadas dos tracejados indicam as alturas nas quais as respectivas figuras foram obtidas. (B-G) Fotomicrografias de secções transversais do botão floral em diferentes alturas. (B-G) Sequência da emissão dos traços medianos de sépala e um único complexo sépala-pétala-estame antipétalo; a partir de C, observar os traços laterais de sépala irrigando as glândulas e, em G, notar a presença do hipanto. as sépala anterior, et traço de estame antissépalo, gl glândula, gy gineceu, hy hipanto, pp pétala posterior, pt traço de pétala, sl traço lateral de sépala, ss complexo sépala-pétala-estame antipétalo, st traço mediano de sépala, tp complexos pétala-estame antipétalo, tt traço de estame antipétalo. Barras de escala = 200µm.



Vascularização do cálice envolvendo somente a emissão de traços medianos de sépala modificados em complexos sépala-pétala na espécie *Diacidia aracaensis*, do clado byrsonimoide.

(Figura na página seguinte)

Fig. S6 Padrão da vascularização floral de *Diacidia aracaensis*. As cores representam: traços de sépala (vermelho), traços de pétala (verde), traços de estame (amarelo), complexos sépala-pétala (rosa), glândulas calicinais (azul escuro) e cilindro vascular (preto). (A) Diagrama do botão floral em secção longitudinal evidenciando a vascularização das glândulas calicinais; as letras acompanhadas dos tracejados indicam as alturas nas quais as respectivas figuras foram obtidas. (B-F) Fotomicrografias de secções transversais do botão floral em diferentes alturas. (B-F) Sequência da emissão dos traços medianos de sépala modificados em complexos sépala-pétala; a partir de B, observar os traços laterais de sépala irrigando as glândulas; notar que nesta espécie os traços medianos emitem também traços de pétala (a partir de C), e portanto são modificados em complexos sépala-pétala; observar que não há emissão de quaisquer traços na posição oposta às pétalas. as sépala anterior, et traço de estame antissépalo, gl glândula, gy gineceu, pp pétala posterior, pt traço de pétala, sl traço lateral de sépala, sp complexo sépala-pétala, st traço mediano de sépala, tt traço de estame antipétalo. Barras de escala = 200µm.



CAPÍTULO IV

O conservantismo floral de *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta*, gêneros neotropicais de Malpighiaceae sem elaióforos e sem corola zigomorfa

Manuscrito apresentado segundo as normas do periódico

Acta Botanica Brasilica.

Original Article

O conservantismo floral de *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta*, gêneros neotropicais de Malpighiaceae sem elaióforos e sem corola zigomorfa

Stéphani Karoline Vasconcelos Bonifácio^{1*}, André Márcio Araújo Amorim², Denise Maria Trombert Oliveira¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, PlantSeR Lab, Avenida Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

² Universidade Estadual de Santa Cruz Departamento de Ciências Biológicas, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, 45600-970, Ilhéus, Bahia, Brasil.

*skvbonifacio@gmail.com

ORCID:

S. K. V. Bonifácio: 0000-0002-5821-6993

A. M. A. Amorim: 0000-0003-0712-3321

D. M. T. Oliveira: 0000-0003-1918-2433

RESUMO

Dentre as Malpighiaceae neotropicais, as linhagens são facilmente reconhecidas por flores com elaióforos e corola zigomorfa. Apesar dessa generalização, alguns gêneros perderam as glândulas e dois deles, além da perda das glândulas, apresentam corola actinomorfa e, portanto, diferem do restante da família no Neotrópico, o grupo-irmão *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta*. *Lasiocarpus*, ainda, exibe flores diclinas. Instigados por essas singularidades, avaliamos a extensão do conservantismo floral nesses dois gêneros de Malpighiaceae por meio da vascularização. Flores pistiladas de *Lasiocarpus* e flores de *Ptilochaeta* apresentam padrão vascular semelhante a outras linhagens já estudadas da família. Com emissão de traços medianos de sépala intercalados com complexos sépala-pétala, os quais irrigam lateralmente sépalas adjacentes e as pétalas. Além disso, mesmo eglandulares, há traços na periferia do receptáculo, que indicam vestígios das glândulas suprimidas. Já as flores estaminadas de *Lasiocarpus* exibem apenas traços medianos de sépala, sem a presença de complexos. Registramos, pela primeira vez, em Malpighiaceae a existência de flores tetrâmeras em ambos os gêneros, possivelmente ocasionada pela perda da pétala posterior, o que representa uma variação significativa do plano de simetria da corola. Assim, embora tenham forma diferente das demais linhagens neotropicais de Malpighiaceae, *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* mantêm conservantismo floral a nível vascular. Logo, corroboramos que a vascularização é o último nível a modificar numa flor e é capaz de evidenciar condições plesiomórficas da flor.

Palavras-chave: ptilochaetoid, Malpighiales, vascularização floral, glândula calicinal.

INTRODUÇÃO

Malpighiaceae é uma família pantropical, composta por aproximadamente 1.300 espécies, circunscritas em 78 gêneros (Anderson et al. 2006, Davis & Anderson 2010, Davis et al. 2020b, Davis et al. 2020a, de Almeida & van den Berg 2021). As espécies ocorrentes na região neotropical diferem consideravelmente daquelas existentes no paleotrópico e exibem flores semelhantes (Anderson 1990). Essa similaridade da forma floral é devida principalmente ao perianto. O cálice é formado por cinco sépalas, as quais, comumente, apresentam um par de elaióforos (ou glândulas calicinais) em cada. Já a corola é composta por cinco pétalas unguiculadas, frequentemente amarelas, com simetria bilateral, e presença de uma pétala posterior bem diferenciada (Anderson 1979, Anderson 1990, Vogel 1990, Anderson 2004, Anderson et al. 2006).

A relação entre cálice e corola fica ainda mais evidente quando considerado o conservantismo floral (Anderson 1979), isto é, a manutenção filogenética e morfológica da arquitetura floral nas espécies neotropicais de Malpighiaceae. O conservantismo está associado à presença de duas características do perianto: elaióforos e corola zigomorfa (Anderson 1979, Davis et al. 2014). Essas duas características, em conjunto, estão diretamente relacionadas à relação mutualística entre abelhas coletoras de óleo e espécies de Malpighiaceae no Novo Mundo (Anderson 1979, Anderson 1990, Vogel 1990, Sigrist & Sazima 2004). A relação mutualística é datada de aproximadamente 80m.a. e é considerada a responsável pela nítida homogeneidade floral entre espécies de Malpighiaceae do neotrópico (Davis et al. 2014).

Oito linhagens neotropicais de Malpighiaceae não possuem glândulas calicinais: *Coleostachys* A. Juss., *Echinopterys* A. Juss., *Ectopopterys* W.R. Anderson, *Galphimia* Cav., *Lasiocarpus* Liebm., *Psychopterys* W.R. Anderson & S. Corso, *Ptilochaeta* Turcz. e *Thryallis* Mart. (Anderson 1980, Anderson 1990, Anderson 1997, Anderson 2007). Destes, somente *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* também perderam completamente o plano de simetria bilateral da corola e formam um grupo irmão imerso no clado ptilochaetoide (Davis & Anderson 2010, Anderson 2013, Zhang et al. 2013, Cardona-Cruz et al. 2021). A perda concomitante das glândulas calicinais e do zigomorfismo da corola representa ruptura expressiva da arquitetura floral típica das Malpighiaceae neotropicais.

Trabalhos de vascularização floral em Malpighiaceae têm demonstrado processos de fusão envolvendo os verticilos do perianto (Souto & Oliveira 2013, Bonifácio et al. 2021). É registrada a adnação entre sépalas e pétalas, com emissão de complexos sépala-pétala, a partir dos quais emergem os traços laterais de sépala, que irrigam as glândulas calicinais, quando presentes, e as pétalas (Souto & Oliveira 2013, Bonifácio et al. 2021).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a vascularização floral dos dois gêneros de Malpighiaceae, com flores que divergem completamente da morfologia floral típica da família no ambiente neotropical, para testar se há conservantismo ao nível anatômico. A proposta dessa análise é responder as seguintes perguntas: 1) Se o sistema vascular é o último sistema a mudar na evolução da flor, há vestígios da presença das glândulas calicinais em *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta*? 2) A adnação entre cálice e corola ainda é mantida em cladogramas sem elaióforos e sem corola zigomorfa? e 3) Qual é o papel da corola no estabelecimento das glândulas calicinais?

MATERIAL E MÉTODOS

O material consistiu em botões florais de *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* próximos à antese, provenientes de herbários ou coletas em campo (Tabela 1). Amostras obtidas de exsiccatas foram submetidas ao processo de reversão da herborização (Smith & Smith 1942, modificado por Mello et al. 2019). Aqueles coletados em campo foram fixados em formaldeído-ácido acético-álcool etílico 50% por 48h (Johansen 1940). Para ambos os casos, as amostras foram desidratadas e armazenadas em etanol 70%; posteriormente, a desidratação foi completada e procedeu-se à inclusão, com passagem em freezer, em (2-hidroxietil)-metacrilato Leica (Paiva et al. 2011).

O material foi seccionado transversalmente e longitudinalmente em micrótomo rotativo Zeiss Hyrax M40 com 6 a 10 μ m de espessura. As seções foram coradas com azul de toluidina 0.05% em pH 4.7 em tampão acetato (O'Brien et al. 1964, modificado) e montadas com Entellan.

As imagens obtidas em microscópio Olympus CX41 com câmera LC20 acoplada foram reunidas e alinhadas utilizando o software Image Composite Editor 2015. Em seguida, foram editadas no Corel Photo-Paint 2020 e organizadas no CorelDraw Graphics Suite 2020.

As informações disponíveis na literatura sobre vascularização floral de Malpighiaceae foram tabuladas para fundamentar comparações que embasassem se há conservantismo floral nas espécies aqui analisadas. As descrições da vascularização seguiram a terminologia adotada por Puri (1951), Souto & Oliveira (2013) e Bonifácio et al. (2021).

RESULTADOS

Lasiocarpus

As flores examinadas são diclinas em *Lasiocarpus ferrugineus* e *L. salicifolius* (Fig. 1A) ou monoclina (*L. andersoniorum*). Além disso, são majoritariamente pentâmeras, com exceção de *L. andersoniorum*. Secções transversais da flor revelam que há diferença na vascularização do perianto entre as flores estaminadas e flores pistiladas.

Em flores estaminadas, o perianto é vascularizado por traços medianos de sépala e traços de pétala (Fig. 1B). No pedicelo, o cilindro vascular é organizado em sifonostelo (Fig. 1C). Dele, são emitidos os cinco traços medianos de sépala, os quais migram imediatamente para a base das sépalas (Fig. 1D-E). Os traços de pétala e traços de estames antipétalos e antissépalos, por sua vez, migram diretamente do cilindro vascular em direção aos respectivos órgãos (Fig. 1E-G), irrigando-os. Acima, os filetes se separam e a porção receptacular remanescente não é vascularizada (Fig. 1H). Todos os estames são férteis, e cada antera é

tetraesporangiada, envolta por epiderme e no parênquima próximo ao estômio, são observados cristais (Fig. 1I).

Já nas flores pistiladas (Fig. 2A), o perianto é vascularizado por traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala (Fig. 2B). No pedicelo, o cilindro vascular é organizado no eustelo (Fig. 2C). Dele, são emitidos simultaneamente cinco traços medianos de sépala interpostos a cinco complexos sépala-pétala (Fig. 2D-H). Os complexos sépala-pétala são assim denominados pois emitem traços que irrigam tanto as sépalas quanto as pétalas. Os traços medianos de sépala migram para a região de inserção das sépalas sem quaisquer ramificações; já os complexos sépala-pétala, localizados na região entre duas sépalas adjacentes, dividem-se lateralmente originando, em cada lado, um traço lateral de sépala; a porção mediana restante se individualiza e compõe o traço de pétala. Entretanto, na amostra analisada, para uma das sépalas um de seus traços laterais parte diretamente do cilindro vascular (Fig. 2F) e, para uma das pétalas, não foi observada emissão de traço vascular (Fig. 2I-J).

Cada carpelo, por sua vez, recebe um traço dorsal, pouco diferenciado, um traço ventral e dois laterais (Fig. 2K). Na base do ovário, complexos intercarpelares irrigam cada carpelo, e cada um deles é vascularizado pelo feixe dorsal, que se ramifica irrigando as setas (Fig. 2L). Na altura mediana do ovário, cada carpelo é vascularizado por um feixe dorsal pouco diferenciado, um feixe ventral e dois feixes laterais cada (Fig. 2M).

Ao final, além da diferença quanto à ocorrência dos verticilos férteis, as flores estaminadas e pistiladas diferem quanto ao padrão de vascularização em especial quanto ao número de traços emitidos para as sépalas: um em flores estaminadas e três em flores pistiladas.

Para *Lasiocarpus andersoniorum*, registramos flores tetrâmeras e monoclinas, cuja vascularização do perianto ocorre por traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala, de maneira semelhante às flores pistiladas de *L. salicifolius*. Nessa espécie, são emitidos quatro traços medianos de sépala, três complexos sépala-pétala e um complexo intersépala (Fig. 3A). No pedicelo, o cilindro vascular é organizado em eustelo (Fig. 3B). Na base do receptáculo, são emitidos os traços medianos de sépala e, intercalados a eles, os complexos sépala-pétala (Fig. 3C-D). Ao migrarem para a base das sépalas, os complexos sépala-pétala dividem-se lateralmente e cada ramo constitui um traço lateral de sépala; em dois complexos sépala-pétala adjacentes os ramos laterais também se bifurcam, e a sépala entre eles recebe cinco traços (Fig. 3E-F). Nessa altura, é possível observar unidades vasculares na periferia do receptáculo (Fig. 3E-H), descontínua da vascularização já emitida. Na porção mediana de

cada complexo sépala-pétala, individualiza-se um traço de pétala (Fig. 3H-I). Já o complexo intersépala irriga, lateralmente, duas sépalas adjacentes (Fig. 3I), sem emitir traço para uma das pétalas. Apicalmente, do cilindro vascular partem os traços dos cinco estames (Fig. 3J). Para o gineceu, cada carpelo recebe um traço dorsal, que se ramifica irrigando as emergências das setas, e dois feixes laterais; na altura da base do ovário, é possível observar que a pétala oposta ao complexo intersépala é reduzida em tamanho e não tem feixe vascular (Fig. 3K). Na altura dos lóculos do ovário, é possível observar que a vascularização central remanescente, individualiza-se um feixe ventral para cada um dos carpelos, dos quais apenas dois são ovulados (Fig. 3L). Já as anteras, embora haja fases diferentes do desenvolvimento, todas aparentam ser de estames férteis; são tetraesporangiadas, apresentando cristais próximo ao estômio e compostos fenólicos apenas em fases iniciais (Fig. 3M-N).

Ptilochaeta

As flores de *Ptilochaeta bahiensis*, *P. densiflora* e *P. glabra* são usualmente pentâmeras e monoclinas (Fig. 4A). Contudo, observamos também flores tetrâmeras em indivíduos de *P. bahiensis*. No gênero, o perianto é vascularizado por traços medianos de sépala e por complexos sépala-pétala (Fig. 4B).

No pedicelo, o cilindro vascular é organizado em eustelo (Fig. 4C). Do cilindro vascular, são emitidos, inicialmente, os traços medianos de sépala e, nessa altura, é possível observar vascularização periférica, descontínua ao restante do sistema vascular (Fig. 4D). Logo acima dessa região, os complexos sépala-pétala são emitidos e ao migrarem para a base das sépalas ramificam-se lateralmente, acropetamente e basipetamente (Fig. 4E-F). Dos ramos laterais dos complexos diferenciam-se os traços laterais de sépala e da porção mediana, individualiza-se o traço de pétala (Fig. 4G-H). Na região apical, ocorre a emissão de um traço para cada um dos dez estames, cinco antissépalos e cinco antipétalos (Fig. 4I). Os estames são basalmente fusionados e a separação deles ocorre primeiramente para os estames antissépalos em *P. densiflora* (Fig. 4J), enquanto nas demais espécies é simultânea.

Em todas as espécies, na base do ovário, os carpelos são vascularizados por complexos intercarpelares (Fig. 4K). Deles, se separam, para cada carpelo, um feixe ventral e dois feixes laterais, os quais se ramificam e irrigam as setas, que originam as setas dos frutos (Fig. 4L). No ápice das flores, são visualizadas as dez anteras, as quais são tetraesporangiadas e apresentam células com conteúdo fenólico na região do conectivo, e poucos cristais (Fig. 4M).

Observamos indivíduos com flores tetrâmeras em *P. bahiensis*. Neles, as flores são vascularizadas por meio de quatro traços medianos de sépala e quatro complexos sépala-pétala (Fig. 5A), similarmente às flores pentâmeras. No pedicelo, o cilindro vascular é organizado em eustelo (Fig. 5B). Dos quatro complexos sépala-pétala, são emitidos dois traços laterais para sépalas adjacentes e, entre eles, um traço de pétala (Fig. 5C-D); em duas sépalas, o traço lateral de sépala se funde ao traço mediano (Fig. 5D). Os complexos, então, se ramificam irrigando lateralmente duas sépalas adjacentes (Fig. 5E-F). Da porção mediana de cada complexo sépala-pétala, se separa um traço de pétala (Fig. 5F-G). Do cilindro vascular partem, ainda, um traço de estame para cada um dos oito estames, quatro antipétalos e quatro antissépalos, que imediatamente se separam do receptáculo (Fig. 5H-I). Os remanescentes vasculares no receptáculo se reorganizam e irrigam o gineceu por meio de complexos intercarpelares, os quais originam os feixes laterais que irrigam as setas (Fig. 5J). O gineceu é formado por três carpelos, todos férteis. Na altura do ovário cada carpelo é irrigado por um feixe ventral e dois feixes laterais (Fig. 5K). Ao final, todos os estames são férteis, e cada uma das anteras é tetraesporangiada, apresentando cristais próximos ao estômio e compostos fenólicos no conectivo (Fig. 5L).

DISCUSSÃO

Embora *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* exibam flores diferentes dos demais gêneros neotropicais de Malpighiaceae, a vascularização floral sinaliza o seu conservantismo. O padrão vascular com presença de complexos sépala-pétala é semelhante a outros gêneros de diferentes clados de Malpighiaceae (Tabela 2). Esse modelo, no qual traços laterais de sépala e traços de pétala compartilham a origem, independe da ocorrência de glândulas calicinais e da simetria da corola (Tabela 2). A maioria dos padrões descritos até o momento para a vascularização do cálice em Malpighiaceae apresentam traços medianos de sépala – partindo diretamente do estelo ou de complexos vasculares – e, alternos a eles, complexos sépala-pétala - que também podem ser mais amplos e, irrigar parte do androceu (Souto & Oliveira 2013, Bonifácio et al. 2021, capítulo III deste volume). Dessa síntese, depreende-se que, tanto em flores pistiladas de *Lasiocarpus* quanto em *Ptilochaeta*, a anatomia vascular, que representa o último nível a se alterar na evolução da flor (Henslow 1888, Arber 1913, Bonifácio et al. 2021), não apresenta modificações ao padrão, permanecendo conservada.

Os complexos sépala-pétala estão diretamente relacionados aos órgãos com atributos florais ligados a atração, orientação e recompensa a polinizadores, características consideradas responsáveis pelo conservantismo floral das Malpighiaceae neotropicais

(Anderson 1979). Anatomicamente, a pétala posterior é frequentemente identificada por sua unha mais espessa (Souto & Oliveira 2013), sua posição mais basal no receptáculo, sendo, comumente, a primeira a receber seu traço vascular e/ou a se separar do receptáculo (Bonifácio et al. 2021). A pétala posterior, ainda, pode receber três traços vasculares, diferentemente das demais pétalas, como ocorre, p.ex., em *Lophanthera* (capítulo III deste volume) e *Pterandra* (Cappellari et al. 2011, Bonifácio et al. 2021). O maior investimento na vascularização da pétala posterior fornece estrutura mais robusta, que favorece o pouso dos visitantes possibilitando a aterrissagem e favorecendo a visita desses agentes polinizadores (Bonifácio et al. 2021).

Ainda que não-zigomorfa, é possível inferir com base na posição no receptáculo e na ordem de emissão do traço de pétala, qual das pétalas é a posterior em *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* (ver Figs. 1E, 2E e 3G). Sabemos que o zigomorfismo da corola, em Malpighiaceae está ligado à duplicação do gene *CYCLOIDEA* que, na família, é expresso pelos genes ortólogos *CYC2A* e *CYC2B* (Zhang et al. 2010, 2012, 2013). O gene *CYC2B*, especificamente, atua na expressão da pétala posterior e, para a maioria das espécies de Malpighiaceae que perderam o zigomorfismo, tem sua expressão reduzida, com exceção de *Lasiocarpus* que, mesmo não tendo corola zigomorfa, mantém a forte expressão do gene (Zhang et al. 2013). Tal característica é corroborada pela vascularização floral do gênero, uma vez que há distinção de uma pétala em relação às demais. Entretanto, Zhang et al. (2013) não analisaram a expressão dos genes *CYC2A* e *CYC2B* em flores pistiladas de *Lasiocarpus*, apenas em flores estaminadas. Estudos focados na expressão do *CYC2* em flores pistiladas do gênero podem ser esclarecedores, afinal a sua vascularização é distinta, de modo que as flores pistiladas exibem padrão mais próximo às demais espécies neotropicais da família.

Com relação ao cálice, a vascularização das sépalas também é promissora, principalmente pela origem dos traços laterais de sépala, pois são as estruturas que irrigam as glândulas (Souto e Oliveira 2013, Bonifácio et al. 2021, e capítulo III deste volume). A ausência de traços laterais foi registrada, até o momento, apenas para *Lophanthera longifolia* (capítulo III deste volume) e aqui, em flores estaminadas de *Lasiocarpus ferrugineus* e *Lasiocarpus salicifolius*. Nesses casos, não há complexos sépala-pétala, e são os traços medianos de sépala que irrigam as sépalas também marginalmente. Enquanto o padrão registrado para *Lophanthera* pode representar um estado plesiomórfico para Malpighiaceae (capítulo III deste volume), em *Lasiocarpus* constitui apomorfia decorrente da perda das glândulas calicinais durante o estabelecimento das flores diclinas. A atração aos polinizadores implica, geralmente, no investimento em recompensa floral; no entanto, enquanto as flores

estaminadas ofertam os próprios grãos de pólen, as flores pistiladas de *Lasiocarpus* aparentemente não oferecem nenhuma outra recompensa. Desse modo, como as flores pistiladas ainda mantêm a emissão de complexos sépala-pétala, com vascularização na periferia do receptáculo descontínua aos traços vasculares emitidos àquela altura, é provável que a perda das glândulas tenha sucedido a diclinia das flores. Assim, durante o curso evolutivo, é provável que as flores estaminadas tenham perdido suas glândulas calicinais antes das flores pistiladas. Isso é corroborado tanto pela presença de complexos sépala-pétala em flores pistiladas de *Lasiocarpus*, quanto pela presença de traços periféricos do receptáculo em flores monoclinas de *Lasiocarpus andersoniorum*. Traços periféricos no receptáculo estão diretamente relacionados às glândulas calicinais, que comumente recebem traços basípetos (Bonifácio et al. 2021, capítulo III deste volume). Filogeneticamente, *Lasiocarpus andersoniorum* está mais próximo de *Lasiocarpus salicifolius* que de *Lasiocarpus ferrugineus* (Cardona-Cruz et al. 2021), o que demonstra que a variação na vascularização é resultante mais das pressões seletivas que por ancestralidade comum mais recente. Logo, a ocorrência das glândulas também pode estar relacionada à presença do gineceu, o que faz sentido considerando que as espécies neotropicais são dependentes de seus polinizadores pela hercogamia, protoginia e cutícula sobre estigma, como destacado por Sigrist & Sazima (2004).

É provável que flores de *Lasiocarpus* sejam polinizadas por pequenos insetos generalistas, o que é comumente relatado para espécies vegetais dioicas (Amorim et al. 2011). Entretanto, como não observamos outros atrativos nas flores pistiladas de *Lasiocarpus*, também é possível que essas sejam polinizadas por engodo após visitação das flores estaminadas, como ocorre em outras espécies com flores diclinas (Dafni 1984, Renner & Feil 1993). Existe, ainda, a possibilidade de se reproduzirem vegetativamente, como outras Malpighiaceae, como *Stigmaphyllon blanchetii* (da Silva et al. 2021), ou de serem agamosp rmicas, como na espécie pseudo-hermafrodita, *Banisteriopsis pubipetala* (Sigrist & Sazima 2004).

Do mesmo modo, nas espécies de *Ptilochaeta* ocorrentes na caatinga, a flora o   intensa e rápida no início da esta o chuvosa (L.P. Queiroz, comunica o pessoal), e espécies de *Centris* podem visitar as flores (Aguiar et al. 2003), embora o óleo não seja ofertado neste gênero de Malpighiaceae. Nas nossas observa es de campo, notamos que popula es de *Ptilochaeta bahiensis* ocorrem simpatricamente com outras espécies de Malpighiaceae que portam elaióforos, e que em alguns casos (*i.e.* *Glicophyllum chamaecerasifolium* (A.Juss.) R.F.Almeida) compartilham o mesmo período de flora o e deciduidade, sugerindo assim

uma polinização por engodo. Como os aspectos sobre a biologia reprodutiva em *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* ainda permanecem desconhecidos, essas informações não passam de especulações mas apontam para estratégias reprodutivas que merecem estudos acurados.

Nós registramos, pela primeira vez, a presença de flores tetrâmeras para *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta*, ocorrência inédita em Malpighiaceae. Embora as flores de *Lasiocarpus andersoniorum* apresentem anteras em diferentes fases de desenvolvimento e redução do número de carpelos férteis, as flores de *Ptilochaeta bahiensis* têm desenvolvimento regular. A nossa amostragem não permite inferir a incidência das flores tetrâmeras nos dois gêneros, uma vez que para ambos as coletas em campo são pouco frequentes em função da curta duração da floração.

As flores tetrâmeras apresentaram plano de simetria da corola dissimétrico, por conter dois planos de simetria (senso Neal et al. 1998). Um possível passo evolutivo da zigomorfia para uma actinomorfia é a redução, especialmente pelo desaparecimento da pétala posterior, como em Lamiales (Endress 1999). Provavelmente essa é a tendência evolutiva que *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* estão passando, pois após a supressão dos elaióforos, acompanhada da mudança do plano de simetria da corola, há também a perda da pétala posterior, contribuindo para a atração de polinizadores generalistas. Esse tipo de mudança pode estar relacionado à dorsi-ventralidade expressa pelo gene *CYC2* (Zhang et al. 2010). E, mesmo com a mudança do plano de simetria, o padrão vascular com emissão de complexos sépala-pétala ainda é mantido. Dessa forma, tão importante quanto o plano de simetria da corola é a sua tendência à adnação ao cálice.

O fato de linhagens com flores morfologicamente distintas das demais espécies neotropicais de Malpighiaceae ainda apresentarem o mesmo padrão de vascularização das demais reforça a ideia de que a vascularização é a última a se modificar evolutivamente a presença dos elaióforos não é tão lábil quanto vem sendo sugerido na literatura (Davis & Anderson 2010, Davis et al. 2014).

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. AMAA e DMTO agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de produtividade em pesquisa (processos 312404/2018-2 e 305686/2018-6 respectivamente). Agradecemos a curadoria e técnicos do Herbário Nacional do México (MEXU) e ao Dr. Marcelo Pace pela obtenção das amostras de *Lasiocarpus*. Também

agradecemos a curadoria do Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS) pela cessão das amostras de *Ptilochaeta*.

REFERÊNCIAS

- Aguiar CML, Zanella FCV, Martins CF, de Carvalho CAL. 2003. Plantas visitadas por *Centris* spp. (Hymenoptera: Apidae) na Caatinga para obtenção de recursos florais. *Neotropical Entomology* 32: 247–259. doi: 10.1590/S1519-566X2003000200009
- Amorim FW, Mendes-Rodrigues C, Maruyama PK, Oliveira PE. 2011. Sexual ratio and floral biology of the dioecious *Neea theifera* Oerst. (Nyctaginaceae) in a Cerrado rupestre of central Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 25: 785–792. doi: 10.1590/S0102-33062011000400006
- Anderson WR. 1979. Floral conservatism in neotropical Malpighiaceae. *Biotropica* 11: 219–223. doi: 10.2307/2388042
- Anderson WR. 1980. *Ectopopterys*, a new genus of Malpighiaceae from Colombia and Peru. *Contributions from the University of Michigan Herbarium* 14: 11–15. doi: 10.2307/3242894
- Anderson WR. 1990. The origin of the Malpighiaceae - The evidence from morphology. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 64: 210–224.
- Anderson WR. 1997. *Excentradenia*, a new genus of Malpighiaceae from South America. *Contributions from the University Michigan Herbarium* 21: 29–36.
- Anderson WR. 2004. Malpighiaceae. In: Smith N, Mori SA, Henderson A, Stevenson DW, Heald S V. (eds) *Flowering Plants of the Neotropics*. Princeton, Princeton University Press. p. 229-232.
- Anderson WR. 2007. *Psychopterys*, a new genus of Malpighiaceae from Mexico and Central America. *Contributions from the University Michigan Herbarium* 25: 113–135.
- Anderson WR. 2013. Origins of mexican Malpighiaceae. *Acta Botanica Mexicana* 104: 107–156.
- Anderson WR, Anderson C, Davis CC. 2006. Malpighiaceae. 21 Oct. 2021, from <http://herbarium.lsa.umich.edu/malpigh/index.html>.
- Arber A. 1913. On the structure of the androecium in *Parnassia* and its bearing on the affinities of the genus. *Annals of Botany* 27: 491–510. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a089471
- Bonifácio SKV, De Almeida RF, Amorim AMA, Oliveira DMT. 2021. Floral synorganization

- in acmantheroid clade suggests hypotheses to explain elaiophore suppression in Malpighiaceae. *Flora* 281: 151870. doi: 10.1016/j.flora.2021.151870
- Cappellari SC, Haleem MA, Marsaioli AJ, Tidon R, Simpson BB. 2011. *Pterandra pyroidea*: a case of pollination shift within Neotropical Malpighiaceae. *Annals of Botany* 107: 1323–1334. doi: 10.1093/aob/mcr084
- Cardona-Cruz LM, Carrillo-Reyes P, Sosa V. 2021. Monograph and molecular phylogeny of the mexican endemic *Lasiocarpus* (Malpighiaceae) reveal a new species for Southern Mexico. *Systematic Botany* 46: 361–369. doi: 10.1600/036364421X16231782047334
- da Silva V, Cury G, Barbosa LHS, Santos DLT dos, de Souza RC, Prata AP do N 2021. Underground system of the weed *Stigmaphyllon blanchetii* C. E. Anderson (Malpighiaceae) and its vegetative propagation role. *Flora* 278: 151789. doi: 10.1016/j.flora.2021.151789
- Dafni A. 1984. Mimicry and deception in pollination. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 259–278.
- Davis CC, Anderson WR. 2010. A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *American Journal of Botany* 97: 2031–2048. doi: 10.3732/ajb.1000146
- Davis CC, Marinho LC, Amorim AM. 2020a. *Andersoniodoxa*, a replacement name for *Andersoniella* (Malpighiaceae). *Phytotaxa* 470: 121–122. doi: 10.11646/phytotaxa.470.1.9
- Davis CC, Marinho LC, Amorim AMA. 2020b. *Andersoniella*: a new genus of neotropical Malpighiaceae. *Harvard Papers in Botany* 25: 51–56. doi: 10.3100/hpib.v25iss1.2020.n6
- Davis CC, Schaefer H, Xi Z, Baum DA, Donoghue MJ, Harmon LJ 2014. Long-term morphological stasis maintained by a plant-pollinator mutualism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 5914–5919. doi: 10.1073/pnas.1403157111
- de Almeida RF, van den Berg C. 2021. Molecular phylogeny and character mapping support generic adjustments in the Tetrapteroid clade (Malpighiaceae). *Nordic Journal of Botany* 39: 1–25. doi: 10.1111/njb.02876
- Endress PK. 1999. Symmetry in flowers: diversity and evolution. *International Journal of Plant Sciences* 160: S2–S23.
- Henslow G. 1888. *The origin of floral structures through insect and other agencies*. New York, D. Appleton and Company. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.24161>
- Johansen DA. 1940. *Plant Microtechnique*. London, McGraw-Hill Book Company. doi:

10.2307/3222557

- Mello ACMP, De Almeida RF, Amorim AMA, Oliveira DMT. 2019. Leaf structure in *Amorimia* and closely related Neotropical genera and implications for their systematics and leaf evolution in Malpighiaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 191: 102–127. doi: 10.1093/botlinnean/boz028
- Neal PR, Dafni A, Giurfa M. 1998. Floral symmetry and its role in plant-pollinator systems: terminology, distribution, and hypotheses. *Annual Review of Ecology and Systematic* 29: 345–373.
- O'Brien TP, Feder N, McCully ME. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368–373. doi: 10.1007/BF01248568
- Paiva EAS, Pinho SZ de, Oliveira DMT. 2011. Large plant samples: how to process for GMA embedding? In: Chiarini-Garcia H, Melo RCN (eds). *Light microscopy: methods and protocols*. New York, Springer/H. p. 37-49. doi: 10.1007/978-1-60761-950-5
- Puri V. 1951. The role of floral anatomy in the solution of morphological problems. *The Botanical Review* 17: 471–553. doi: 10.1007/BF02882536
- Renner SS, Feil JP. 1993. Pollinators of tropical dioecious Angiosperms. *American Journal of Botany* 80: 1100–1107.
- Sigrist MR, Sazima M. 2004. Pollination and reproductive biology of twelve species of neotropical Malpighiaceae: stigma morphology and its implications for the breeding system. *Annals of Botany* 94: 33–41. doi: 10.1093/aob/mch108
- Smith FH, Smith EC. 1942. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *American Journal of Botany* 29: 464. doi: 10.2307/2437312
- Souto LS, Oliveira DMT. 2013. Evaluation of the floral vasculature of the *Janusia*, *Mascagnia* and *Tetrapterys* species as a tool to explain the decrease of floral organs in Malpighiaceae. *Flora* 208: 351–359. doi: 10.1016/j.flora.2013.05.002
- Vogel S. 1990. History of the Malpighiaceae pollination ecology. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 130–142.
- Zhang W, Kramer EM, Davis CC. 2010. Floral symmetry genes and the origin and maintenance of zygomorphy in a plant-pollinator mutualism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 6388–6393. doi: 10.1073/pnas.0910155107
- Zhang W, Kramer EM, Davis CC. 2012. Similar genetic mechanisms underlie the parallel evolution of floral phenotypes. *PLoS ONE* 7: e36033. doi: 10.1371/journal.pone.0036033

Zhang W, Steinmann VW, Nikolov L, Kramer EM, Davis CC. 2013. Divergent genetic mechanisms underlie reversals to radial floral symmetry from diverse zygomorphic flowered ancestors. *Frontiers in Plant Science* 4: 1–13. doi: [10.3389/fpls.2013.00302](https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00302)

Tabela 1 – Espécies de *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* estudadas neste trabalho. Coletor antecedido por * indica amostras provenientes de coletas em campo.

Espécies	Coletor (Herbário)
<i>P. bahiensis</i> Turcz.	Harley 55682 (HUEFS); Neves 1548 (HUEFS); França 6053 (HUEFS); Rocha 72 (HUEFS), *Amorim 11323 (CEPEC), *Amorim 11325 (CEPEC), *Amorim 11326 (CEPEC)
<i>P. densiflora</i> Nied.	Guedes 850 (HUEFS); Melo 10564 (HUEFS); Carvalho 296 (CGMS)
<i>P. glabra</i> Nied.	Carvalho 90 (HUEFS); Souza-Silva 217 (HUEFS); França 3783 (HUEFS)
<i>L. andersoniorum</i> Cardona-Cruz	Soto Núñez 8214 (MEXU)
<i>L. ferrugineus</i> H. S. Gentry	Cuevas 3979 (MEXU)
<i>L. salicifolius</i> Liebm.	Salinas 8241 (MEXU); Catalán 559 (MEXU)
<i>Lasiocarpus</i> sp.	Reyes-García 3413 (MEXU)

Tabela 2: Padrões da vascularização do perianto em diferentes clados de Malpighiaceae. A ordem dos clados na coluna mais à esquerda obedece a ordem de aparecimento na família de acordo com a filogenia mais recente (Davis et al. 2010). Padrões: (1) Traços medianos de sépala + complexos sépala-pétala (produzem dois traços laterais que irrigam duas sépalas adjacentes e seus respectivos elaióforos, quando presentes, + um traço de pétala); (2) Traços medianos de sépala + complexos sépala-pétala-estame antipétalo (produzem dois traços laterais que irrigam duas sépalas adjacentes e seus respectivos elaióforos, quando presentes, + um traço de pétala + um traço de estame antipétalo); (3) Traços medianos de sépala (se ramificam e irrigam uma única sépala, incluindo os elaióforos) + traço de pétala; (4) Traços medianos de sépala modificados em complexos sépala-pétala (produzem traço mediano de sépala + traços laterais de pétala) + complexos sépala-pétala-estame antipétalo (produzem dois traços laterais que irrigam duas sépalas adjacentes e seus respectivos elaióforos, + um traço de pétala + um traço de estame antipétalo); (5) Traços medianos de sépala modificados em complexos sépala-pétala (produzem traço mediano de sépala + traços laterais de sépala, que irrigam as glândulas, + traço de pétala); (6) Traços de sépala (não especificado pela literatura); (7) Um único traço de sépala (flores cleistógamas) e ausência de corola. (*e*) indicam variações intraespecíficas e (*ou*) variações interespecíficas. Casos de fusão entre traços e complexos vasculares entre peças do perianto ocorridos após a emissão inicial do cilindro vascular foram omitidos desta tabela. *De acordo com Anderson et al. 2006.

Clado	Gênero	Vascularização do cálice	Número de elaióforos	Plano de simetria da corola*	Fonte de dados
galphimioide	<i>Galphimia</i>	1	0 ou 3-5	+/- zigomorfa a actinomorfa	Capítulo 3 neste volume
	<i>Verrucularia</i>	1	10	zigomorfa	Capítulo 3 neste volume
	<i>Spachea</i>	2	8	zigomorfa	Capítulo 3 neste volume
	<i>Lophanthera</i>	2 e 3	10	zigomorfa	Capítulo 3 neste volume
acmantheroide	<i>Coleostachys</i>	1	0	zigomorfa	Bonifácio et al. 2021
	<i>Acmanthera</i>	2	10	zigomorfa	Bonifácio et al. 2021
	<i>Pterandra</i>	4	0 ou 6-9	+/- actinomorfa	Cappellari et al. 2011, Bonifácio et al. 2021

	<i>Byrsonima</i>	1	0 ou 10	zigomorfa	Capítulo 3 neste volume
byrsonimoide	<i>Blepharandra</i>	1	10	zigomorfa	Capítulo 3 neste volume
	<i>Diacidia</i>	5	10	zigomorfa	Capítulo 3 neste volume
tetrapteroide	<i>Tetrapterys</i>	1	8	zigomorfa	Souto e Oliveira 2013
	<i>Camarea</i>	6 ou 7	8 ou 0	Zigomorfa	Mamede 1993
stygmaphyllóide	<i>Diplopterys</i>	1	8	zigomorfa	A.C.M.P. Mello, R.F. Almeida, A.M.A. Amorim, e D.M.T. Oliveira (comunicação pessoal)
	<i>Janusia</i>	1	8	zigomorfa	Lorenzo 1981; Souto e Oliveira 2013
	<i>Peixotoa</i>	1	8	zigomorfa	A.C.M.P. Mello, R.F. Almeida, A.M.A. Amorim, e D.M.T. Oliveira (comunicação pessoal)
	<i>Stigmaphyllon</i>	1	8	zigomorfa	A.C.M.P. Mello, R.F. Almeida, A.M.A. Amorim, e D.M.T. Oliveira (personal communication)
<i>Ectopopterys</i> clade	<i>Ectopopterys</i>	1	0	zigomorfa	A.C.M.P. Mello, R.F. Almeida, A.M.A. Amorim, e D.M.T. Oliveira (comunicação pessoal)

<i>Amorimia</i> clade	<i>Amorimia</i>	1	8	zigomorfa	A.C.M.P. Mello, R.F. Almeida, A.M.A. Amorim, e D.M.T. Oliveira (comunicação pessoal)
malpighioi ds	<i>Mascagnia</i>	1	8	zigomorfa	Souto e Oliveira 2013

FIGURAS

Fig. 1 Anatomia da flor estaminada de *Lasiocarpus salicifolius*, Salinas 8241 (A-H) e *L. ferrugineus*, Cuevas 3979 (I) em secção transversal. (A) Aspecto geral do botão floral indicando as alturas das secções transversais. (B) Diagrama representando o padrão de distribuição dos traços de sépala e traços de pétala. (C) Pedicelo vascularizado por sifonostelo. (D-F) Região do receptáculo com a emissão subsequente dos traços medianos de sépala e traços de pétala, alternos entre si. (G) Emissão dos traços de estame; notar que sépalas e pétalas estão individualizadas. (H) Separação dos filetes dos estames; notar a ausência de qualquer vestígio vascular que poderia irrigar o gineceu na porção central do receptáculo. (I) Vista geral de uma antera com presença de alguns cristais próximos ao estômio (setas). an antera, cr cristais, et traço de estame antissépalo, fi filete, pe pétala, pp pétala posterior, pt traço de pétala, re remanescente do receptáculo, se sépala, si sifonostelo, st traço de sépala, tt traço de estame antipétalo. Barras de escala: (A) 1mm, (C-D, I) 100µm, (E-H) 200 µm.

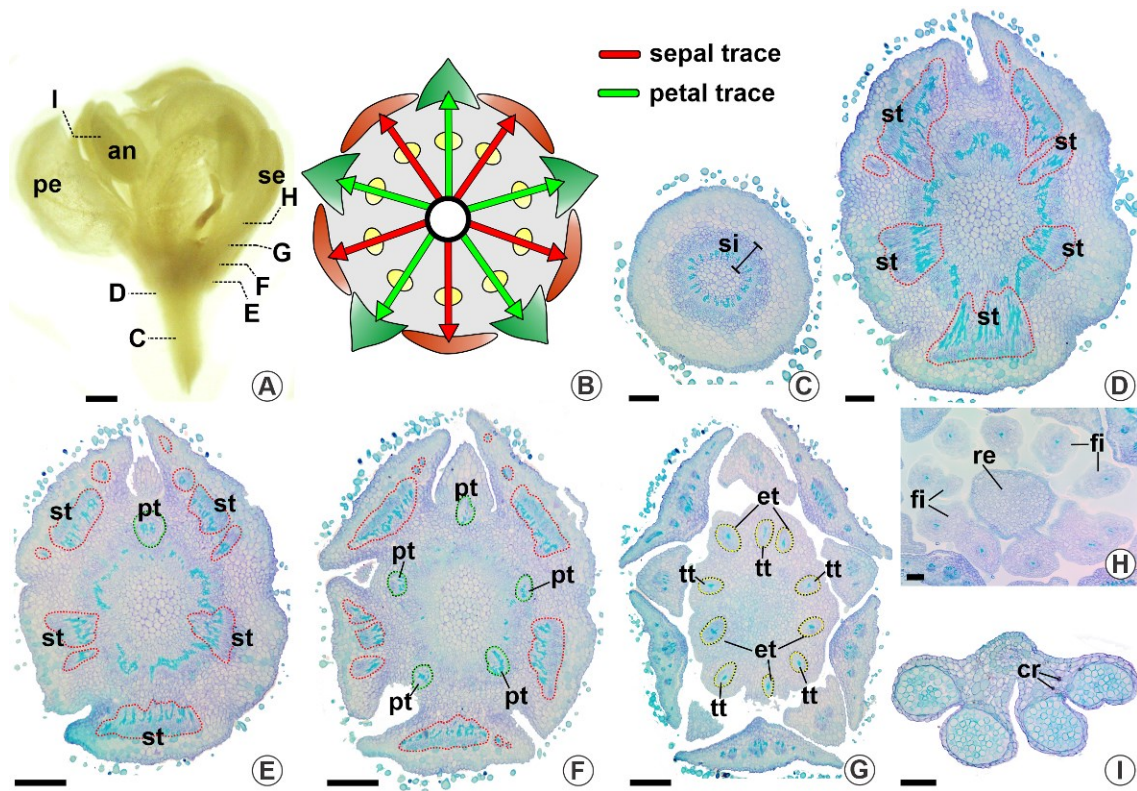


Fig. 2 Anatomia da flor pistilada de *Lasiocarpus salicifolius*, Catalán 559 em secções longitudinal (A, K) e transversais (C-J, L-M). (A) Vista geral do botão floral indicando as alturas das secções transversais. (B) Diagrama representando o padrão de distribuição dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala. (C) Pedicelo vascularizado por eustelo. (D-H) Região do receptáculo; observar a emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala; notar na periferia do receptáculo, unidades vasculares (setas) descontínuas aos traços vasculares. (I-J) Ausência de traço vascular para uma das pétalas. (K-M) Padrão vascular do gineceu na altura do ovário; notar os feixes dorsais diminutos. db feixe dorsal, eu eustelo, ic complexo intercarpelar, lb feixe lateral, ov óvulo, pe pétala, pt traço de pétala, sa seta, se sépala, sl traço lateral de sépala, sp complexo sépala-pétala, st traço mediano de sépala, vb feixe ventral. Barras de escala: (A, C-J) 100µm, (L-M) 200 µm.

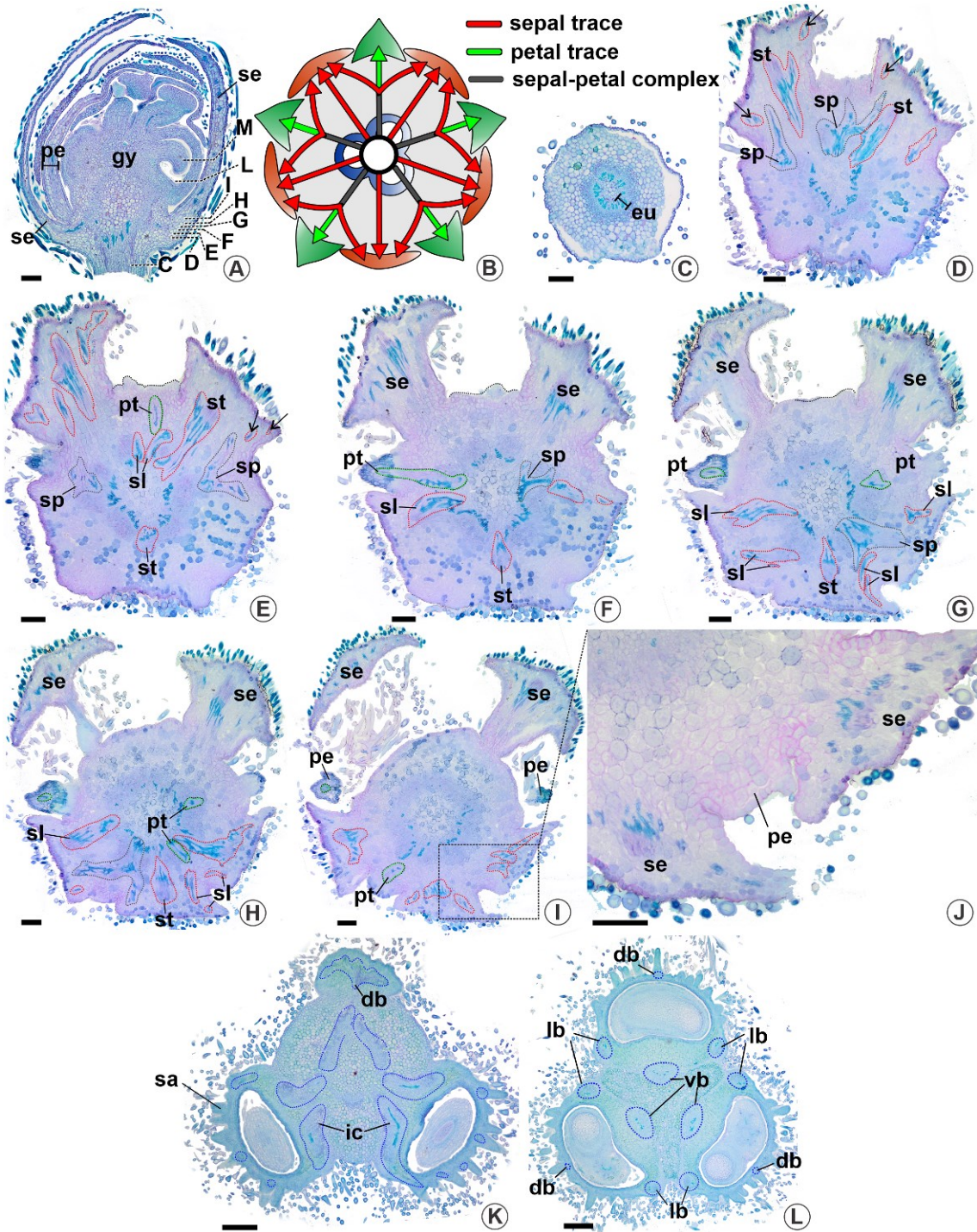


Fig. 3 Anatomia de flor tetrâmera de *Lasiocarpus andersoniorum*, Soto Núñez 8214. Em seção transversal (A) Diagrama representando o padrão de distribuição dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala; notar que uma das sépalas recebe mais traços que as demais. (B) Pedicelo vascularizado por eustelo. (C-H) Receptáculo na altura da emissão dos complexos sépala-pétala e traços medianos de sépala; observar traços descontínuos na periferia do receptáculo (setas) e em G, o detalhe de um deles. (I-J) Receptáculo na altura da emissão dos traços de estame e complexo intersépala; notar que, desse complexo, não é emitido traço de pétala, de modo que a pétala oposta ao complexo não é vascularizada. (K-L) Vascularização do gineceu na altura do ovário. (M-N) Vista geral de anteras; notar que em M é jovem e N em deiscência, respectivamente apresentando ou não cristais no conectivo. an antera, cr cristais, db feixe dorsal, eu eustelo, fi filete, lb feixe lateral, ov óvulo, pe pétala, pt traço de pétala, sa traço de estame, sc complexo intersépala, sl traço lateral de sépala, sp complexo sépala-pétala, st traço mediano de sépala, vb feixe ventral. Barras de escala: (G) 20µm, (B, M-N) 100µm, (C-F, H-L) 200 µm.

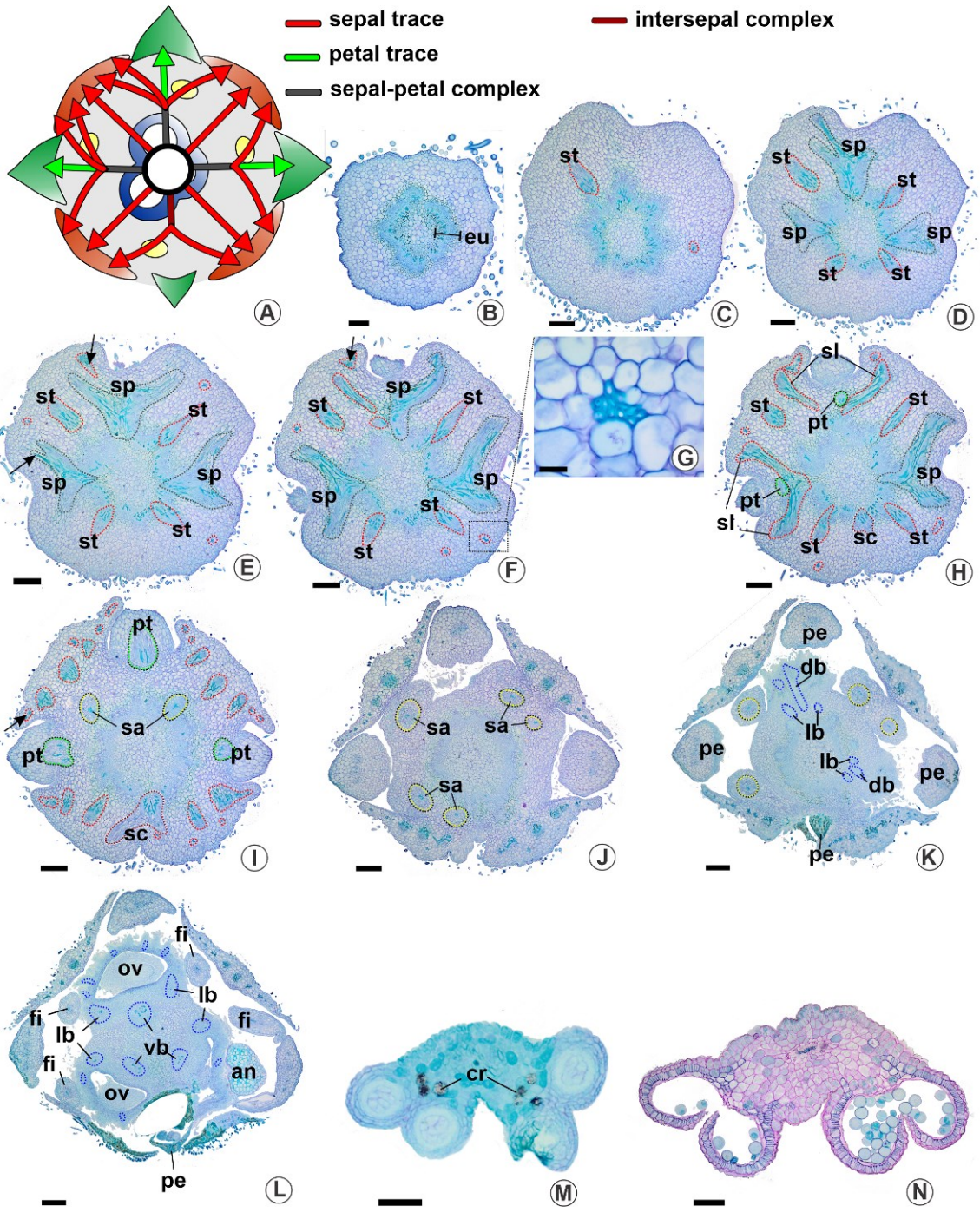


Fig. 4 Anatomia floral de *Ptilochaeta densiflora*, Guedes 850 (A-L), *P. glabra*, Carvalho 90 (M) e *P. bahiensis*, Amorim 11323 (N), em seções transversais (C-D, F-J, L-N) e longitudinal (E). (A) Aspecto geral do botão floral indicando as alturas das seções transversais. (B) Diagrama representando o padrão de distribuição dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala. (C) Pedicelo vascularizado por eustelo. (D-H) Região do receptáculo nas alturas da emissão dos traços medianos de sépala e dos complexos sépala-pétala; em E, notar a emissão de traços em direção a periferia do receptáculo. (I) Receptáculo na altura da emissão dos traços de estame. (J) Separação dos filetes dos estames e individualização do gineceu. (K-L) Detalhe dos carpelos na altura do ovário; notar as setas vascularizadas. (M) Vista geral de uma antera com presença rara de cristais (setas). eu eustelo, et traço de estame antissépalo, ic complexo intercarpelar, lb feixe lateral, pe pétala, pt traço de pétala, sa seta, se sépala, sl traço lateral de sépala, sp complexo sépala-pétala, st traço mediano de sépala, sy estigmas, tt traço de estame antipétalo, vb feixe ventral. Barras de escala: (A) 1mm, (C, E, M-N) 100µm, (F-L) 200 µm.

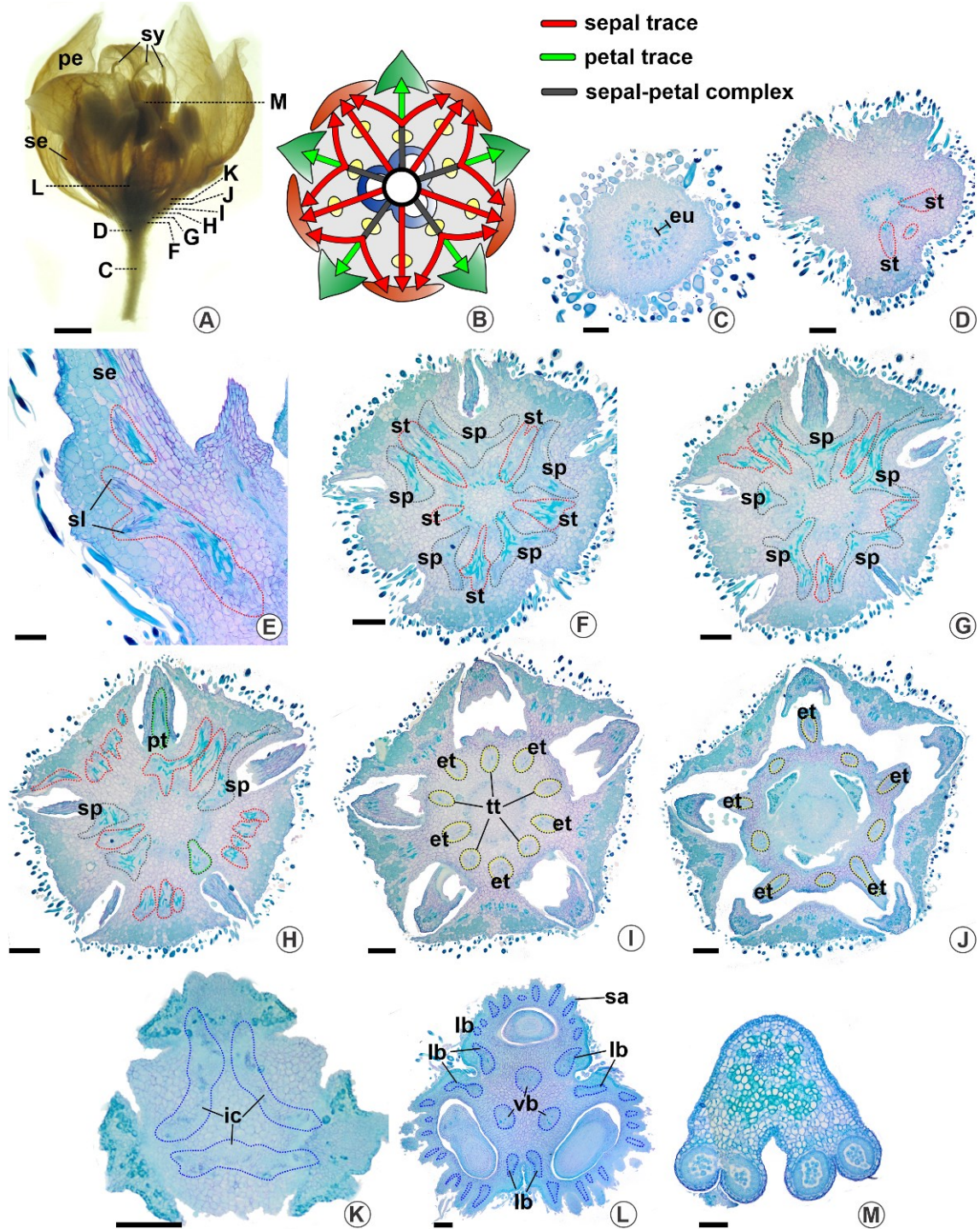
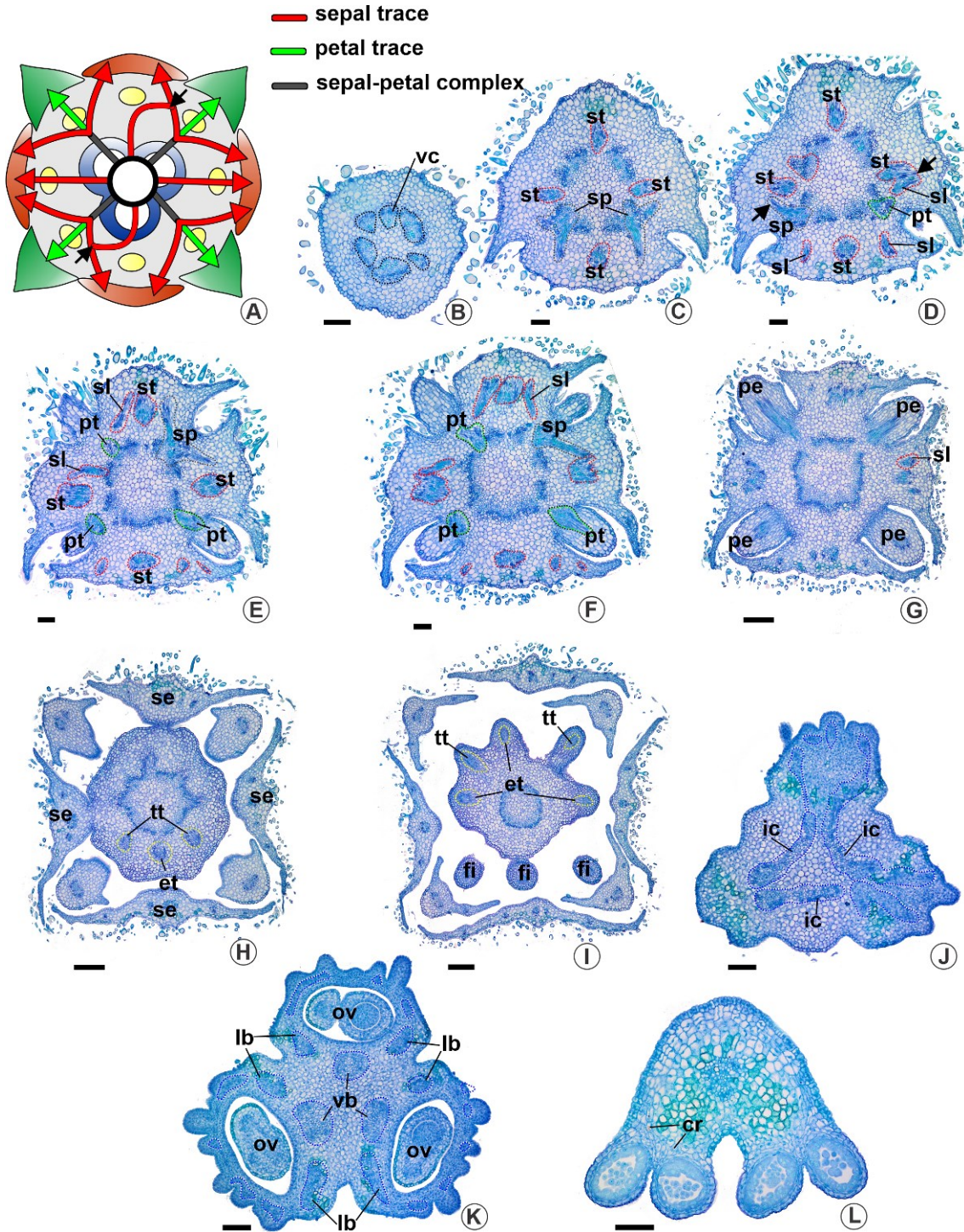


Fig. 5 Anatomia de flor tetrâmera de *Ptilochaeta bahiensis*, Amorim 11326 em seção transversal. (A) Diagrama em secção transversal representando o padrão de distribuição dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala. (B) Pedicelo vascularizado por eustelo. (C-F) Receptáculo na altura da emissão e ramificação dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala; em D, observar a fusão de traços laterais de sépala aos traços medianos de sépala. (G) Receptáculo na altura em que os traços de pétala chegam na base das pétalas. (H-I) Receptáculo na altura da emissão dos traços de estame antissépalos e antipétalos. (J-K) Vascularização do gineceu. (L) Vista geral de uma antera; notar presença de cristais próximos ao estômio. Setas indicam fusão entre o traço mediano de sépala e traços laterais de sépala, cr cristais, et traço de estame antissépalo, eu eustelo, fi filete, ic complexo intercarpelar, lb feixe lateral, ov óvulo, pe pétala, pt traço de pétala, se sépala, sl traço lateral de sépala, sp complexo sépala-pétala, st traço mediano de sépala, tt traço de estame antipétalo, vb feixe ventral, vc cilindro vascular. Barras de escala: (B-F, J-L) 100µm, (G-I) 200 µm.



CAPÍTULO V

A supressão dos elaióforos nas Malpighiaceae neotropicais - evidências da vascularização floral

Manuscrito apresentado segundo as normas do periódico

American Journal of Botany

A supressão dos elaióforos nas Malpighiaceae neotropicais - evidências da vascularização floral

Stéphani Karoline Vasconcelos Bonifácio^{1*}, André Márcio Amorim², Denise Maria Trombert Oliveira¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, PlantSeR Lab, Avenida Antônio Carlos, 6627, Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

² Universidade Estadual de Santa Cruz Departamento de Ciências Biológicas, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, 45600-970, Ilhéus, Bahia, Brasil.

*skvbonifacio@gmail.com

Running title: Eglandular calyx vasculature in Malpighiaceae

RESUMO

Premissas: A vascularização floral é tradicionalmente utilizada para inferir estados ancestrais da flor, mas poucos trabalhos a utilizam para testar hipóteses sobre processos evolutivos que refletem em estados derivados. Selecionamos todos os gêneros de Malpighiaceae neotropicais sem elaióforo, característica que diverge do conservantismo floral da família. Propomos uma interpretação evolutiva para explicar os cálices eglandulares nessas linhagens e testamos a seguinte hipótese: cálices eglandulares são resultantes de conação e gêneros que apresentam ou não elaióforos, a causa da supressão é a redução.

Métodos: Parte dos dados foi obtida neste trabalho usando técnicas usuais para microscopia de luz, enquanto o restante foi compilado da literatura. A análise evolutiva deu-se pela anatomia comparada dos feixes vasculares que irrigam os elaióforos.

Resultados: A conação está relacionada aos gêneros *Coleostachys* e *Galphimia*, e é sucedida pela redução. Há indícios de que os demais gêneros eglandulares, *Echinopterys*, *Ectopopterys*, *Lasiocarpus*, *Ptilochaeta*, *Psychopterys* e *Thryallis* perderam seus elaióforos por meio da redução, situação semelhante a gêneros que apresentam os morfos glandular e eglandular. Além disso, a formação de complexo vascular que irriga as peças do cálice e corola é uma constante entre espécies e clados e sua variação só foi reportada em *Pterandra pyroidea*, que tem migrado para uma síndrome generalista de polinização.

Conclusões: O cálice eglandular é homoplástico, resultante de processos de redução, precedidos ou não por conação. A vascularização é o sistema mais conservado da flor e sugere que os elaióforos são estruturas filogeneticamente bem estabelecidas, pois, mesmo ausentes, podem deixar vestígios vasculares.

Palavras-chave: conação, elaióforo, flores de óleo, hiraeroide, Malpighiales, redução, stigmaphylloide, tetrapteroide, tristellatoide.

INTRODUÇÃO

Classicamente, a vascularização floral é considerada a parte mais conservada de uma flor (Henslow, 1888; Arber, 1913). Em muitos casos em que órgãos florais são perdidos filogeneticamente, ainda é possível observar traços (ou feixes) vasculares remanescentes, mesmo que os órgãos sejam completamente suprimidos externamente (Puri, 1951). Embora a

vascularização floral não seja instrumento para solucionar problemas filogenéticos, é capaz de trazer importantes contribuições taxonômicas (Schmid, 1972), por exemplo, ao inferir a origem ontogenética de determinados órgãos florais a partir da identidade dos feixes que os irrigam (De-Paula et al., 2011; Sajo et al., 2016, entre outros) ou reconhecer processos de fusão e redução (p.ex., Leme et al., 2018). Assim, muitas vezes é possível verificar, por meio do curso dos feixes vasculares, evidências das condições ancestrais da flor (Puri, 1951).

Esse tipo de inferência tem sido utilizada para linhagens neotropicais de Malpighiaceae, têm demonstrado que o conservantismo da morfologia floral em espécies da família também é expresso na anatomia vascular (Souto e Oliveira 2013; Mello, 2017, Bonifácio et al., 2021, Capítulo III neste volume). Mesmo as linhagens que perderam os elaióforos e a zigomorfia da corola (Bonifácio et al., Capítulo IV neste volume) ainda podem exibir o mesmo padrão vascular que aqueles taxa com a arquitetura floral típica de Malpighiaceae.

A supressão dos elaióforos (glândulas calicinais) parece ser um processo em andamento em Malpighiaceae (Bonifácio et al., Capítulos III e IV neste volume) e acontece de forma independente, pois linhagens neotropicais da família que têm ou não elaióforos estão organizadas em diferentes posições filogenéticas, como sintetizado na Fig. 1. Para explicar a supressão dos elaióforos, Bonifácio et al. (2021) analisaram a anatomia vascular de três gêneros pertencentes ao clado acmantheroide, por possuírem todos os estados relacionados à ocorrência dessas glândulas: *Coleostachys* (eglandular), *Acmanthera* (10 glandular) e *Pterandra* (com morfos glandular e eglandular). Baseados em observações empíricas, no que a literatura tratava sobre a origem da sépala anterior eglandular (Souto e Oliveira, 2013) e na posição intersepalar dos elaióforos (Vogel 1990; Castro et al., 2001). Bonifácio et al. (2021) propuseram duas hipóteses que poderiam explicar o cálice eglandular: 1- a supressão por meio da redução dos elaióforos, observada em *Pterandra pyroidea*, e 2- a supressão por meio da conação de sépalas adjacentes, observada em *Coleostachys genipifolia*. Para ambas as situações, ocorre conação primária entre todas as sépalas, pois estas compartilham a origem de seus traços laterais (Bonifácio et al., 2021).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi inferir os processos evolutivos envolvidos na perda dos elaióforos em gêneros neotropicais eglandulares de Malpighiaceae. Para tanto, coletamos dados inéditos para todos os gêneros eglandulares, além de dados disponíveis na literatura e, então, testamos a hipótese de que cálices eglandulares são produtos de conação e que nos gêneros que apresentam ou não os elaióforos, a causa da perda dessas estruturas é a redução.

MATERIAL E MÉTODOS

Para inferir se a conação era a responsável por espécies com cálice eglandular analisamos a vascularização floral dos oito gêneros neotropicais eglandulares de Malpighiaceae (Fig. 1). Avaliamos neste trabalho espécies dos gêneros *Thryallis*, *Echinopterys* e *Psychopterys*. Dados dos representantes dos demais gêneros foram obtidos por meio de literatura sobre o tema - *Coleostachys* (Bonifácio et al., 2021), *Galphimia* (Bonifácio et al., Capítulo III neste volume), *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* (Bonifácio et al., Capítulo IV neste volume) e *Ectopopterys* (Mello, 2017).

Já para estimar a redução em gêneros onde determinadas espécies podem ou não ter elaióforos, selecionamos espécies representantes dos gêneros *Carolus* e *Heteropterys* além de *Diplopterys lutea*, uma espécie eglandular presente em uma linhagem majoritariamente com cálice glandular. Para outros gêneros nos quais há cálices glandulares e eglandulares, utilizamos dados de literatura: *Diplopterys pubipetala* (Mello, 2017), *Byrsonima* (Bonifácio et al., Capítulo III neste volume), *Pterandra* (Bonifácio et al., 2021) - e A lista completa de todos os materiais estudados neste trabalho pode ser consultada na Tabela 1.

Para a obtenção dos dados originais de vascularização floral, o material consistiu de botões florais próximos à antese, coletados em campo ou provenientes de material herborizado, como indicado na Tabela 1. Aqueles coletados em campo foram fixados em formaldeído-ácido acético-álcool etílico 50% por 48h (Johansen 1940) e, posteriormente, armazenados em etanol 50%. Já materiais vindos de exsiccatas, foram submetidos à técnica de reversão da herborização (Smith e Smith, 1942 modificado por Mello et al., 2019), e armazenados em etanol 70%.

Para ambos os casos, os botões florais foram desidratados em série etílica, incluídos em (2-hidroxietil)-metacrilato Leica (Paiva et al., 2011) e seccionados em micrótomo rotativo Zeiss Hyrax M40 com 10µm de espessura. Os cortes foram corados com azul de toluidina 0.05% em pH 4.7 em tampão acetato (O'Brien et al., 1964 modificado), e montados com água.

As imagens foram obtidas em fotomicroscópio Olympus CX41 com câmera LC20 acoplada. Posteriormente, foram reunidas pelo software Image Composite Editor 2015, tratadas no Corel PhotoPaint 2020 e organizadas no Corel Draw 2020.

RESULTADOS

Gêneros eglandulares

Entre os gêneros eglandulares aqui estudados, observamos dois padrões de vascularização do cálice: o padrão 1 é presente em *Echinopterys* (clado tristellateioide) (Fig. 2A) e *Psychopterys* (clado hiraeoide) e se caracteriza pela emissão de traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala. Em *Thryallis* (clado tristellateioide), por outro lado, é descrito o padrão 2, no qual há traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala-estame antipétalo (Fig. 3A).

Para representar o padrão 1, é descrita a vascularização floral de *Echinopterys eglandulosa*. Nesse padrão, no pedicelo observa-se o eustelo (Fig. 2B). Na altura do receptáculo, são emitidos, concomitantemente, cinco traços medianos de sépala e cinco complexos sépala-pétala (Fig. 2C) alternados entre si. Os traços medianos migram diretamente para as sépalas (Fig. 2D), enquanto os complexos sépala-pétala ramificam-se lateralmente (Fig. 2E). Dos complexos sépala-pétala, diferenciam-se dois traços laterais de sépalas adjacentes e o traço de pétala (Fig. 2F-G). Antes mesmo dos traços laterais migrarem para as sépalas, é possível observar um traço isolado em cada uma das sépalas (Fig. 2C, F). *Psychopterys dipholiphylla* segue o mesmo padrão, mas, diferentemente, esses traços isolados são ausentes. Nessas espécies, os traços de estames antipétalos e antissépalos provêm diretamente do cilindro vascular (Fig. 2H). Na altura do ovário, cada carpelo é vascularizado por um feixe ventral e dois laterais; e nessa altura, é possível observar que os filetes são conatos (Fig. 2I). O androceu é composto por dez estames com anteras em diferentes alturas ao redor dos estigmas (Fig. 2J).

Em *Thryallis brachystachys*, *T. laburnum* e *T. longifolia*, o padrão vascular manteve-se constante, sendo observada, apenas, diferença quanto ao número de carpelos férteis nas espécies. No gênero, os complexos que irrigam o perianto, além de vascularizarem o cálice e a corola, também irrigam os estames antipétalos. No pedicelo, o cilindro vascular é eustélico (Fig. 3B). No receptáculo, são emitidos cinco traços medianos de sépala e, intercalados a eles, cinco complexos sépala-pétala-estame antipétalo (Fig. 3C). Cada complexo se divide, na sua extremidade, em três ramos na periferia receptacular, na mesma altura em que os traços de estame antissépalos são emitidos (Fig. 3D). Cada uma das três extremidades de cada complexo constitui um traço lateral de sépala, enquanto a porção mediana do complexo se diferencia, na mesma altura, externamente em traço de pétala e internamente em traço de estame antipétalo (Fig. 3E-F).

O número de traços laterais que cada sépala recebe varia de acordo com sua posição no cálice: as duas sépalas mais externas recebem quatro traços laterais, enquanto aquela com

apenas uma margem recoberta pelas demais sépalas recebe três e as duas sépalas totalmente internas apenas dois traços laterais (Fig. 3G-H). Na altura do ovário, cada carpelo é irrigado por um feixe ventral e numerosos feixes laterais (Fig. 3h). Sequencialmente, são observados dez estames (Fig. 3I). Em *T. laburnum*, registramos apenas um carpelo fértil (Fig. 3J), o qual é vascularizado como nas outras espécies de *Thryallis* enquanto cada carpelo infértil, de lóculo suprimido, exibe um traço ventral e dois laterais (Fig. 3K), mas todas as demais estruturas são idênticas, inclusive é mantido o número de estames (Fig. 3L).

Gêneros com morfo glandular e eglandular

Nas espécies amostradas em que ocorrem morfos eglandulares e glandulares, *Carolus chrolocarpus* e *Heteropterys imperata* (clado tetrapteroide), e na espécie eglandular pertencente a gênero majoritariamente glandular, *Diplopterys lutea* (clado stigmaphylloide), verificamos o padrão 2 de vascularização (Fig. 4A e Fig. 5A). Em *Carolus* e *Heteropterys*, estão presentes oito glândulas, e não há diferença marcante quanto à vascularização entre os morfos glandular e eglandular. Nos seus morfos eglandulares e em *Diplopterys lutea*, não são observados traços isolados na periferia do receptáculo mas há redução do número de traços laterais de sépala emitidos por cada complexo.

Para representar a vascularização nos casos com dois morfos, é descrita a vascularização floral de *Carolus chlorocarpus*. No morfo glandular, o pedicelo exibe cilindro vascular do tipo eustelo (Fig. 4B). Há emissão, concomitante e alternada, de traços medianos de sépala e de complexos sépala-pétala-estame antipétalo (Fig. 4C). Os traços medianos de sépala migram diretamente em direção às sépalas, enquanto cada um dos complexos divide-se; deles, partem dois traços laterais de sépala, irrigando duas sépalas adjacentes, onde emitem traço para as glândulas, bifurcando no interior delas (Fig. 4C-E). Da região mediana de cada complexo se diferencia na mesma altura, externamente, o traço de pétala e, internamente, o traço de estame antipétalo; os traços de estame antissépalo partem diretamente do cilindro vascular (Fig. 4F-G). Os traços laterais de sépala da sépala anterior são emitidos como nas demais (Fig. 4F). Na altura do ovário, cada carpelo é irrigado por um feixe ventral e dois feixes laterais e, ao redor do ovário, o androceu exibe filetes conatos (Fig. 4H). Apicalmente, é possível observar as dez anteras, dispostas em diferentes alturas (Fig. 4I).

Também no morfo eglandular, o cilindro vascular no pedicelo é eustélico (Fig. 5B). Na região mais basal do receptáculo não são observados traços na periferia (Fig. 5C). Acima, são emitidos primeiramente os traços medianos de sépala, sendo observáveis os traços laterais de sépala (Fig. 5D). Em seguida, são emitidos os complexos sépala-pétala-estame antipétalo

(Fig. 5E). Cada complexo se ramifica, emite dois traços laterais de sépala, na região mediana externamente parte o traço de pétala e internamente o traço de estame antipétalo; os traços de estame antissépalo partem diretamente do cilindro vascular (Fig. 5F-H). Os traços laterais de sépala para a sépala anterior são emitidos como nas demais (Fig. 5G). Na altura do ovário, cada carpelo é vascularizado por um feixe ventral e dois feixes laterais, e o androceu exhibe filetes conatos (Fig. 5I-J). Acima, é possível observar dez anteras dispostas em diferentes alturas (Fig. 5K).

DISCUSSÃO

Os dois principais padrões vasculares florais observados em nossos resultados e na literatura, envolvem a emissão de complexos vasculares comuns ao cálice e à corola (Souto e Oliveira, 2013; Mello, 2017; Bonifácio et al., 2021, Capítulos III e IV deste volume). Notadamente, são os verticilos nos quais a pressão seletiva atua, em Malpighiaceae, por meio do mutualismo planta-polinizador: no cálice, pela presença dos elaióforos, e na corola, pela simetria, que atrai as abelhas coletoras de óleo (Davis et al., 2014). Não sem motivo, a maior variabilidade observada na vascularização do perianto ocorreu em *Pterandra pyroidea* (Bonifácio et al., 2021), espécie que a literatura registra que tem experimentado novas pressões seletivas, trocando a recompensa floral de óleo por pólen (Cappellari et al., 2011).

Tamanha homogeneidade na vascularização do perianto de Malpighiaceae é reflexo da sua morfologia externa e demonstra, mais uma vez, o seu conservantismo (Anderson 1979). Assim, ainda que não sejam órgãos, mas estruturas anexas das sépalas (Bonifácio et al., Capítulo III neste volume), os elaióforos são evolutivamente muito bem estabelecidos, de maneira que exibem sinal filogenético, não sendo estruturas tão lábeis como Davis e Anderson (2010) e Davis et al. (2014) vinham sugerindo. Ainda que a anatomia vascular não forneça informações que possam resolver os problemas filogenéticos de Malpighiaceae, uma vez que sua distribuição é homoplástica, é capaz de revelar as mudanças por trás da perda dos elaióforos nas diferentes linhagens eglandulares.

Assim, considerando as modificações do plano básico da vascularização floral por meio da redução ou fusão (Puri, 1951), já aplicadas à supressão dos elaióforos no clado de Malpighiaceae (Bonifácio et al., 2021), propomos uma hipótese evolutiva detalhada para o cálice eglandular nas demais linhagens da família (Fig. 6).

Partindo da condição 10-glandular como a plesiomórfica (Souto e Oliveira, 2013; Bonifácio et al., 2021), o padrão de vascularização do perianto com emissão de complexos sépala-pétala (padrão 1) é a condição ancestral para a família. O padrão 1 está distribuído

desde os clados mais basais, p.ex. byrsonimoide e galphimioide (Bonifácio et al., Capítulo III neste volume), até os mais derivados como os gêneros *Amorimia* (clado malpighioide) e *Ectopopterys* (Mello, 2017). Assim, os complexos que irrigam o perianto e parte do androceu (padrão 2) representam derivações do padrão 1. Porém, em ambos os padrões, os traços laterais de sépala são provenientes de estruturas compartilhadas com a corola. Cada traço lateral de sépala, por sua vez, bifurca de maneira que os dois feixes laterais de sépalas adjacentes mais próximos entre si irrigam as glândulas, como ilustrado na Fig. 6A. Esses dois feixes laterais de sépala mais próximos entre si representam a evidência vestigial dos elaióforos, inferida pela posição homóloga desses feixes, comparando cálices glandulares e eglandulares. Essa referência topológica é também corroborada pelo desenvolvimento dos elaióforos na porção nas extremidades marginais das sépalas (Bonifácio et al., Capítulo III neste volume). A orientação espacial desses feixes depende da altura da inserção dos elaióforos nas sépalas, podendo ser basípeta, quando concrecidos ao receptáculo, como em *Acmanthera latifolia* (A.Juss.) Griseb. (Bonifácio et al., 2021), ou acrópeta, quando sua inserção é paralela à inserção das sépalas, como em *Janusia mediterranea* (Vell.) W.R.Anderson (Souto e Oliveira, 2013). Assim, analisando os feixes laterais mais marginais das sépalas é possível entender como as linhagens neotropicais vêm perdendo os seus elaióforos.

Entre os gêneros eglandulares, tanto a conação quanto a redução estão envolvidas no processo que culmina na perda dos elaióforos (Fig. 6). A conação é o passo primário para o cálice eglandular de *Galphimia* e *Coleostachys* (Fig. 6B-C). Em *Galphimia* (Bonifácio et al., Capítulo III neste volume) dois feixes laterais de sépalas adjacentes irrigam uma mesma glândula (Fig. 6B). Nesse gênero, há a mudança da prefloração imbricada para valvar (Ronse de Craene, 2010), o que pode ter contribuído para a fusão desses feixes. A conação também é aplicável para *Coleostachys* (Bonifácio et al., 2021), em que a prefloração do cálice se mantém imbricada, mas é visível a fusão entre esses feixes laterais mais marginais das sépalas (Fig. 6C). Vale ressaltar, que para todos os gêneros de Malpighiaceae, a conação entre as glândulas é uma condição secundária à conação entre sépalas, pois o reconhecimento do cálice gamossépalo de Malpighiaceae é dificultado pela presença dos elaióforos, mas evidenciado pela vascularização compartilhada na base entre todas as sépalas (Bonifácio et al., 2021).

Para os demais gêneros eglandulares, *Echinopterys*, *Ectopopterys*, *Lasiocarpus*, *Psychopterys*, *Ptilochaeta* e *Thryallis*, a causa da perda dos elaióforos parece ser exclusivamente a redução. Espécies que apresentam morfos glandulares e eglandulares

exibem duas vias distintas que levaram à supressão dos elaióforos. *Pterandra* e *Byrsonima* não apresentam diferenças na vascularização de suas flores eglandulares quando comparadas àquelas glandulares (Fig. 6D). Desse modo, é possível que nas linhagens mais basais, 10-glandulares, a perda dos elaióforos seja restrita aos sistemas fundamental e dérmico, sendo preservada ao nível vascular; na morfologia externa observa-se como se as glândulas tivessem sido completamente suprimidas nos morfos eglandulares. Já *Carolus* e *Heteropterys*, por outro lado, têm cálice 8-glandular, com a sépala anterior sempre eglandular menos vascularizada (Fig. 6E). Como nos morfos eglandulares desses gêneros a emissão para todas as sépalas é semelhante à sépala anterior do morfo glandular, a supressão dos elaióforos é explicada pela completa supressão da morfologia externa e da anatomia, inclusive dos feixes vasculares (Fig. 6F). Situação semelhante foi descrita para sépala anterior em espécies de *Tetrapteryx* e *Janusia* (Souto e Oliveira, 2013).

Para *Thryallis*, o padrão de vascularização parece ser influenciado pela inserção das sépalas no receptáculo, de modo que aquelas sépalas mais externas recebem mais traços que as internas. Nesse sentido, a anatomia vascular sugere que houve redução do número de glândulas, de dez para cinco, e sequente supressão delas, chegando ao estado atual (Fig. 6G-H).

Tal circunstância de redução do número de glândulas parece ser a mesma para *Echinopteryx*. Entretanto, neste caso, a prefloração não influencia a distribuição, pois há vestígios de que todas as sépalas tenham tido, ao menos, uma glândula (Fig. 6I-J). Essa disposição dos elaióforos poderia não influenciar na oferta de óleo, pois, mesmo em menor número, as glândulas podem produzir mais e compensar a ausência de outras, como registrado em *Stigmaphyllon paralias* (Carvalho et al., 2005).

Já em *Diplopteryx lutea* e *Ectopteryx* (Mello, 2017), não há quaisquer vestígios dos elaióforos no cálice (Fig. 6K), indicando que o feixe vascular tenha sido suprimido ao mesmo tempo em que os elaióforos. No entanto, em *Psychopteryx* (Fig. 6L), *Ptilochaeta* (Fig. 6M) e flores pistiladas de *Lasiocarpus* (Fig. 6N), a emissão de complexos sépala-pétala é mantida, o que ressalta a forte expressão filogenética dessa tendência à adnação. Em *Psychopteryx*, inclusive, a expressão dos genes *CYC2A* e *CYC2B* é muito baixa, atuando na região ventral da corola (Zhang et al., 2013), podendo ou não haver mudança em sua simetria (Anderson e Corso, 2007). Já em *Ptilochaeta* (Fig. 6M) e *Lasiocarpus* (Fig. 6N-O), a corola é sempre actinomorfa; já as flores estaminadas de *Lasiocarpus* (Fig. 6O) não apresentam mais indício de adnação entre sépalas e pétalas, não havendo traços laterais de sépala (Bonifácio et al.,

Capítulo IV neste volume), o que poderia representar o passo mais derivado no contexto da supressão dos elaióforos.

CONCLUSÕES

A comparação da vascularização do perianto de todos os gêneros eglandulares neotropicais de Malpighiaceae, permite entender que o cálice eglandular é homoplástico, resultante de processos de redução, precedidos ou não por conação. Além disso, corroboramos que a vascularização é a parte mais conservada de uma flor e a sua análise em linhagens neotropicais de Malpighiaceae destaca como a pressão seletiva atua sobre o cálice e a corola dessa família. Por meio dela, evidencia-se como os elaióforos são significativos evolutivamente para Malpighiaceae, pois é possível observar vestígios dessas glândulas mesmo quando já não são reconhecíveis externamente na flor.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. AMAA e DMTO agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de produtividade em pesquisa (processos 312404/2018-2 e 305686/2018-6 respectivamente). Agradecemos a curadoria e técnicos do Herbário Nacional do México (MEXU) e ao Dr. Marcelo Pace pela obtenção das amostras de *Echinopterys* e *Psychopterys*. Também agradecemos a curadoria do Herbário do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) pela cessão das demais amostras utilizadas.

REFERÊNCIAS

- Almeida, R. F., and C. van den Berg. 2021. Molecular phylogeny and character mapping support generic adjustments in the tetrapteroid clade (Malpighiaceae) *Nordic Journal of Botany* 39: e02876
- Anderson, W. R. 1979. Floral conservatism in neotropical Malpighiaceae. *Biotropica* 11: 219–223. doi: 10.2307/2388042
- Anderson, W. R., and S. Corso. 2007. *Psychopterys*, a new genus of Malpighiaceae from Mexico and Central America. *Contributions University Michigan Herbarium* 25: 113–135
- Arber, A. 1913. On the structure of the androecium in *Parnassia* and its bearing on the affinities of the genus. *Annals of Botany* 27: 491–510. doi:

- 10.1093/oxfordjournals.aob.a089471
- Bonifácio, S. K. V., R. F. Almeida, A. M. A. Amorim, and D. M. T. Oliveira. 2021. Floral synorganization in acmantheroid clade suggests hypotheses to explain elaiophore suppression in Malpighiaceae. *Flora* 281: 151870. doi: 10.1016/j.flora.2021.151870
- Cappellari, S.C., M. A. Haleem, A. J. Marsaioli, R. Tidon, and B.B. Simpson. 2011. *Pterandra pyroidea*: A case of pollination shift within Neotropical Malpighiaceae. *Annals of Botany* 107: 1323–1334. doi: 10.1093/aob/mcr084
- Carvalho, P.D., E. L. Borba, and A. M. Lucchese. 2005. Variação no número de glândulas e produção de óleo em flores de *Stigmaphyllon paralias* A. Juss. (Malpighiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 19: 209–214. doi: 10.1590/S0102-33062005000200002
- Castro, M. A., A. S. Vega, and M. E. Múlgura. 2001. Structure and ultrastructure of leaf and calyx glands in *Galphimia brasiliensis* (Malpighiaceae). *American Journal of Botany* 88: 1935–1944. doi: 10.2307/3558420
- Davis, C. C., and W. R. Anderson. 2010. A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *American Journal of Botany* 97: 2031–2048. doi: 10.3732/ajb.1000146
- Davis, C. C., L. C. Marinho, and A. M. Amorim. 2020a. *Andersoniella*: a new genus of neotropical Malpighiaceae. *Harvard Papers in Botany* 25: 51–56. doi: 10.3100/hpib.v25iss1.2020.n6
- Davis, C. C., L. C. Marinho, and A. M. Amorim. 2020b. *Andersoniodoxa*, a replacement name for *Andersoniella* (Malpighiaceae). *Phytotaxa* 470: 121–122. doi: 10.11646/phytotaxa.470.1.9
- Davis, C. C., H. Schaefer, Z. Xi, D. A. Baum, M. J. Donoghue, and L. J. Harmon. 2014. Long-term morphological stasis maintained by a plant-pollinator mutualism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 5914–5919. doi: 10.1073/pnas.1403157111
- De-Paula, O. C., M. G. Sajo, G. Prenner, I. Cordeiro, and P. J. Rudall. 2011. Morphology, development and homologies of the perianth and floral nectaries in *Croton* and *Astraea* (Euphorbiaceae-Malpighiales). *Plant Systematics and Evolution* 292: 1–14. doi: 10.1007/s00606-010-0388-9
- Henslow, G. 1888. *The origin of floral structures through insect and other agencies*. D. Appleton and Company, New York, pp. 347 doi: 10.5962/bhl.title.24161
- Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, London, pp. 530. doi: 10.2307/3222557

- Leme, F. M., Y.M. Staedler, J. Schönenberger, and S. P. Teixeira. 2018. Ontogeny and vascularization elucidate the atypical floral structure of *Ampelocera glabra*, a tropical species of Ulmaceae. *International Journal of Plant Sciences* 179: 461–476. doi: 10.1086/697899
- Mello, A. C. M. P. 2017. Anatomia foliar e floral de *Amorimia* (Malpighiaceae) e suas aplicações filogenéticas. Dissertação, Universidade Federal de Minas Gerais
- Mello, A. C. M. P., R. F. Almeida, A. M. A. Amorim, and D. M. T. Oliveira. 2019. Leaf structure in *Amorimia* and closely related Neotropical genera and implications for their systematics and leaf evolution in Malpighiaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 191: 102–127. doi: 10.1093/botlinnean/boz028
- O'Brien, T.P., N. Feder, and M.E. McCully. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368–373. doi:10.1007/BF01248568
- Paiva, E.A.S., S.Z. Pinho, and D.M.T. Oliveira. 2011. Large plant samples: how to process for GMA embedding? In: Chiarini-Garcia, H., Melo, R.C.N. (Eds.), *Light microscopy: methods and protocols*. Springer, New York, pp. 37–49. doi:10.1007/978-1-60761-950-5
- Puri, V. 1951. The role of floral anatomy in the solution of morphological problems. *The Botanical Review* 17: 471–553. doi: 10.1007/BF02882536
- Ronse de Craene, L. 2010. *Floral diagrams*. Cambridge University Press, New York pp. 458
- Sajo, M. G., P. L. R. Moraes, L. C. S. Assis, and P. J. Rudall. 2016. Comparative floral anatomy and development in Neotropical Lauraceae. *International Journal of Plant Sciences* 177: 579–589. doi: 10.1086/687281
- Schmid, R. 1972. Floral bundle fusion and vascular conservatism. *Taxon* 21: 429–446.
- Smith, F. H., and E. C. Smith. 1942. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *American Journal of Botany* 29: 464. doi: 10.2307/2437312
- Souto, L. S., D. M. T. Oliveira. 2013. Evaluation of the floral vasculature of the *Janusia*, *Mascagnia* and *Tetrapterys* species as a tool to explain the decrease of floral organs in Malpighiaceae. *Flora* 208: 351–359. doi: 10.1016/j.flora.2013.05.002
- Vogel, S. 1990. History of the Malpighiaceae pollination ecology. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 130–142
- Zhang, W., V. W. Steinmann, L. Nikolov, E. M. Kramer, and C. C. Davis. 2013. Divergent genetic mechanisms underlie reversals to radial floral symmetry from diverse zygomorphic flowered ancestors. *Frontiers in Plant Science* 4: 1–13. doi: 10.3389/fpls.2013.00302

Tabela 1: Espécies cuja vascularização floral foi analisada, originalmente, neste trabalho. Coletores precedidos por asterisco indicam amostras provenientes de coletas em campo.

Clado	Espécie	Coletor (Herbário)	Condição do cálice
Tristellateioide	<i>Echinopterys eglandulosa</i> (A.Juss.) Small	Lott 5844 (MEXU); Hernández 74 (MEXU); Sierra-Muñoz 583 (MEXU); Robert Bye 9230 (MEXU)	Eglandular
	<i>Thryallis brachystachys</i> Lindl.	Favag 322 (CEPEC); Hatschbach 61456 (CEPEC)	Eglandular
	<i>Thryallis longifolia</i> Mart.	*Amorim 10684; *Amorim 10686; Hatschbach 77777 (CEPEC)	Eglandular
	<i>Thryallis laburnum</i> S. Moore	Ramalho 12002 (CEPEC)	Eglandular
Hiraeoide	<i>Psychopterys dipholiphylla</i> Small	Pascual 1005 (MEXU); Fernández 4628 (MEXU); Tejero-Diez 6444 (MEXU)	Eglandular
Tetrapterioide	<i>Carolus chlorocarpus</i> (A.Juss.) W.R.Anderson	Sucre 3139 (CEPEC); Oliveira 326 (CEPEC)	Glandular
		Costa 72 (CEPEC)	Eglandular
	<i>Heteropterys imperata</i> Amorim	*Amorim 10700	Glandular
		*Amorim 10699	Eglandular
Stigmaphylloide	<i>Diplopterys lutea</i> (Griseb.) W.R.Anderson & C. Davis	*Bonifácio 02, *Amorim 10938	Eglandular

FIGURAS

Fig. 1 Distribuição filogenética dos gêneros eglandulares (em vermelho) e gêneros que apresentam morfos glandulares e eglandulares (em azul) em Malpighiaceae. As áreas sombreadas em vermelho indicam os representantes neotropicais enquanto as áreas sombreadas em verde as linhagens paleotropicais. Setas vermelhas apontam para a perda total dos elaióforos e setas azuis aqueles casos em que há ou não perda dos elaióforos. A topologia é um resumo das filogenias obtidas por Davis e Anderson (2010) e incluem os novos gêneros circunscritos por Davis et al. (2020a, 2020b) e Almeida e van den Berg (2021). Politomias foram ocultadas nessa representação.

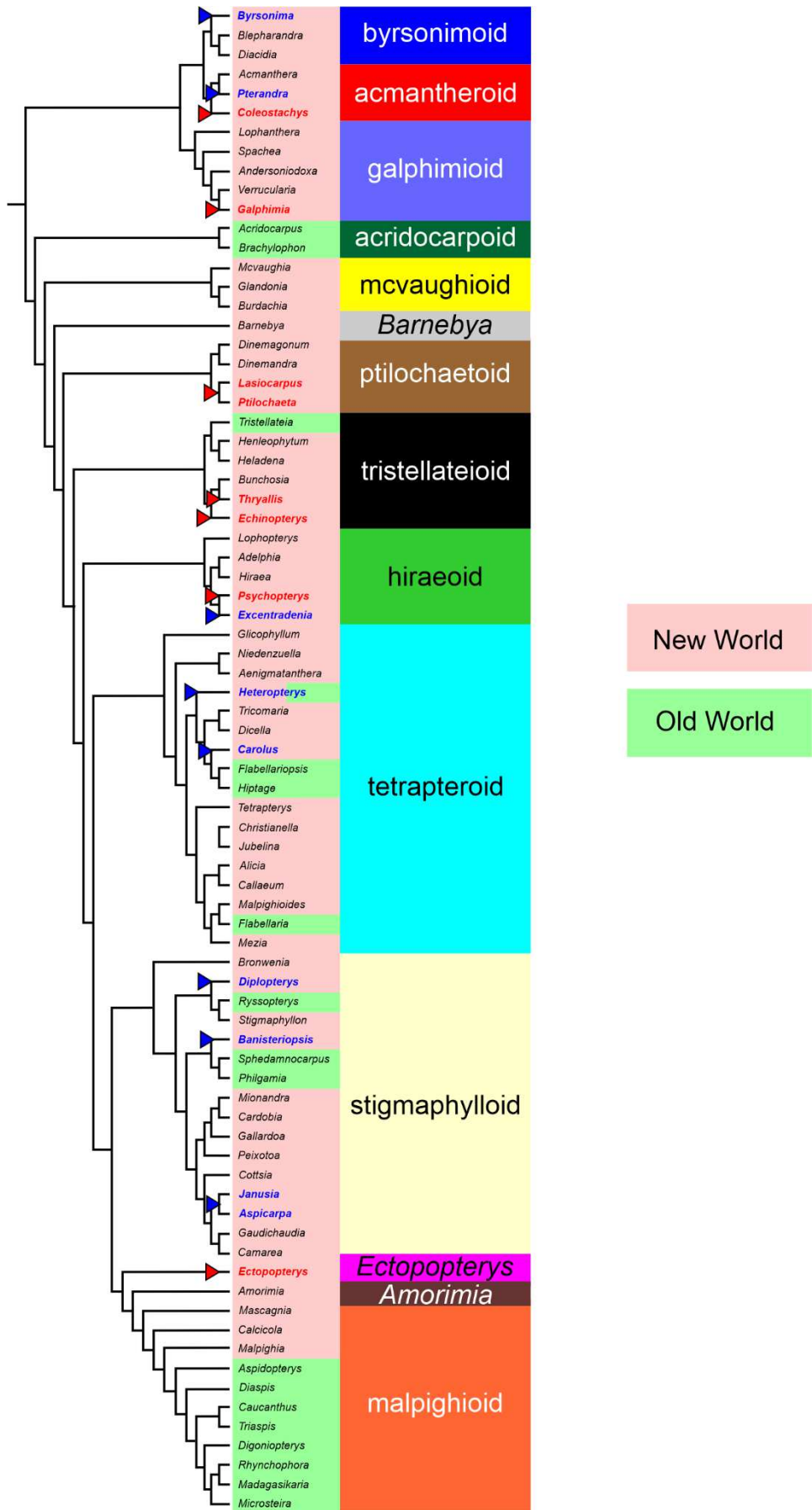


Fig. 2 Vascularização floral no gênero eglandular *Echinopterys* (*E. eglandulosa*). Diagrama (A) e fotomicrografias do botão floral em secções transversais (B-J). As cores representam traços de sépala (vermelho), traços de pétala (verde), complexos sépala-pétala (cinza), traços de estame (amarelo), traços de carpelo (rosa) e cilindro vascular (preto). (A) Diagrama ilustrando o padrão 1 de vascularização para o perianto, envolvendo emissão de cinco traços medianos de sépala intercalados com cinco complexos sépala-pétala. (B) Pedicelo exibindo eustelo. (C-F) Emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala, seguida pela ramificação desses últimos; notar (setas) a presença de unidades vasculares descontínuas na periferia do receptáculo, região onde os traços emitidos para o perianto ainda não chegaram. (G-H) Separação dos traços de pétala a partir dos complexos, simultânea à emissão dos traços de estame a partir do cilindro vascular. (I) Botão floral na altura em que o ovário já está independente; ao redor do ovário observar os filetes conatos. (J) Região apical do botão floral; observar que anteras são dispostas em diferentes alturas. as sépala anterior, et traço de estame antissépalo, fi filete, lb feixe lateral do carpelo, ov ovário, pp pétala posterior, pt traço de pétala, sl traço lateral de sépala, sp complexo sépala-pétala, st traço de sépala, sy estigma, tt traço de estame antipétalo, vb feixe ventral carpelar. Barras de escala: (B) 100µm, demais 200µm.

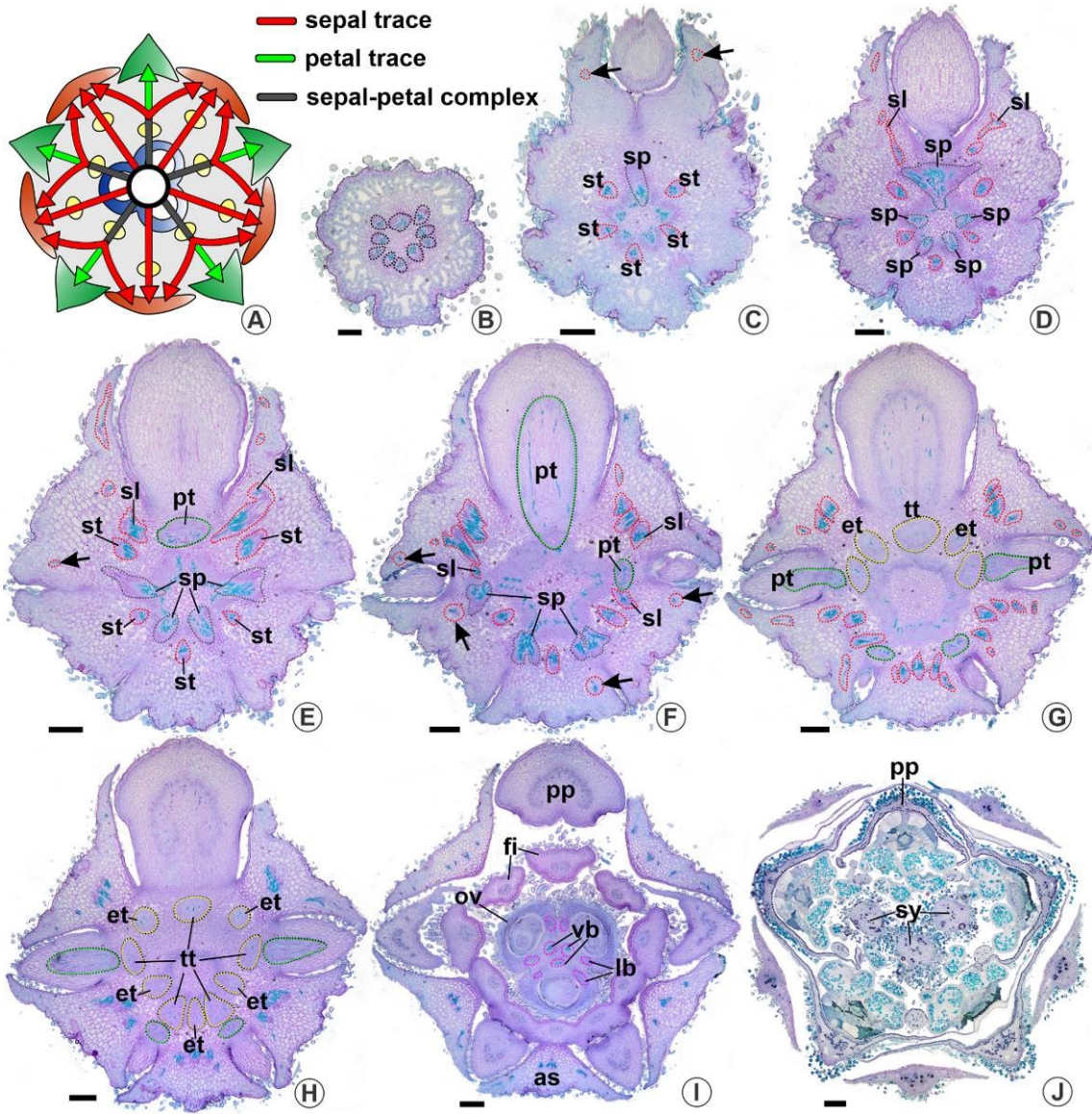


Fig. 3 Vascularização floral no gênero eglandular *Thryallis*, representado por *T. longifolia* (B-I) e *T. laburnum* (J-L). Diagramas (A, E) e fotomicrografias do botão floral em seções transversais (B-D, F-L). As cores representam traços de sépala (vermelho), traços de pétala (verde), complexos sépala-pétala-estame antipétalo (azul), traços de estame (amarelo), traços de carpelo (rosa) e cilindro vascular (preto). (A) Diagrama ilustrando o padrão 2 de vascularização para o perianto, envolvendo emissão de cinco traços medianos de sépala, intercalados com cinco complexos sépala-pétala-estame antipétalo. (B) Pedicelo exibindo eustelo. (C-D) Emissão dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala-estame antipétalo e a ramificação desses últimos; notar (setas) a emissão de três traços laterais de sépala a partir de cada um dos complexos. (E-G) Separação dos traços de pétala e traços de estame antipétalo a partir dos complexos vasculares e emissão dos traços de estame antissépalos a partir do cilindro vascular. (H) Botão floral na altura do ovário; note o hipanto; observe que o número de traços laterais de sépala é variável de acordo com a inserção da sépala (prefloração delimitada por tracejados vermelhos). (I) Vista geral do botão floral; observe as dez anteras. (J-L) Ovário com apenas um carpelo fértil; em K os carpelos estão delimitados por tracejados vermelhos; note em L que há três estigmas. as sépala anterior, et traço de estame antissépalo, hy hipanto, lb feixe lateral do carpelo, ov ovário, pp pétala posterior, pt traço de pétala, ss complexo sépala-pétala-estame antipétalo, st traço de sépala, sy estigmas, tt traço de estame antipétalo, vb feixe ventral carpelar. Barras de escala: (K) 100µm, demais 200µm.

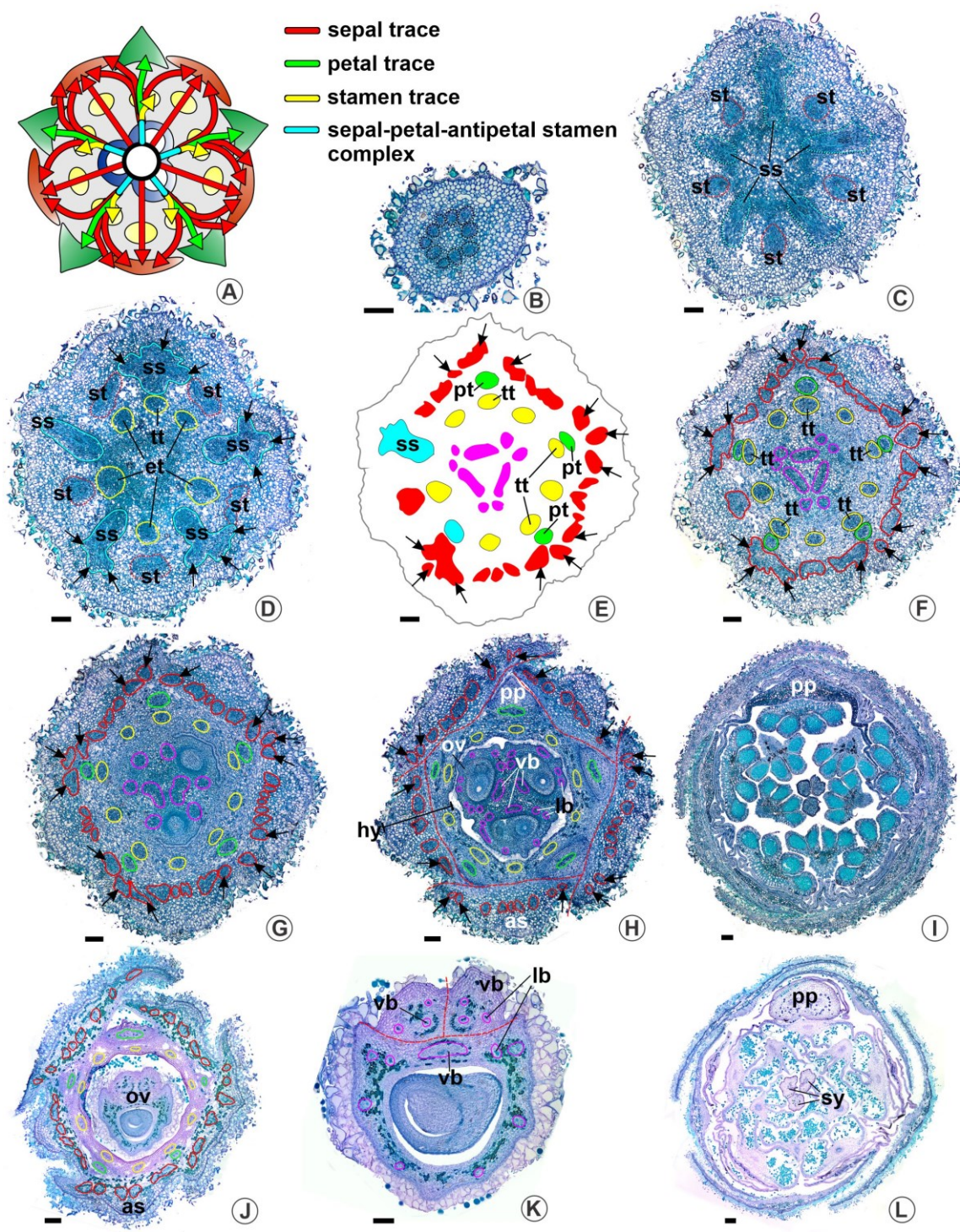


Fig. 4 Vascularização floral do morfo glandular de *Carolus chlorocarpus*. Diagrama (A) e fotomicrografias do botão floral em seções transversais (B-I). As cores representam traços de sépala (vermelho), traços de pétala (verde), complexos sépala-pétala-estame antipétalo (azul), traços de estame (amarelo), traços de carpelo (rosa) e cilindro vascular (preto). (A) Diagrama ilustrando o padrão 2 de vascularização para o perianto, envolvendo emissão de cinco traços medianos de sépala, intercalados com cinco complexos sépala-pétala-estame antipétalo. (B) Pedicelo exibindo eustelo. (C-E) Emissão simultânea e alternada dos traços medianos de sépala e complexos sépala-pétala-estame antipétalo, seguida pela ramificação desses últimos; notar que cada complexo se bifurca em cada lado das suas extremidades (pontas de seta), sendo que um ramo vai diretamente para sépala e o outro se bifurca novamente e irriga uma glândula, exceto na sépala anterior eglandular. (F-G) Separação dos traços de pétala e traços de estame antipétalo a partir dos complexos vasculares e emissão dos traços de estame antissépalos a partir do cilindro vascular. (H) Botão floral na altura do ovário, com feixes carpelares evidentes; notar os filetes conatos. (I) Região apical do botão floral, observar que as dez anteras estão dispostas em diferentes alturas. as sépala anterior, et traço de estame antissépalo, fi filete, gl glândula, lb feixe lateral do carpelo, ov ovário, pp pétala posterior, pt traço de pétala, sl traço lateral de sépala, ss complexo sépala-pétala-estame antipétalo, st traço de sépala, sy estigmas, tt traço de estame antipétalo, vb feixe ventral carpelar. Barras de escala: 200µm.

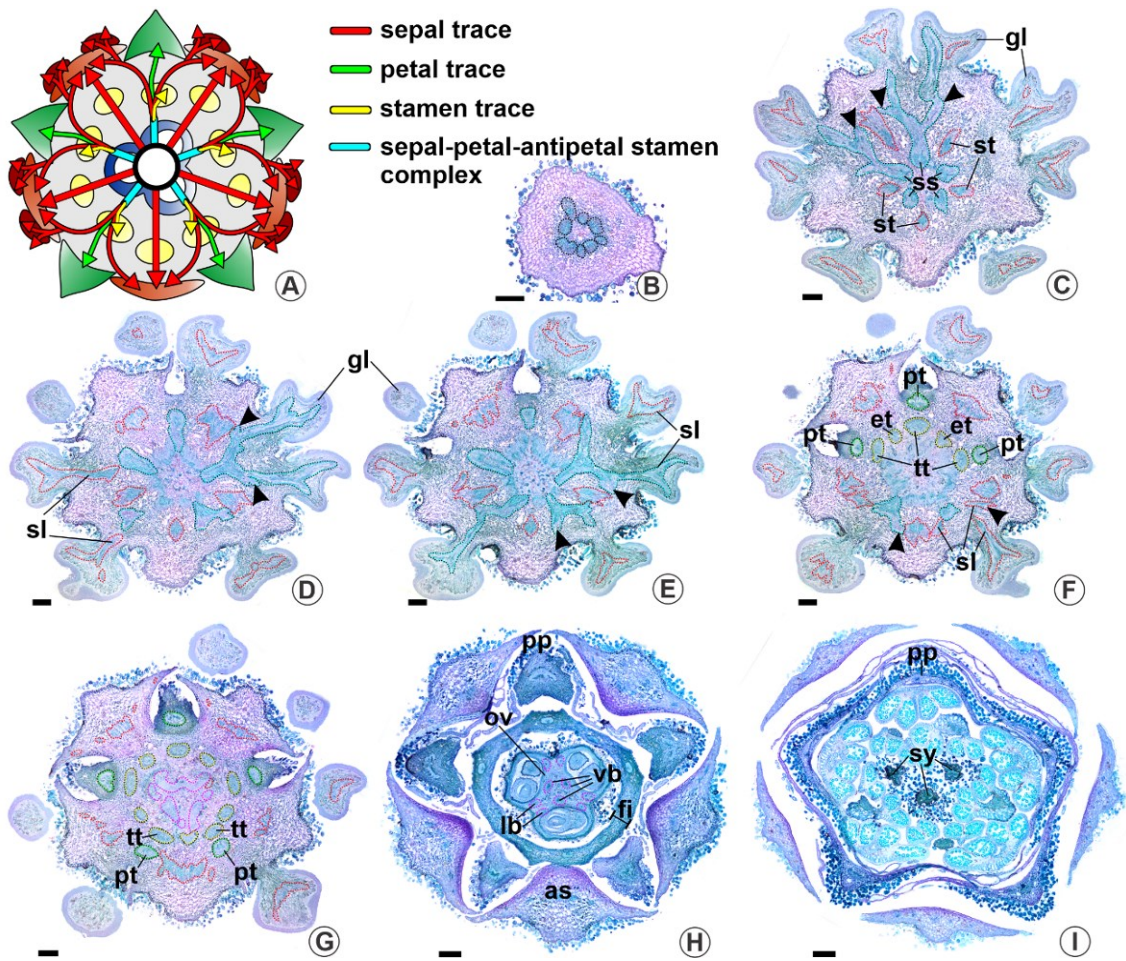


Fig. 5 Vascularização floral do morfo eglandular de *Carolus chlorocarpus*. Diagrama (A) e fotomicrografias do botão floral em secções transversais (B-K). As cores representam traços de sépala (vermelho), traços de pétala (verde), complexos sépala-pétala-estame antipétalo (azul), traços de estame (amarelo), traços de carpelo (rosa) e cilindro vascular (preto). (A) Diagrama ilustrando o padrão 2 de vascularização para o perianto, envolvendo emissão de cinco traços medianos de sépala intercalados com cinco complexos sépala-pétala-estame antipétalo. (B) Pedicelo exibindo eustelo. (C) Região mais basal do receptáculo, observe que não há vestígios dos elaióforos ausentes. (D-F) Emissão simultânea e alternada dos traços medianos de sépala e dos complexos sépala-pétala-estame antipétalo e a ramificação desses últimos. (G-H) Separação dos traços de pétala e traços de estame antipétalo a partir dos complexos vasculares e emissão dos traços de estame antissépalo a partir do cilindro vascular. (I-J) Botão floral na altura do ovário, com feixes carpelares evidentes; notar os filetes conatos. (J) Região apical do botão floral, observar que as dez anteras estão dispostas em diferentes alturas. as sépala anterior, et traço de estame antissépalo, fi filete, lb feixe lateral do carpelo, ov ovário, pp pétala posterior, pt traço de pétala, ss complexo sépala-pétala-estame antipétalo, st traço de sépala, sy estigma, tt traço de estame antipétalo, vb feixe ventral carpelar. Barras de escala: (B) 100µm, demais 200µm.

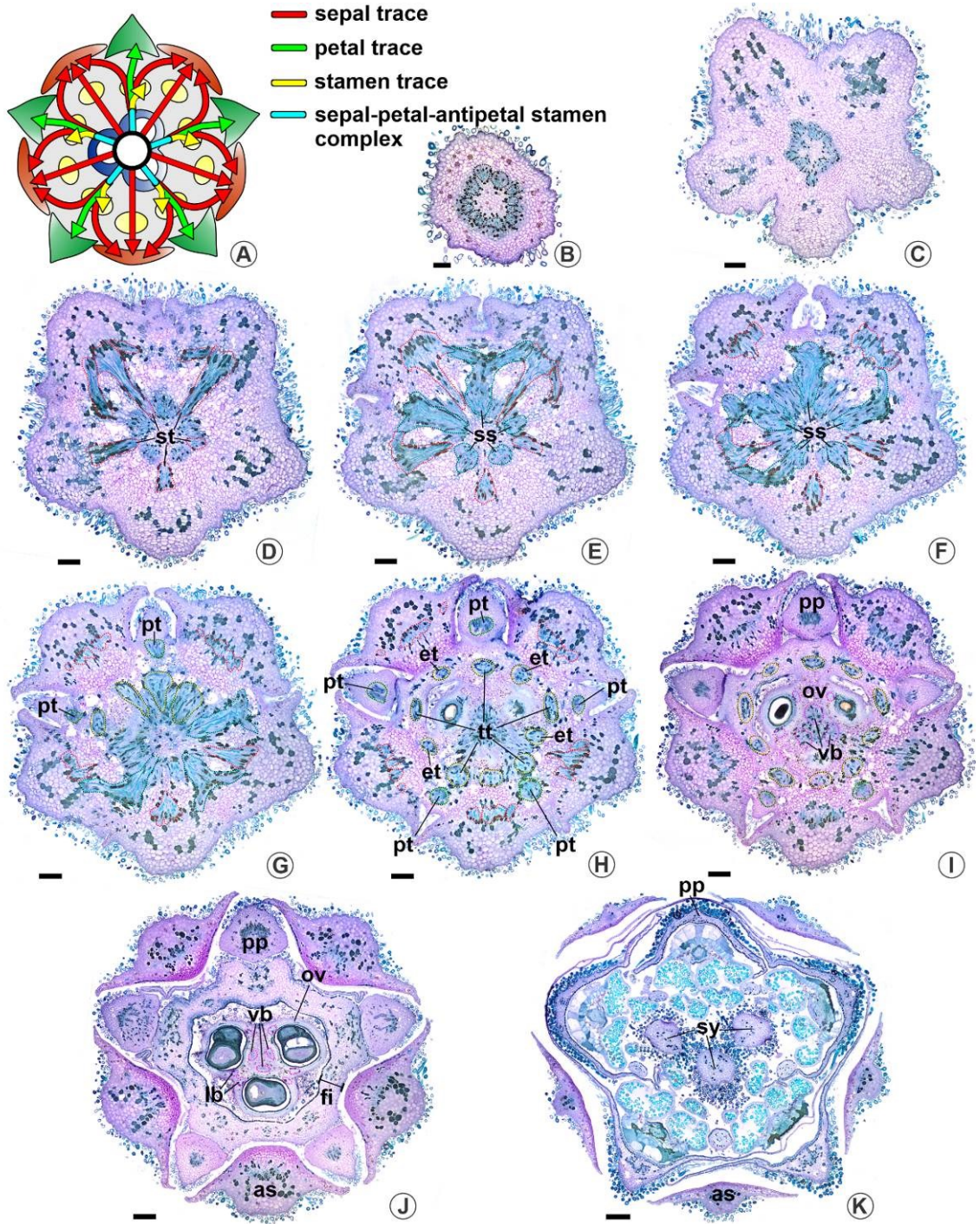
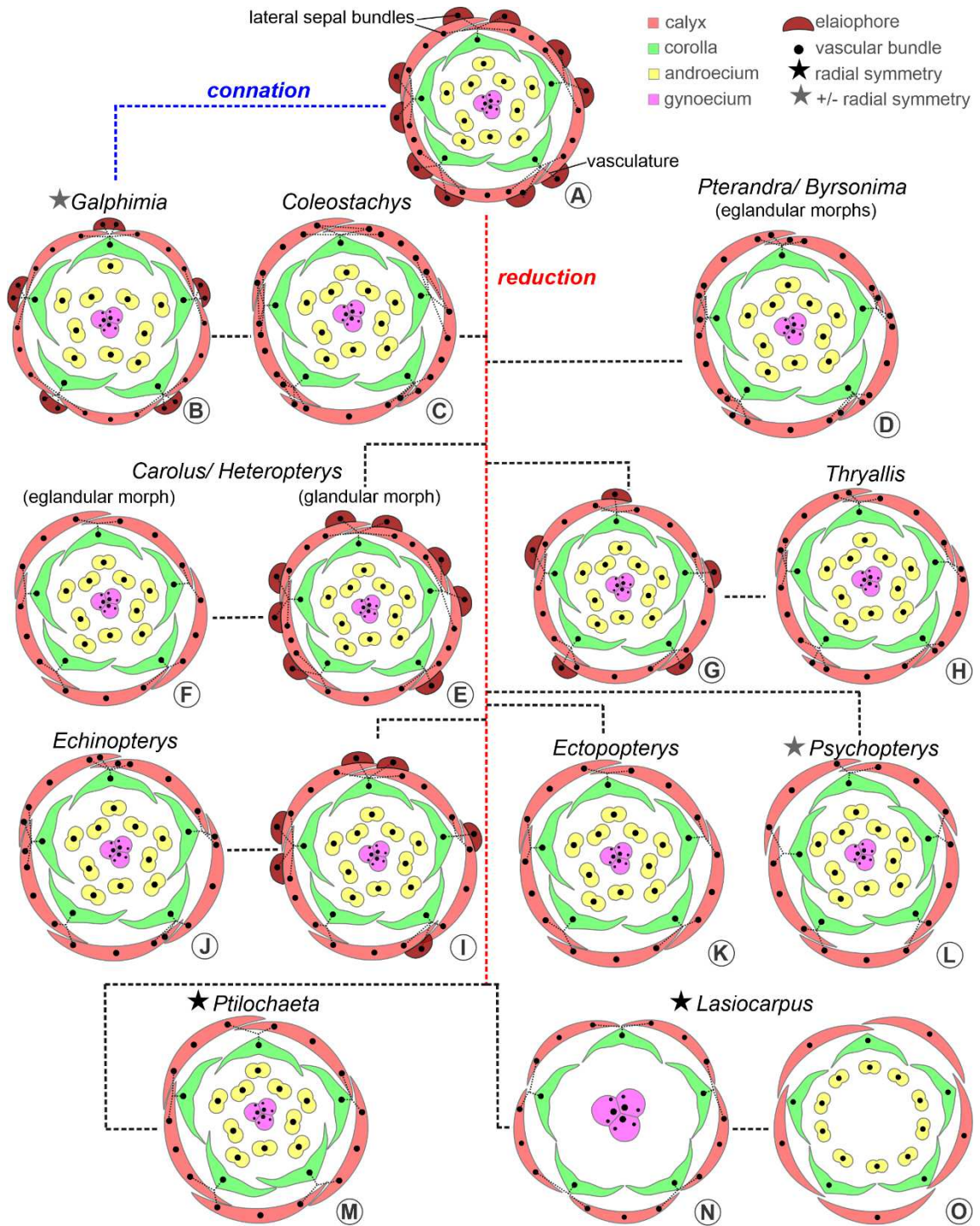


Fig. 6 Estágios evolutivos hipotéticos, evidenciados pela vascularização floral, que culminaram na supressão dos elaióforos em Malpighiaceae. Os tracejados interligando os diagramas indicam processos evolutivos que culminaram no cálice eglandular, envolvendo conação ou redução. Os pontilhados sobre os diagramas representam a vascularização. Os dados utilizados para os gêneros foram obtidos das seguintes fontes: *Coleostachys* e *Pterandra* (Bonifácio et al., 2021); *Byrsonima* e *Galphimia* (Bonifácio et al., Capítulo III neste volume); *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* (Bonifácio et al., Capítulo IV neste volume); *Ectopopterys* (Mello 2017). (A) Estado plesiomórfico da vascularização do perianto de Malpighiaceae: presença de complexos sépala-pétala para todas as sépalas e dez elaióforos no cálice. (B) Presença de cinco elaióforos em *Galphimia*, devido à conação de elaióforos adjacentes; notar a prefloração valvar do cálice. (C) Vascularização de *Coleostachys*, indicando fusão vascular entre sépalas adjacentes e posterior redução dos elaióforos (tracejado para a redução); destaca-se que o padrão observado em *Galphimia* representa um possível estágio anterior para *Coleostachys*. (D) Padrão vascular observado em morfos eglandulares de *Pterandra* e *Byrsonima*, semelhante ao morfo glandular ilustrado em A. (E-F) Padrão vascular observado em morfos glandular e eglandular de *Carolus* e *Heteropterys*, nos quais há a presença de oito glândulas; notar que no morfo eglandular não há vestígios dos elaióforos. (G-H) Reconstrução da supressão dos elaióforos em *Thryallis*, indicando redução total dos elaióforos; em G seria o ancestral hipotético desse gênero; notar que o número de elaióforos por sépala depende da prefloração imbricada. (I-J) Reconstrução da supressão dos elaióforos em *Echinopterys*, indicando redução total dos elaióforos; em I seria o ancestral hipotético desse gênero; notar que pelos vestígios vasculares dos elaióforos não há distribuição igualitária para o cálice. (K) Vascularização floral de *Ectopopterys*, sem vestígios vasculares dos elaióforos. (L) Vascularização floral de *Psychopterys*; notar a mudança da prefloração da corola, se comparada aos outros gêneros. (J) Vascularização floral de *Ptilochaeta*. (M-N) Vascularização floral de *Lasiocarpus*, respectivamente flor pistilada e estaminada; notar a mudança para prefloração valvar do cálice e a redução do número de traços para as sépalas nas flores estaminadas.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, evidenciamos a importância de análises anatômicas para o entendimento da evolução floral em uma das principais linhagens de Malpighiales. A vascularização floral de todos os gêneros eglandulares neotropicais de Malpighiaceae ofereceu elementos sobre estados de ancestralidade em suas flores. Pela identificação dos traços que irrigam os elaióforos em gêneros glandulares, pudemos identificar vestígios de elaióforos perdidos. Assim, a vascularização sugere que a origem do cálice eglandular é homoplástica, resultante de conação e/ou redução. Além disso, a vascularização floral é homogênea na emissão de complexos vasculares compartilhados entre peças do cálice e da corola. Esse padrão se repete em linhagens eglandulares, inclusive com corola actinomorfa, representando um nível mais interno do conservantismo floral das linhagens neotropicais. Portanto, os complexos vasculares reafirmam a conexão entre os verticilos do perianto envolvidos na atração e recompensa aos polinizadores.

Por meio da vascularização floral de Malpighiaceae e de Elatinaceae, inferimos os processos que atuaram para a variação morfológica entre as duas famílias e entendemos como as linhagens neotropicais de Malpighiaceae vêm perdendo seus elaióforos. Além disso, trouxemos informações inéditas sobre a anatomia floral de Elatinaceae. A presença de grãos de pólen germinando no interior da antera, adnação entre androceu e gineceu, redução do número de microsporângios e menor investimento na atração aos polinizadores indicam que Elatinaceae evoluiu em direção à autogamia, contrariamente a Malpighiaceae, que se direcionou para a alogamia.

Também descrevemos dados inéditos para Malpighiaceae, como a presença de hipanto, ocorrência de flores tetrâmeras em duas linhagens neotropicais e a conação lateral das sépalas. Além disso, fornecemos dados para gêneros pouquíssimo conhecidos da família, como *Coleostachys*, *Lasiocarpus* e *Ptilochaeta* – gêneros muito peculiares, é importante destacar.

Adotando o contexto filogenético de Malpighiaceae, entendemos que os elaióforos são homólogos aos nectários sepalares de outras linhagens em Malpighiales, mas não a nectários extraflorais (dispostos em porções vegetativas). Desse modo, verificamos que o surgimento das glândulas de óleo de Malpighiaceae tem bases evolutivas mais antigas do que a literatura vinha sugerindo.

Por isso, acreditamos que este trabalho abre muitas perspectivas para estudos futuros sobre a evolução floral em Malpighiaceae e famílias relacionadas. O estudo da anatomia floral

com enfoque filogenético nas famílias de Malpighiales, abordando especialmente a evolução de estruturas secretoras anexas às flores, é promissor não só para compreender a evolução dessas estruturas na ordem, mas, também, para elucidar padrões evolutivos em um grupo reconhecidamente tão diverso.