

Desenvolvimento floral e estaminal no clone CP76 de *Anacardium occidentale* L. cajueiro-anão precoce (Anacardiaceae)

JOÃO MARCELO SANTOS DE OLIVEIRA^{1,3}, JORGE ERNESTO DE ARAUJO MARIATH¹
e DALVA MARIA BUENO²

(recebido: 4 de outubro de 2000; aceito: 27 de junho de 2001)

ABSTRACT - (Floral and staminal development in the clone CP76 of *Anacardium occidentale* L. - dwarf cashew nut (Anacardiaceae)). The early floral development as well as anther ontogeny in the *Anacardium occidentale* L. was studied. The flowers present five sepals and five petals with helical and unidirectional development, respectively, and androceum with a stamen with striking heterochronic and heteromorphic development in relation to the remaining nine stamens. At the terminal position an unilocular carpel arises. The histogenic processes is identical in both stamens. At the end of ontogeny both anther types possess four sporangia, with epidermis, endothecium, two middle layers and secretory tapetum, as parietal layers and a sporogenic tissue. The inner portion of the tapetum does not arise from the connective.

RESUMO - (Desenvolvimento floral e estaminal no clone CP76 de *Anacardium occidentale* L - cajueiro-anão precoce (Anacardiaceae)). Foram estudados o desenvolvimento floral inicial bem como a ontogênese estaminal em *Anacardium occidentale* L. As flores apresentam cinco sépalas e cinco pétalas com desenvolvimento helicoidal e unidirecional, respectivamente, androceu com um estame com desenvolvimento heterocronico e heteromórfico marcante em relação aos nove estames restantes, e um carpelo unilocular terminal. O processo histogênico é idêntico em ambos os tipos de estames. Ao final da ontogênese estaminal, as anteras possuem quatro esporângios, sendo que cada esporângio apresenta epiderme, endotécio, duas camadas médias, tapete e tecido esporogênico. A porção interna do tapete não se origina do conectivo.

Key words - *Anacardium occidentale*, anther development, single origin of tapetum, heteromorphy, heterochrony

Introdução

A definição dos diferentes tecidos de uma antera ocorre muito cedo em relação a todo o processo de desenvolvimento que tal estrutura sofre, desde sua iniciação no meristema floral até a antese floral. Assim, o estudo dos eventos ontogenéticos é fundamental para a compreensão de quais são os tecidos, os tipos celulares integrantes dos mesmos, seu modo de origem, e de diferenciação, bem como suas funções posteriores durante a esporogênese e gametogênese (Mariath *et al.* 2000).

O interesse sobre a biologia da antera, de forma ampla, aumentou muito nas últimas décadas devido à conjunção de fatores, como avanços em estudos genéticos, moleculares e suas aplicações práticas para

o melhoramento vegetal e a necessidade crescente da produção vegetal em função do incrível aumento da população humana, principalmente neste último século. Apesar disso, o estudo da histogênese dos diferentes órgãos florais, em geral, tem sido pouco explorado (Greyson 1994). Hill (1996) justifica esse menor interesse nos aspectos iniciais do desenvolvimento da antera, principalmente nos estudos que envolvem ferramentas genéticas e moleculares, devido à pequena quantidade de material para estudo, bem como à tendência de maior expressão gênica nas fases posteriores à histogênese estaminal. Acrescenta-se que a falta de estudos detalhados sobre o desenvolvimento anatômico contribui para o estado atual de pouco conhecimento acerca do desenvolvimento estaminal. Assim, algumas questões ainda permanecem em aberto, como quais processos controlam a morfologia estaminal, incluindo a diversidade celular intrínseca da estrutura e quais são os genes envolvidos no processo e como controlam o tamanho e forma da antera (Goldberg *et al.* 1993). Segundo esses autores não é conhecido em que grau de interação a regulação celular autônoma e a posição celular dependente concorrem para a formação dos órgãos reprodutivos.

1. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Botânica, Laboratório de Anatomia Vegetal, Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43423, 91501-970 Porto Alegre, RS.
2. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA/CNPAT, Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici 60511-110 Fortaleza, CE.
3. Autor para correspondência: linneu@bol.com.br

Sheridan *et al.* (1999), através de estudos anatômicos em anteras de plantas selvagens e mutantes de *Zea mays*, para genes específicos relativos ao desenvolvimento das células parietais e esporogênicas, abrem caminho para a elucidação das questões acima citadas.

Exemplos claros foram demonstrados através do estudo da evolução do padrão de polinização cleistógama a partir da casmogamia (Lord & Hill 1987). Em *Viola odorata* (Mayers & Lord 1983) e *Collomia grandiflora* (Minter & Lord 1983), a cleistogamia foi obtida através da alteração cronológica da histogênese estaminal (heterocronia). Em *Cassia didymobotrya* e *C. auriculata*, foi demonstrado que a heteromorfia estaminal contribui estruturalmente para a síndrome de polinização nas referidas espécies (Dulberger 1981). Em *Anacardium occidentale* (Wunnachit *et al.* 1992) foi demonstrado que a associação entre heteromorfia estaminal, estrutura floral andromonóica e diferença de funcionalidade polínica contribuem para a polinização cruzada na espécie. Tucker (1992) cita que os estudos comparativos do desenvolvimento celular e morfológico possuem duas importantes funções, permitindo o estabelecimento de detalhes básicos de como órgãos florais se desenvolvem e como os padrões ontogenéticos, ao nível celular e morfológico, têm sido modificados filogeneticamente.

Endress & Stumpf (1991), através do estudo da estrutura estaminal, observaram tendências evolutivas nas ordens Rosales, Fabales, Proteales e Sapindales quanto à região de fixação do filete à antera, a estrutura conectival e a presença de protrusão no ápice do conectivo, bem como relações filogenéticas dentro dos diversos níveis hierárquicos nas referidas ordens.

Tucker (1997) estabelece a origem seqüencial das diferentes estruturas florais (cálice, corola, androceu e gineceu) no meristema floral. Coen & Meyerowitz (1991) concordam que os órgãos florais ocupam posições definidas sobre o meristema floral e que essas posições, bem como a própria identidade e estrutura desses órgãos, é determinada pela ação de genes homeóticos. Não apenas as estruturas básicas florais são determinadas por genes homeóticos como a expressão dos padrões de esporidade na estrutura floral distribuídos pelo reino vegetal (Lebel-Hardenack & Grant 1997).

Assim, com base nas considerações acima realizadas, o presente trabalho tem por objetivos

apresentar a organogênese e histogênese estaminal em *Anacardium occidentale* L. (cajueiro), espécie de grande importância na econômica brasileira e mundial, e fornecer informações básicas para suprir as necessidades acadêmicas e, conseqüentemente, tecnológicas e industriais.

Material e métodos

Botões florais, do clone CP76 de *Anacardium occidentale* L., em diferentes fases do desenvolvimento, foram coletados na Estação Experimental da EMBRAPA/CNPAT, em Pacajus, CE. O material foi fixado em glutaraldeído 2%, em solução tampão-fosfato 0,1M, pH 7,2 (Gabriel 1982), à temperatura ambiente e, posteriormente, desidratado em série etílica. O material foi incluído em hidroxietilmetacrilato (Gerrits & Smid 1983) e as secções foram realizadas em micrótomo de guias marca Leitz 1400, nas espessuras de 1 a 5 mm. Para a coloração foi empregado azul de toluidina 0,05% em tampão benzoato, pH 4,4 (O'Brien & McCully 1981). As observações e fotomicrografias foram obtidas em microscopia fotônica de campo claro com auxílio do microscópio Leitz, modelo 20EB. Após desidratação alcoólica, parte do material, nas mesmas fases do desenvolvimento dos botões florais destinados à microscopia fotônica, foi submetido ao ponto crítico, em aparelho Balzers CPD030, para secagem total (Gersterberger & Leins 1978). O material foi aderido a suportes metálicos e metalizado com camada de 15 nm de ouro. As eletromicrografias foram realizadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), marca Jeol, modelo JMS 5800, sob 20 kV.

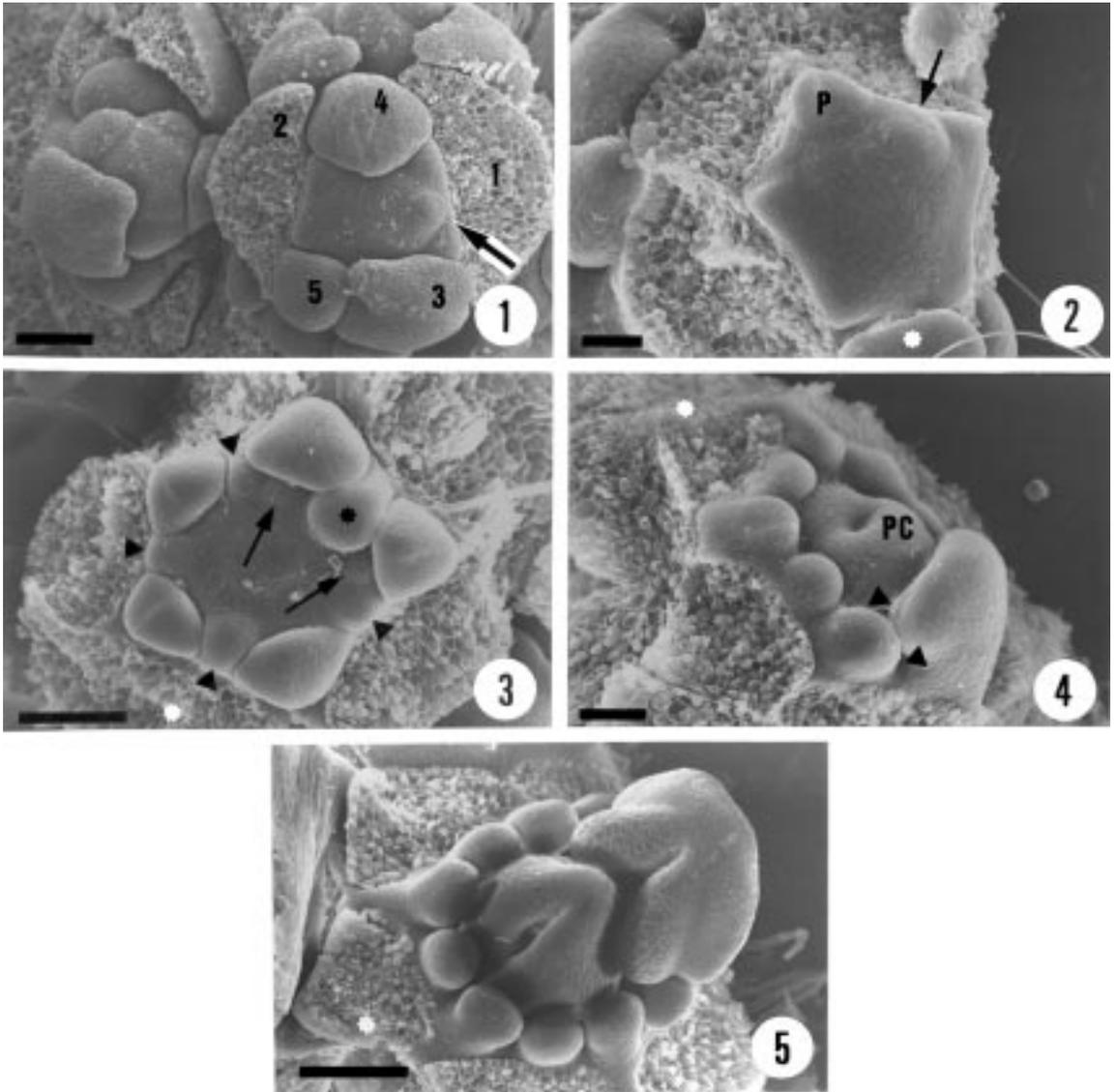
O tecido esporogênico, no presente trabalho, recebeu denominações diferentes de acordo com sua origem, e ciclos celulares (mitótico e meiótico). Assim, quando as células comprometidas com a meiose são originadas, juntamente com as células parietais primárias (CPP), estas foram denominadas de iniciais arquesporiais (ou iniciais esporogênicas, CIAR). Durante o período iniciado após o primeiro ciclo mitótico, até momentos antes da prófase meiótica, as células reprodutivas foram denominadas de células arquesporiais (CAr), esporogênicas (CEs) ou, ainda, células-mãe de andrósporos (CMA). Durante a meiose, as células do tecido reprodutivo foram denominadas de meiócitos - de acordo com conceitos estabelecidos por Rutishauser (1982) e Battaglia (1982).

Resultados

Iniciação dos órgãos florais - O cálice inicia seus primórdios no meristema floral de forma levemente assíncrona. A primeira sépala surge abaxialmente e determina a simetria dorsiventral do meristema floral. As demais peças surgem uma em posição oposta a anterior, e em sentido horário, até que a última sépala surge na posição adaxial. Quando se inicia o desenvolvimento das demais peças florais, dos verticilos restantes, as sépalas já estão bastante

desenvolvidas (figura 1). As pétalas possuem organogênese unidirecional e sua primeira peça também surge abaxialmente (figuras 2-3). O primórdio estaminal maior surge pouco depois do primeiro

primórdio petalar e ambos apresentam dimensões semelhantes (figuras 2-3). Aparentemente os dois primórdios petalares laterais surgem juntamente com o primórdio do estame maior. Os primórdios dos



Figuras 1-5. Microscopia eletrônica de varredura de meristemas florais do clone CP76 de *Anacardium occidentale* em diferentes fases do desenvolvimento. 1. Flor terminal com ordem de iniciação das sépalas numerada. Organogênese helicoidal das sépalas; os números de 1 a 5 indicam a ordem de surgimento das sépalas. Seta indica primórdio do estame maior (barra = 100 µm). 2. Primórdio do estame maior (seta) e primórdio da primeira pétala (P), ambos em posição abaxial (barra = 50 µm). 3. Surgimento dos primórdios dos estames menores, alternos às pétalas (cabeças de setas) e opostos às pétalas (setas). * = primórdio da antera maior (barra = 100 µm). 4. Formação dos esporângios no primórdio do estame maior (cabeça de setas), primórdios dos estames menores definidos sobre o meristema floral, primórdio carpelar (PC) ao centro (barra = 50 µm). 5. Antera maior em fase final da ontogênese (observar estrutura anatômica na figura 16) e primórdios dos estames menores com estrutura tipo túnica-corpo (observar estrutura anatômica na figura 10) (barra = 100 µm). Asteriscos brancos nas figuras 2-5 indicam a posição do eixo da inflorescência.

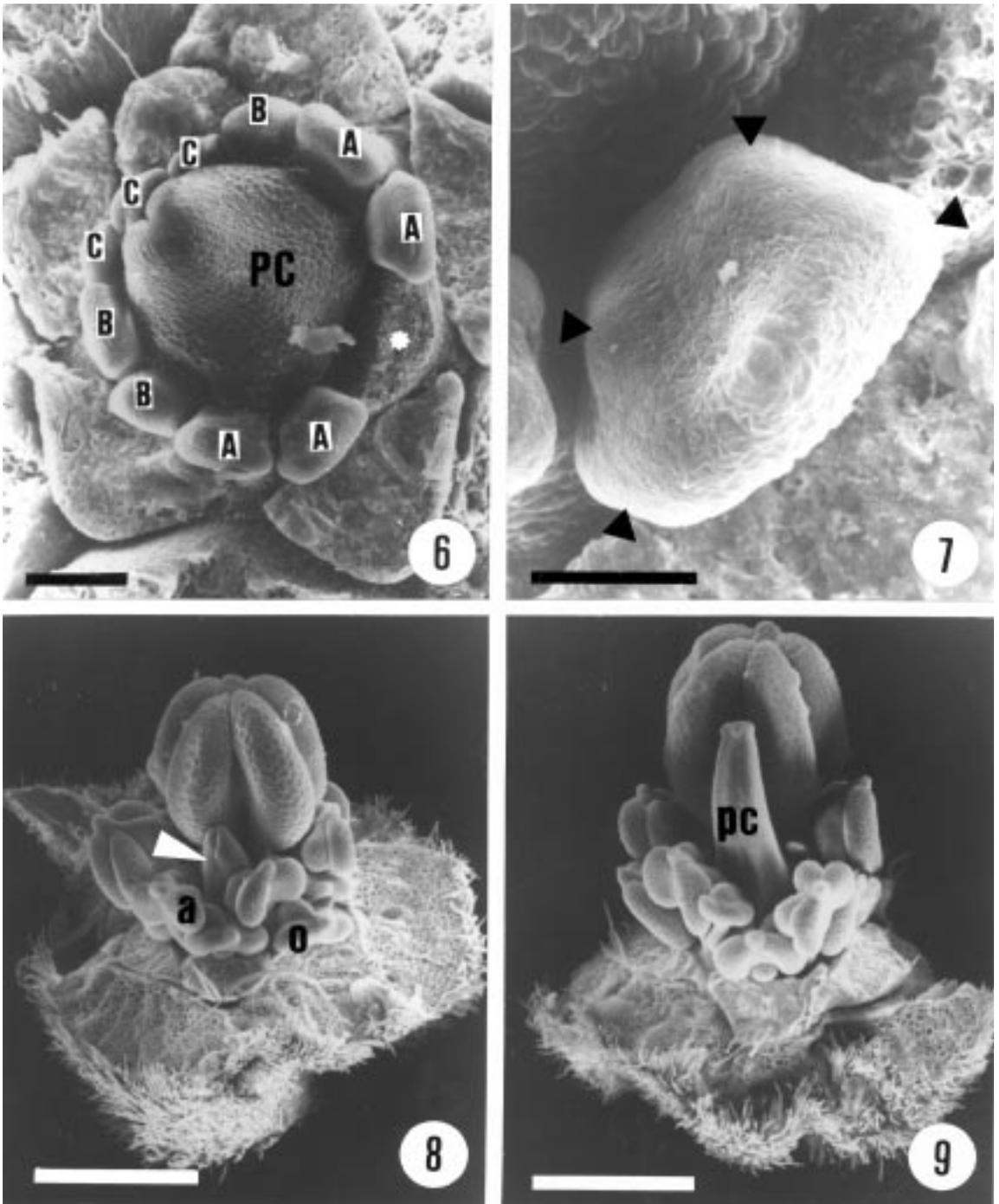
estames menores surgem quando o primórdio do estame maior já apresenta um grande tamanho quando as pétalas já estão totalmente definidas sobre o meristema floral (figuras 3-4). Primeiramente surgem quatro estames menores, alternos às pétalas (figura 3). Os estames menores restante surgem opostos às pétalas (figura 3), seguido pelo primórdio carpelar que ocupa a posição terminal do meristema floral (figura 4). Entre os quatro primórdios de estames menores restantes se observa uma leve assincronia e, normalmente, estes surgem em posições próximas ao primórdio. No primórdio do estame maior, observa-se o início da formação dos esporângios, numa fase em que os primórdios dos estames menores finalizaram sua definição como estruturas individuais sobre o meristema floral (figura 4). O estame maior mantém um rápido crescimento e apresenta-se quase totalmente diferenciado morfológica (figura 5) e anatomicamente (ver adiante), numa fase em que os primórdios dos estames menores ainda apresentam estrutura primordial tipo túnica-corpo (ver adiante). Posteriormente, o desenvolvimento dos estames menores torna-se unidirecional, com os estames mais desenvolvidos surgindo ao lado do estame maior. A velocidade de desenvolvimento reduz-se gradualmente, em direção oposta à antera maior (figuras 5-6). Esse padrão polarizado de desenvolvimento é perdido durante a esporogênese, quando os estames menores, alternos às pétalas, desenvolvem mais seus filetes, assim, se observa as anteras alternas e opostas às pétalas ocupando duas alturas diferentes no androceu (figuras 8-9).

Após o desenvolvimento ontogenético, descrito acima, o clone CP76 de *A. occidentale* forma flores completas e estaminadas. O androceu apresenta dez estames, com nove estames menores em relação ao décimo estame (figuras 4-5, 8-9). O gineceu é composto de um carpelo unilocular o qual contém apenas um rudimento seminal. Em um grupo de flores, o carpelo bem como o rudimento seminal interrompem seu desenvolvimento e originam, então, as flores estaminadas. Nas flores completas, o rudimento seminal segue seu desenvolvimento e logo assume a morfologia básica típica da espécie (figuras 8-9). Todos os estames, em ambos os tipos de flores, apresentam-se ditecos, tetrasporangiados e quase basifixos, unidos ao receptáculo floral por filetes cilíndricos. Os esporângios de cada teca compartilham uma única linha estomial a qual atinge ambos os ápices de cada teca. Nas anteras, ocorre um pequeno rostro onde

são observados anexos epidérmicos similares a estômatos, os quais parecem funcionais e diferenciam-se apenas durante a esporogênese. O padrão de histogênese dos esporângios das anteras menores e da antera maior nas flores completas e estaminadas é idêntico. Apenas o número de células envolvidas na histogênese e o tempo de diferenciação das anteras menores e da antera maior, em ambos tipos de flores, diferem.

Histogênese estaminal - O primórdio estaminal é composto por um corpo celular meristemático que prolifera sob uma camada protodérmica uniestratificada a qual acompanha seu desenvolvimento através de divisões anticlinais (figura 10). O conectivo é o primeiro tecido a se diferenciar no centro do primórdio estaminal, onde se diferencia o procâmbio (figura 11). As tecas formadas expressam a simetria bilateral das anteras juvenis (figuras 6, 7, 11). Nas tecas, o meristema é mantido e origina, exclusivamente, todos os diferentes tecidos dos esporângios (figuras 11-17). Os esporângios tornam-se evidentes devido a divisões periclinais (figura 11) e anticlinais que ocorrem nos contornos do primórdio estaminal. As células parietal primária (CPP) e inicial arquesporrial (CIAr) surgem através de divisões periclinais do estrato sub-dérmico em posições fixas no primórdio estaminal (figura 12). A célula parietal primária e células subdérmicas adjacentes dividem-se periclinamente e contribuem com células que comportam-se como células da camada parietal secundária externa (CPS_e) e da camada parietal secundária interna - CPS_i (figuras 13, 18). Enquanto isso as células arquesporriais prosseguem seu desenvolvimento e logo destacam-se dos demais tecidos, preparando-se para seu único ciclo mitótico que antecede a meiose.

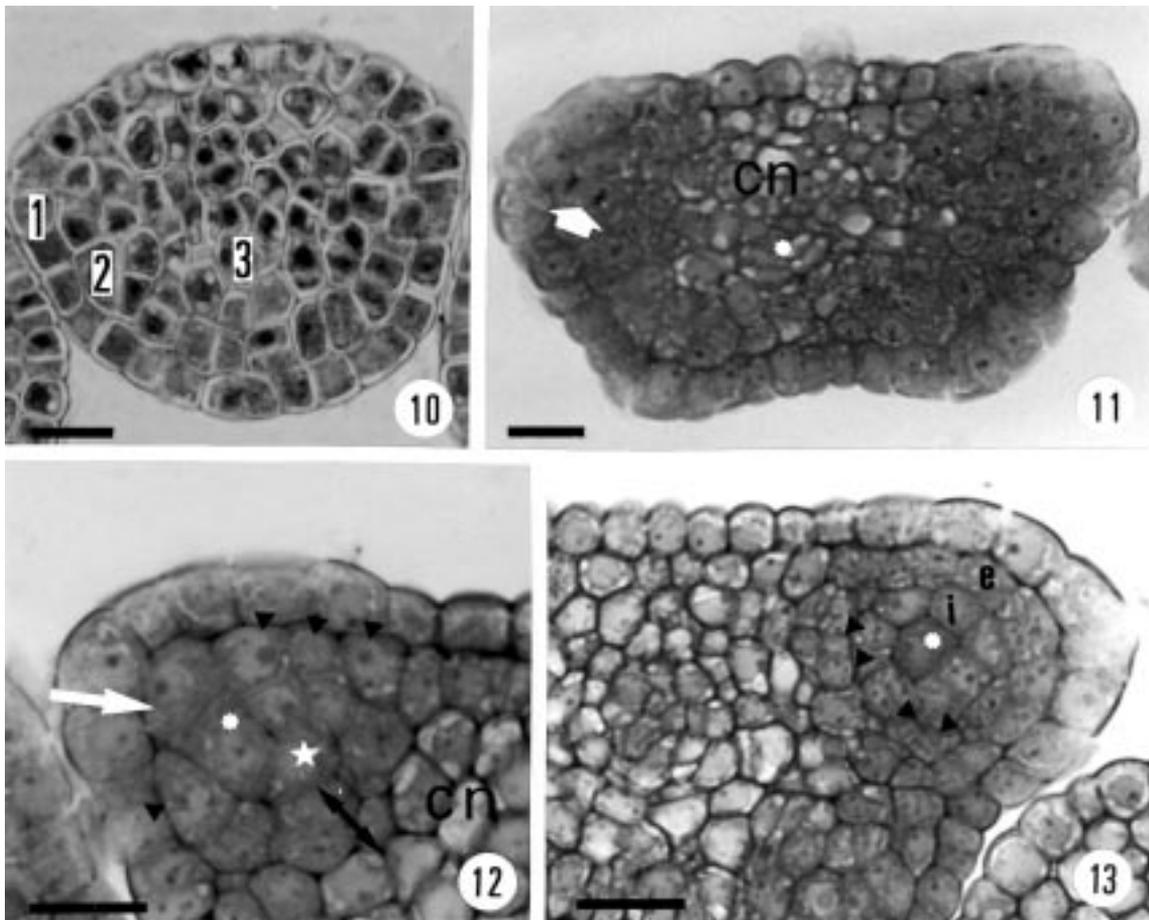
As células do meristema fundamental, entre o conectivo e as células arquesporriais, dividem-se e produzem células que irão compor o tecido precursor do tapete interno (figura 13). Na região entre os esporângios, as células adquirem estrutura conectiva, à medida que perdem atividade mitótica, resultando na formação do septo de separação dos esporângios (figuras 13-15). O processo posterior revela que as camadas parietais secundárias externa e interna apresentam tempo de desenvolvimento diferenciado. A CPS_e divide-se mais cedo em relação a CPS_i e contribui na formação do endotécio e da camada média externa, enquanto que as células iniciais



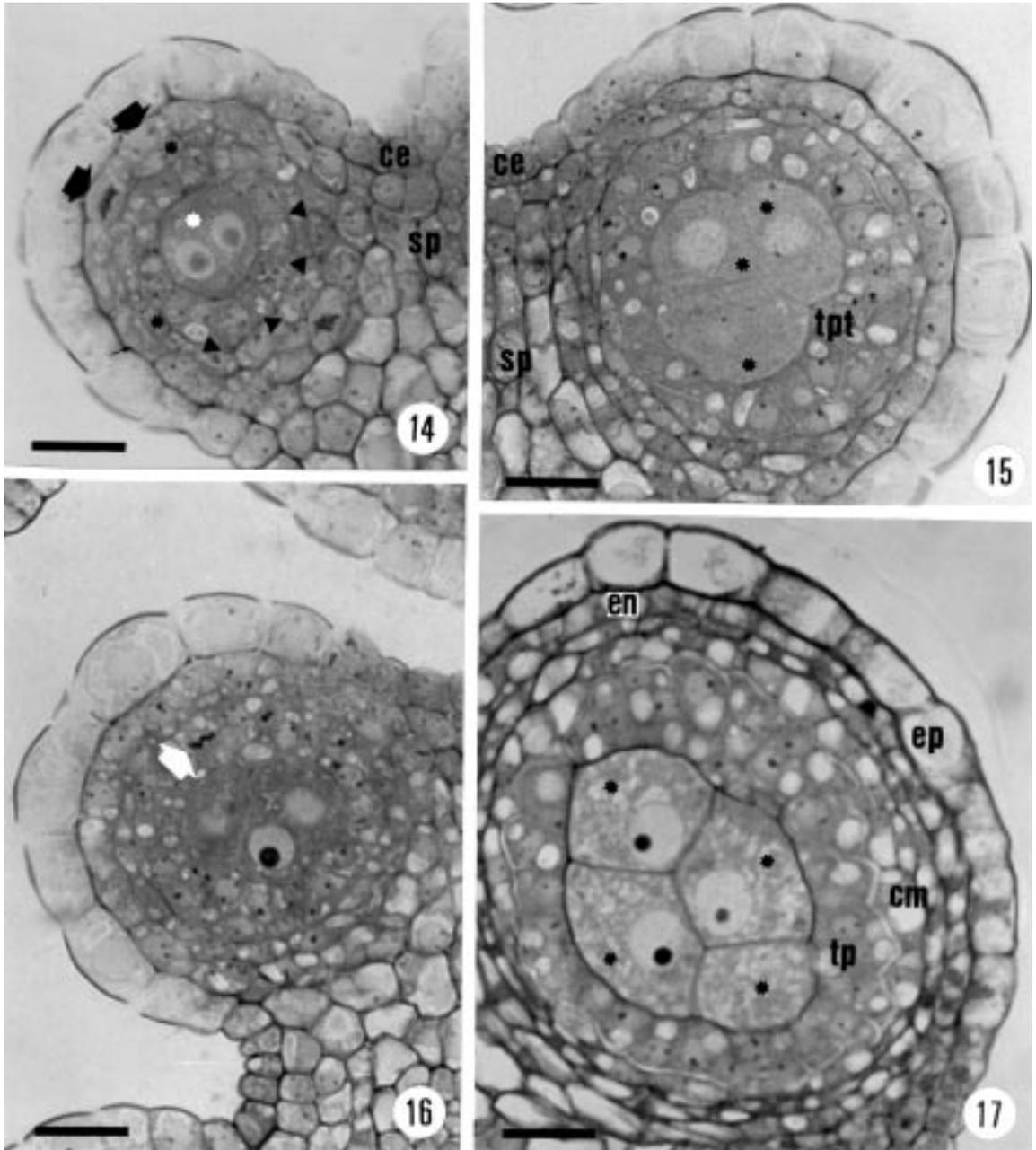
Figuras 6-9. Microscopia eletrônica de varredura de estruturas florais do clone CP76 de *Anacardium occidentale*. 6. Desenvolvimento polarizado dos estames menores, estame maior foi retirado (*). Primórdios com formação dos esporângios (A), primórdios com formação do conectivo (B) e com estrutura tipo túnica-corpo (C). PC = primórdio carpelar (barra = 100 μ m). 7. Cabeças de setas indicam a formação dos esporângios no primórdio do estame menor (comparar com figuras 11-13) (barra = 20 μ m). 8. Botão floral da futura flor estaminada, carpelo atrofiado (cabeça de seta). Estames menores alternos (a) e opostos (o) às pétalas em dois níveis (barra = 500 μ m). 9. Botão floral da futura flor completa, primórdio carpelar (pc) com desenvolvimento normal (barra = 500 μ m).

arquesporiais dividem-se mitoticamente e originam as células arquesporiais - CA_r, ou esporogênicas (figuras 14, 18). A CPSi, ao contrário, inicia processo de diferenciação e acaba apresentando células levemente alongadas no sentido radial. Esse mesmo processo instala-se simultaneamente nas células que cobrem as células arquesporiais internamente (figuras 14-16). Assim, através de um processo de diferenciação celular convergente, ocorre o surgimento de um tecido precursor do tapete (figura 16), o qual apresenta características similares àquelas observadas no tecido tapetal jovem. A formação do tapete e da camada média interna se sucede através

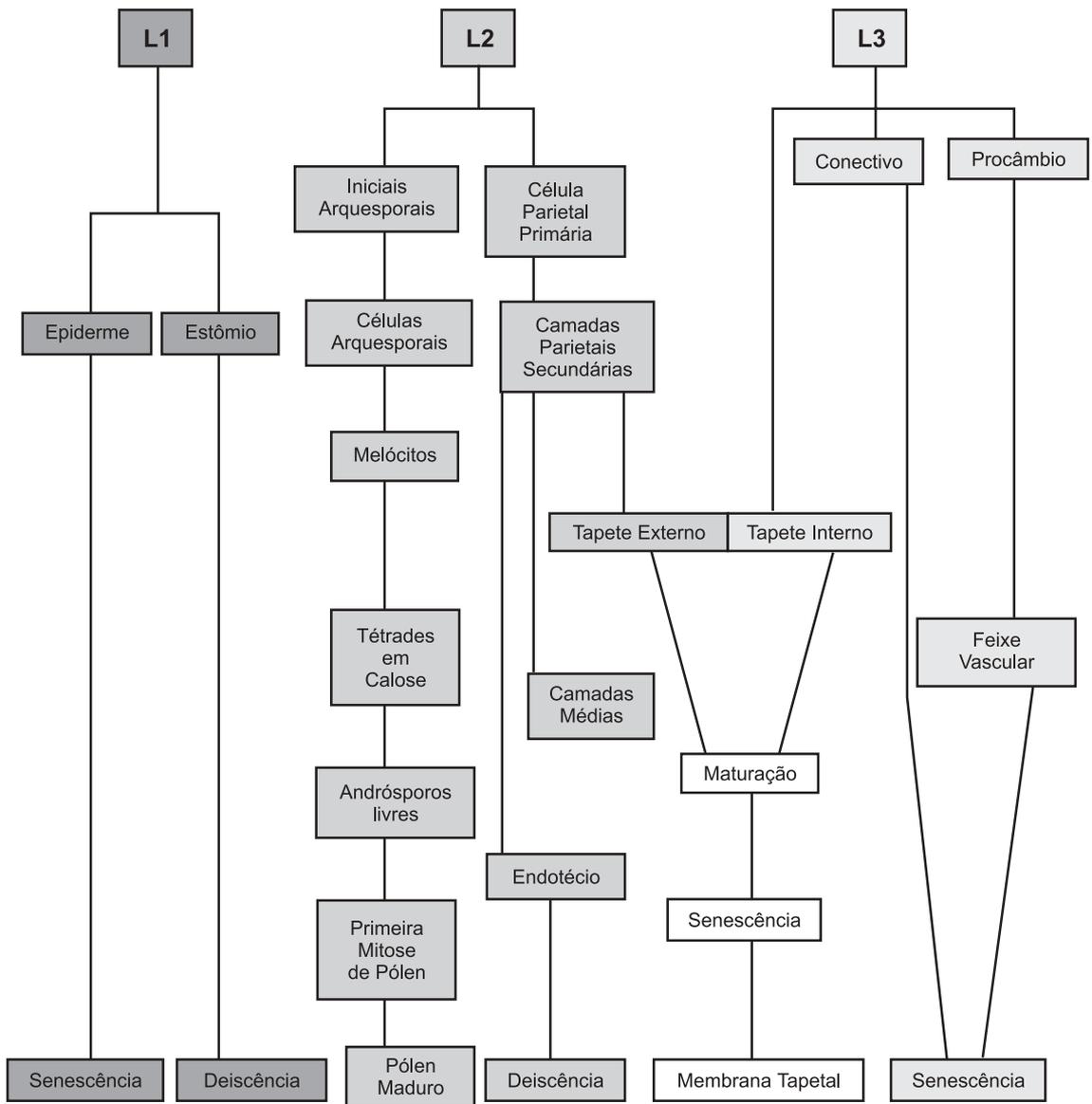
de mitoses periclinais nas células da CPSi (figura 16). Posteriormente, mitoses também ocorrem no tecido interno, onde se observa a formação do tapete interno e de outro estrato semelhante ao da camada média interna (figura 17). Próximo ao início da meiose nas células arquesporiais, ocorre uma intensa vacuolação dos diferentes tecidos da antera, principalmente na epiderme, endotécio e camadas médias (figura 17). Entretanto, esse processo de vacuolação se torna menos expressivo no tapete e nas células arquesporiais. A vacuolação não é observada nas células que irão compor a linha estomial, as quais mantêm suas características meristemáticas.



Figuras 10-13. Fotomicrografias de primórdios estaminais do clone CP76 de *Anacardium occidentale* em secção transversal. 10. Primórdio estaminal apresentando as camadas primordiais L1 (1), L2 (2) e L3 (3) (barra = 58 µm). 11. Formação do conectivo (cn), procâmbio (asterisco). Célula da L2 em anáfase marca a formação das células parietal primária e inicial arquesporial (seta) (barra = 58 µm). 12. Célula parietal primária (seta), inicial arquesporial (*), células da L2 que irão compor a camada parietal primária (cabeças de seta). Seta dupla mostra a distância entre a célula precursora do tapete (estrela) e o conectivo (cn) (barra = 6,2 µm). 13. Camada parietal secundária externa (e), camada parietal secundária interna (i), inicial arquesporial (*), células precursoras do tapete interno (cabeças de setas) (barra = 29 µm).



Figuras 14-17. Fotomicrografias de primórdios estaminais do clone CP76 de *Anacardium occidentale* em secção transversal. 14. Fase final da formação do endotécio (setas), e camada média externa (asterisco preto), início da formação da porção interna do tapete (cabeças de seta), células arquesporiais (asterisco branco) em desenvolvimento. 15. sp = septo de separação dos esporângios, ce = células estomiais. Tecido precursor do tapete (tpt) e células esporogênicas (*) muito desenvolvidas. 16. Tapete e camada média interna em formação (seta). 17. Esporângio de antera maior onde a histogênese esporangial já terminou. Células do tecido esporogênico em prófase meiótica (*), tapete desenvolvido (tp), camadas médias (cm), endotécio (en) e epiderme (ep). Barras = 29 µm.



Figuras 18. Linhagens celulares e principais eventos que ocorrem durante a diferenciação até a deiscência nas anteras do clone CP76 de *Anacardium occidentale*.

Discussão

Histogênese, heterocronia e heteromorfia estaminal - A histogênese estaminal, como de qualquer outro órgão vegetal, inicia-se a partir de células fundamentais que, através de um programa de desenvolvimento, caracteriza a diversidade celular e tissular do órgão. É intrínseca a esse programa de desenvolvimento a ocorrência de séries de derivação celular acopladas à diferenciação celular. No estudo do desenvolvimento das anteras de *Anacardium occidentale* observaram-se, inicialmente, séries de derivação celular, para a formação dos principais sítios histológicos da antera. Gradualmente, durante esse programa de proliferação celular padronizado, ocorre sobreposição de um processo de diferenciação celular, o qual predomina ao final do processo de desenvolvimento das anteras. Os principais sítios histológicos observados nas anteras do cajueiro durante a histogênese foram a epiderme, o tapete, o tecido esporogênico e o conectivo. Esses diferentes sítios histológicos apresentam origem a partir de grupos celulares fundamentais que ocupam posições muito bem definidas na estrutura primordial estaminal. Segundo Bhandari (1984), para Angiospermas em geral, a epiderme se origina da camada celular de cobertura na jovem estrutura, também designada "túnica"; a partir da estrutura designada como "corpo" derivariam os estratos parietais, além do tecido esporogênico - em quatro pontos quase equidistantes, do tapete interno, do conectivo e do procâmbio. Satina & Blakeslee (1941) demonstraram, em quimeras poliplóides de *Datura stramonium*, que os diferentes sítios histológicos, semelhantes aos observados no cajueiro e nas demais angiospermas (Bhandari 1984), surgem de camadas específicas designadas como L1, L2 e L3, dentro do primórdio estaminal. No cajueiro, foi observado que a epiderme se origina da camada meristemática L1, as camadas parietais e o tecido esporogênico exclusivamente da camada L2 (subdérmica), e o tapete interno, conectivo e procâmbio da camada L3. Em *Tabebuia pulcherrima* (Bittencourt & Mariath 1997), foi observado que os diferentes sítios histológicos têm origem a partir de grupos celulares específicos e de natureza meristemática. Porém, na literatura em geral (Maheswhari 1950, Johri *et al.* 1992, Raghavan 1998), é atribuída à camada subdérmica a denominação de inicial arquesporrial. Fica claro, no presente trabalho, que essa nomenclatura não é adequada e pode gerar confusões para as descrições do desenvolvimento

estaminal. Assim, em geral, se impõe às células meristemáticas um grau de especialização que não lhes é inerente e, normalmente, sinônimos técnicos como iniciais arquesporriais e iniciais esporogênicas são atribuídos a grupos celulares que, embora ontogeneticamente ligados, apresentam funções para o desenvolvimento da antera totalmente distintos. Cabe citar que as células subdérmicas (camada L2) têm por função dar origem às camadas parietais e ao tecido esporogênico e que as verdadeiras iniciais arquesporriais (ou iniciais esporogênicas), derivadas internas da primeira divisão periclinal da camada L2, têm função apenas de originar os meiócitos. Sheridan *et al.* (1999) observaram nas anteras de mutantes para o *locus mac1*, em milho, que as anomalias na derivação das células que impedem a formação de camadas parietais e meiócitos normais só ocorrem a partir das células derivadas da camada L2, demonstrando, então, que o fator morfogênico ligado ao *locus mac1* expressa-se apenas em células mais especializadas, e que já iniciaram o programa histogenético e não em suas genitoras, as quais possuem estrutura fundamental.

A diferenciação de tipos celulares específicos nos diferentes sítios da antera do cajueiro é semelhante ao observado em outras angiospermas (Bhandari 1984, Raghavan 1998). Entretanto, em *A. occidentale*, a origem do tapete externo e interno ocorre através de convergência do desenvolvimento citológico de grupos celulares derivados das camadas celulares meristemáticas L2 e L3, que circundam diretamente o tecido esporogênico recém formado. Goldberg *et al.* (1993) citam que o tapete interno tem origem a partir do tecido conectivo, à semelhança do que normalmente é descrito na literatura (Peryasamy & Swamy 1966, Vijayaraghavan & Ratnaparkhi 1973, Gupta & Nanda 1978). Cabe salientar que, para a confirmação da formação do tapete a partir de células conectivais, seria necessária a observação de células com estrutura conectival em contato direto com a porção interna do tecido esporogênico ou com as iniciais esporogênicas. Posteriormente, ainda deveriam ser observadas células conectivais desdiferenciando-se e rediferenciando-se em células com estrutura tapetal. Bittencourt & Mariath (1997) descrevem a origem única para o tapete de *T. pulcherrima*, onde o processo de transformação de células conectivais em células tapetais jamais foi demonstrado na literatura, como é constatado neste trabalho. Assim, a citação de Gupta & Nanda (1978)

de que a origem dupla do tapete é um padrão universal para as angiospermas, deve ser revista.

A observação da formação de um tecido precursor do tapete, que ocorre nas anteras do cajueiro, através de um processo de diferenciação celular convergente, pode corroborar a idéia de que o tecido esporogênico exerce um efeito de posição sobre o desenvolvimento de suas células circundantes como descrito por Nanda & Gupta (1978) para *Tecoma stans*. Davis (1961) cita que, em *Podolepis jaceoides*, as mitoses acitocinéticas típicas das células tapetais seriam influenciadas pelo processo reducional dos meiócitos. Goldberg *et al.* (1993) citam que gradientes de fatores morfogênicos, produzidos pelas células esporogênicas, seriam responsáveis pela diferenciação do tapete e do endotécio. Essa suposição de Goldberg *et al.* (1993) pode ser corroborada em *A. occidentale* pelo fato de que células subdérmicas, em toda a extensão do esporângio, diferenciam-se em endotécio. O mesmo fato ocorre em arroz (Raghavan 1988) e demais angiospermas (Maheswhari 1950, Bhandari 1984). Stewart & Dermen (1979) descrevem que derivadas internas da camada L1, em quimeras de monocotiledôneas, eram incorporadas à camada L2 e, posteriormente, contribuía para a formação dos estratos dos esporângios. Bowman & Eshed (2000) descrevem o efeito de posição como inerente ao desenvolvimento de meristemas caulinares. Esses dados revelam que o efeito de posição dentro dos primórdios estaminais é intrínseco ao processo de desenvolvimento. Entretanto, Goldberg *et al.* (1993) citam que o grau de interação entre o processo de regulação autônoma e posição dependente nas anteras, para a diferenciação celular, permanece desconhecido.

O esporângio em *A. occidentale* apresenta quatro camadas parietais entre a epiderme e o tecido esporogênico. O mesmo é observado em *Schinus molle* (Copeland 1959) e *Spondias mangifera* (Srinivasachar 1940). Como em *A. occidentale*, em *S. molle* (Copeland 1959) foi observado que, a partir da camada parietal secundária externa, origina-se o endotécio e a camada média externa, enquanto que a camada parietal secundária interna origina a camada média interna e o tapete. Segundo Davis (1966), esse padrão de derivação parietal seria denominado de “básico”. A autora cita também que esse seria o padrão exclusivo para a família Anacardiaceae e, portanto, poderia ser utilizado como um caráter

taxonômico. Entretanto, em *Rhus mysurensis* (Kelkar 1958), apenas três camadas parietais foram observadas entre epiderme e tecido esporogênico e, de acordo com as representações do autor, o padrão ontogenético do esporângio seria do tipo “dicotiledôneo”. Assim, aparentemente, a estrutura esporangial seria um caráter de pouco valor na circunscrição da referida família. Para *Pistacia chinensis* (Copeland 1955) e *Anacardium occidentale* (Copeland 1962), a descrição da ontogenia esporangial é confusa e impede uma discussão maior dentro do contexto apresentado acima, contudo os tipos parietais principais como o endotécio e o tapete foram descritos pelos autores, e não diferem do padrão geral que ocorre no clone CP76.

A discussão, até então apresentada, envolveu apenas o processo ontogenético de formação da antera, o qual é idêntico para anteras menores e maiores nas flores completas e estaminadas do cajueiro, que tem por conseqüência a morfologia idêntica para ambos os tipos de anteras. Porém, um menor número de grãos de pólen é produzido por antera menor em relação a antera maior (Oliveira & Mariath 2001). Contudo, os processos de heteromorfia e a heterocronia, evidenciados pelo estudo da morfogênese e histogênese nas anteras do cajueiro, são primários em relação aos padrões de derivação e desenvolvimento celular que ocorrem para formação dos esporângios no primórdio estaminal já devidamente identificado sobre o meristema floral.

A estrutura floral, seus verticilos e simetria são regulados por genes homeóticos (Coen 1991, Coen & Meyerowitz 1991). Segundo Coen (1991), para a formação de uma flor normal concorrem grupos de genes homeóticos que estão relacionados com a identificação do meristema floral, com a identificação da região sobre o meristema em que os órgãos irão surgir e com a identificação dos órgãos florais propriamente ditos. Portanto, a estrutura heteromórfica das anteras em *A. occidentale* pode estar diretamente ligada a genes estruturais (homeóticos) e, principalmente, ligado ao grupo gênico que controla a região do meristema floral, a partir do qual os órgãos irão surgir. No presente trabalho foi demonstrado que a área do meristema floral, a partir do qual surgem as anteras menores e maior, é diferenciada. Conseqüentemente, essas áreas para a identificação e formação das anteras menores e maior apresentam um número diferenciado de células, onde seu maior número é dedicado para a

formação da antera maior. Esse mecanismo para a determinação da área de atuação gênica é observado em outras plantas, para a supressão de órgãos em espécies dióicas. Em *Silene latifolia* (Grant *et al.* 1994) a formação de flores estaminadas ocorre através da redução da área de fatores gênicos responsáveis pela formação do carpelo. Porém, esse mecanismo não explica a formação da flor estaminada no cajueiro, pois, durante todo o processo de ontogênese floral inicial, os botões apresentam gineceu normal em ambos os tipos de flores.

A heterocronia no desenvolvimento das anteras é observada em espécies onde o padrão cleistógamo de polinização evoluiu (Lord & Hill 1987). Em *Arenaria uniflora* (Hill & Lord 1990), foi descrito que o tempo em que ocorre a derivação das iniciais arquesporiais nas anteras de flores de auto-polinização se dá mais cedo que o observado nas flores de polinização cruzada. Em *Viola odorata* (Mayers & Lord 1983), foi observado que as fases do desenvolvimento em flores cleistógamas são mais rápidas do que o observado nas flores casmógamas. Porém, no cajueiro, a heterocronia entre as anteras é observada apenas nas fases iniciais do desenvolvimento ontogenético, de modo que, durante a gametogênese, o desenvolvimento em ambos os tipos de anteras é igualado (Oliveira & Mariath 2001) e, normalmente, é observado que as anteras menores, após a antese floral, estão deiscientes, ao contrário da antera maior.

Wunnacht *et al.* (1992), estudando o vigor e composição polínica no cajueiro, observaram diferenças funcionais entre os grãos de pólen oriundos de anteras maiores de flores completas e de estaminadas, pois os grãos formados na antera maior do primeiro tipo floral serviriam como alimento para os visitantes, enquanto que o pólen da antera correspondente na flor estaminada exerceria função na fecundação e produção de frutos. A heteromorfia atuaria no sentido de expor a antera maior de ambas as flores aos visitantes, responsáveis pelo processo de polinização, porém a competição pelos dois tipos de pólen pelo único rudimento seminal seria vencida pelo andrófito proveniente da antera maior da flor estaminada. Em *Cassia didymobotrya* e *C. auriculata*, Dulberger (1981) observou que as anteras maiores têm por função produzir grãos de pólen para fecundação e produção de frutos. Nenhum resultado com relação à organogênese inicial dos estames foi demonstrado para estas espécies. Assim, aparentemente, são decisivos para a biologia da

polinização em *A. occidentale* os mecanismos que determinam a heteromorfia estaminal (cujas bases morfológicas e histológicas foram descritas neste trabalho) e o mecanismo que define as diferenças de funções entre grãos de pólen das anteras maiores de flores completas e de estaminadas.

Endress & Stumpf (1991) citam que a forma dos estames é direta ou indiretamente influenciada pela sua posição dentro do botão floral bem como da arquitetura interna do mesmo. Porém, aparentemente, em *A. occidentale* a separação temporal na formação do estame maior em relação aos menores, bem como a própria irregularidade no desenvolvimento entre os estames menores atuam para permitir a expressão normal do programa ontogenético estaminal e minimizar o efeito espacial dentro do botão floral. Portanto, parece pouco óbvia a contribuição da heterocronia para o sistema alogâmico de polinização no cajueiro.

Agradecimentos - Agradecemos à Ms. Maria Cecília de Chiara Moço e ao Dr. Rinaldo Pires dos Santos pela revisão criteriosa do trabalho e pelas sugestões que muito enriqueceram o mesmo, e ao CNPq pela bolsa de pesquisa de um dos autores (J.E.A.M.). Agradecemos ao Centro de Microscopia Eletrônica (UFRGS) e ao Departamento de Botânica (UFRGS) pelo suporte técnico.

Referências bibliográficas

- BATTAGLIA, F. 1982. Embriological questions: 4. Gynogonium versus Archegonium and generalization of the prefixes andro and gyno in plant reproduction. *Annals of Botany* 40:1-7.
- BHANDARI, N.N. 1984. The microsporangium. In *Embryology of Angiosperms* (B.M. Johri, ed.). Springer Verlag, Berlin, p.53-121.
- BITTENCOURT JR., N.S. & MARIATH, J.E.A. 1997. Ontogenia dos estratos parietais da antera de *Tabebuia pulcherrima* Sandw. (Bignoniaceae). *Acta Botanica Brasilica* 11:9-30.
- BOWMAN, J.L. & ESHED, Y. 2000. Formation and maintenance of the shoot apical meristem. *Trends in Plant Science* 5:110-115.
- COEN, E.S. 1991. The role of homeotic genes in flower development and evolution. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42:241-279.
- COEN, E.S. & MEYEROWITZ, E.M. 1991. The war of the words: Genetic interactions controlling flower development. *Nature* 353:31-37.
- COPELAND, H.F. 1955. The reproductive structures of *Pistacia chinensis* (Anacardiaceae). *Phytomorphology* 5:440-449.
- COPELAND, H.F. 1959. The reproductive structures of *Schinus molle* (Anacardiaceae). *Madroño* 15:14-25.
- COPELAND, H.F. 1962. Observations on the reproductive structures of *Anacardium occidentale*. *Phytomorphology* 11:315-325.

- DAVIS, G.L. 1961. The life history of *Podolepis jaceoides* (Sins) Voss. 1. Microsporogenesis and male gametogenesis. *Phytomorphology* 11:86-97.
- DAVIS, G.L. 1966. Systematic embryology of the Angiosperms. John Wiley & Sons, New York.
- DULBERGER, R. 1981. The floral biology of *Cassia didymobotrya* and *C. auriculata* (Caesalpinaceae). *American Journal of Botany* 68:1350-1360.
- ENDRESS, P.K. & STUMPF, S. 1991. The diversity of stamen structure in "Lower" Roside (Rosales, Fabales, Proteales, Sapindales). *Botanical Journal of Linnean Society* 107:217-293.
- GABRIEL, B.L. 1982. Biological electron microscopy. Nostrand Reinhold Company, New York.
- GERRITS, P.O. & SMID, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132:81-85.
- GERSTERBERGER, P. & LEINS, P. 1978. Rasterelektronenmikroskopische untersuchungen an Blütenknospen von *Physalis philadelphica* (Solanaceae) Anwendung einer neuen Präparationsmethode. *Berichte der Deutsche Botanische Gesellschaft* 91:381-387.
- GOLDBERG, K.S., BEALS, T.P. & SANDERS, P.M. 1993. Anther development: Basic principles and practical applications. *The Plant Cell* 5:1271-1229.
- GRANT, S.R., HUNKIRCHEN, B. & SEADLER, H. 1994. Development differences between male and female flowers in the dioecious plant *Silene latifolia*. *Plant Journal* 6:471-480.
- GREYSON, R.I. 1994. The androecium. In *The development of flowers* (R.I. Greyson, ed). Oxford University Press, Oxford, p.87-129.
- GUPTA, S.C. & NANDA, K. 1978. Ontogeny and histochemistry of dimorphic tapetum in *Tecoma stans* anthers. *Bulletin de la Société Botanique de France* 1-2:129-134.
- HILL, J.P. 1996. Heterochrony in the anther. In *The anther: form, function and phylogeny* (W. D'Arcy & R.C. Keating, eds.). Cambridge University Press, Cambridge, p.118-135.
- HILL, J.P. & LORD, E.M. 1990. The role of developmental timing in the evolution of the floral form. *Seminaries in Developmental Biology* 1:281-287.
- JOHRI, B.M., AMBEGAOKAR, K.B. & SRIVASTAVA, P.S. 1992. Comparative embryology of Angiosperms. Springer Verlag, Berlin.
- KELKAR, S.S. 1958. Embryology of *Rhus mysurensis* Heyne. *Journal of Indian Botanical Society* 37:114-122.
- LEBEL-HARDENACK, S. & GRANT, R.S. 1997. Genetics of sex determination in flowering plants. *Trends in Plant Science* 2:130-136.
- LORD, E.M. & HILL, J.P. 1987. Evidence for heterochrony in the evolution of plant form. In *Development as an evolutionary process* (R.A. Raff, & E. Raff, eds.). p.47-70.
- MAHESHWARI, P. 1950. An introduction to the embryology of Angiosperms. Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd., New Delhi.
- MARIATH, J.E.A., MOÇO, M.C.C., OLIVEIRA, J.M.S., DE TONI, K.L., SANTOS RINALDO, P.E. SANTOS, R.P. 2000. Embriologia: atualidade e importância na ciência botânica. In *Tópicos atuais em botânica* (T.B. Cavalcanti, coord.). EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia/Sociedade Botânica do Brasil, Brasília, p.95-100.
- MAYERS, A.M. & LORD, E.M. 1983. Comparative flower development in the cleistogamous species *Viola odorata* II. An organographic study. *American Journal of Botany* 70:1556-1563.
- MINTER, T.C. & LORD, E.M. 1983. A comparison of cleistogamous and chasmogamous floral development in *Collomia grandiflora* Dougl. ex Lindl. (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* 70:1499-1508.
- NANDA, K. & GUPTA, S.C. 1978. Studies in the Bignoniaceae. II. Ontogeny of dimorphic anther tapetum in *Tecoma*. *American Journal of Botany* 65:400-405.
- O'BRIEN, T.P. & McCULLY, M.E. 1981. The study of plant structure. Principles and selected methods. Termarcaphi Pty. Ltd., Melbourne.
- OLIVEIRA, J.M.S. & MARIATH, J.E.A. 2001 Anther and pollen development in *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) clone CP76. *Phytomorphology* 51:91-100.
- PERYASAMY, K. & SWAMY, B.G.L. 1966. Morphology of the anther tapetum of angiosperms. *Current Science* 35:427-430.
- RAGHAVAN, V. 1988. Anther and pollen development in rice (*Oryza sativa*). *American Journal of Botany* 75:183-196.
- RAGHAVAN, V. 1998. Molecular embryology of flowering plants. Cambridge University Press, Cambridge.
- RUTISHAUSER, A. 1982. Introducción a la embriología y biología de la reproducción de las Angiospermas. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- SATINA, S. & BLAKESLEE, A.F. 1941. Periclinal chimeras in *Datura stramonium* in relation to development of leaf and flower. *American Journal of Botany* 28:862-871.
- SHERIDAN, W.F., GOLUBEVA, E.A., ABRHAMOVA, L.I. & GOLUBOVSKAYA, I.N. 1999. The *macl* mutation alters the developmental fate of the hypodermal cells and their cellular progeny in the maize anther. *Genetics* 153:933-941.
- SRINIVASACHAR, D. 1940. Morphological studies in the family Anacardiaceae. *Journal Mysore University* 1:83-91.
- STEWART, R.N. & DERMEN, H. 1979. Ontogeny of monocotyledons as revealed by studies of the developmental anatomy of periclinal chimeras. *American Journal of Botany* 66:47-58.
- TUCKER, S.C. 1992. The role of the floral development in studies of legume evolution. *Canadian Journal of Botany* 70:692-700.
- TUCKER, S.C. 1997. Floral evolution, development, and convergence: the hierarchical-significance hypothesis. *International Journal of Plant Science* 158:143-161.
- VIJAYARAGHAVAN, M.R. & RATNAPARKHI, S. 1973. Dual origin and dimorphism of the anther tapetum in *Alectra thomsoni* Hook. *Annals of Botany* 37:355-359.
- WUNNACHIT, W., JENNER, C. & SEDGLEY, M. 1992. Pollen vigour and composition in relation to andromonoecy in cashew (*Anacardium occidentale* L.: Anacardiaceae). *Sexual Plant Reproduction* 5:264-269.