

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

ESTUDO DOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS EM MYRTACEAE
COMO CONTRIBUIÇÃO À FILOGENIA DO GRUPO

Coordenador/Responsável
Káthia Socorro Mathias Mourão

SUMÁRIO

PRODUÇÕES DE MAIOR RELEVÂNCIA (5 ANOS).....	3
EQUIPE EXECUTORA.....	4
RESUMO.....	4
INTRODUÇÃO.....	6
JUSTIFICATIVAS.....	9
OBJETIVOS.....	10
MATERIAL E MÉTODOS.....	10
REFERÊNCIAS.....	13
RESULTADOS ESPERADOS.....	17
INFRAESTRUTURA DISPONÍVEL.....	18
CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO.....	19
RESUMO/ORÇAMENTO.....	22

PRODUÇÕES DE MAIOR RELEVÂNCIA NOS ÚLTIMOS 5 (CINCO) ANOS

Formação de Recursos Humanos

Mestrados (5 alunos): Flávia Trzeciak; Daniela Granella Gomes Guidoti, Anielen Cássia Tormena Cavazin, Bruna Mary Matuguma Tanaka e Marta Eglaré Camargo Asinelli; **Iniciações Científicas/PIBIC (3 alunos):** Patricia Sayuri Ueda Magalhães, Flavia Carolina Moreira e Samanta Suyanni dos Santos. Atualmente, são 4 orientações de Doutorado, 4 de Mestrado e 1 Iniciação Científica.

Produção Científica e Tecnológica

Foram publicados nove artigos científicos, destacando-se: Fruit ontogeny of *Garcinia gardneriana* (Planch. & Triana) Zappi (Clusiaceae). **Acta Botanica Brasileira**, v.25, p.43-52, 2011; Morfoanatomia e ontogênese dos frutos e sementes de *Clusia lanceolata* Cambess. (Clusiaceae). **Acta Scientiarum**, v.32, p.437-444, 2010; Estudo morfo-anatômico da folha e do caule de *Piper arboreum* Aublet (Piperaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.28, p.103-107, 2009; Fruit ontogenesis in *Clusia parviflora* (Sald.) Engler (Clusiaceae). **Acta Botanica Brasileira**, v.23, p.797-804, 2009; A Comparative Anatomical Study of the Stems of Lianas from the Forest Remnants of Maringá, Brazil. **Gayana Botánica**, v.65, p.32-40, 2008; Soybean (*Glycine max*) Root Lignification Induced by Ferulic Acid. The Possible Mode of Action. **Journal of Chemical Ecology**, v.34, p.1230-1241, 2008.

No ano de 2011, além da organização do livro intitulado “**Morfologia e Anatomia Vegetal. Maringá: EDUEM, 194p**” a ser utilizado pelo sistema da Universidade Aberta do Brasil (UAB), a coordenadora do presente projeto foi autora de 11 capítulos deste livro. Participou, também, da autoria do capítulo intitulado “**Morfologia da plântula e do tirodendro**” do livro: SOUZA, L.A. (org.): Sementes e plântulas. 1ed. Ponta Grossa: TODAPALAVRA, 2009.

É interessante destacar que a autora do presente projeto tem larga experiência na linha de morfoanatomia de órgão reprodutivos, tendo trabalhado neste tema com espécies de Clusiaceae/Hypericaceae, cujos artigos resultantes foram citados na obra: KUBITZKI, K. (ed.) **The families and genera of Vascular Plants**. v. 10. p. 48-66, p.194-201, 2007

Gestão Científica e Acadêmica na UEM

A proponente foi de 2005 a 2008 Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada, de 2008 a 2012 Diretora do Centro de Ciências Biológicas e exerce atualmente o cargo de Diretora Adjunta do Centro de Ciências Biológicas (Gestão 2012 a 2016)

EQUIPE EXECUTORA

Káthia Socorro Mathias Mourão (coordenadora/Responsável)¹ – Morfologia Vegetal

Luiz Antonio de Souza (pesquisador participante)¹ – Morfologia Vegetal

Mariza Barion Romagnolo (pesquisadora participante)¹ – Sistemática Vegetal

Adriana Lenita Meyer Albiero (pesquisadora participante)² – Botânica/Farmácia

Daniela Dias Pinto (pesquisadora participante)¹ – Morfologia Vegetal

Marta Regina Barrotto do Carmo (pesquisadora participante)⁵ – Ecologia Vegetal

Dalva Cassie Rocha (pesquisadora participante)⁵ – Morfologia Vegetal

Vanessa de Carvalho Harthman³ – Estudante/Doutorado

Flavia Tzeciak Limeira³ – Estudante/Doutorado

Nayara Carreira Machado³ – Estudante/Mestrado

Adrielle Jayrine Oliveira Froemming³ – Estudante/Mestrado

Luana Martos³ – Estudante/Mestrado

Bolsista de Iniciação Científica⁴

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia¹, Departamento de Farmácia e Farmacologia², Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada (PGB)³; Curso de Ciências Biológicas⁴; Avenida Colombo, 5790, (87020-900) Maringá, Paraná; ksmmourao@uem.br; Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Biologia Geral⁵. Av. Gel. Carlos Cavalcanti, 4748 (84030-900) Uvaranas, Ponta Grossa, Paraná

RESUMO

Os estudos morfoanatômicos e de ontogênese de órgãos reprodutivos são importante ferramenta para a correta classificação destas estruturas em Angiospermas e ainda são pouco representativos considerando o número de espécies do grupo. Especialmente em Myrteae (Myrtaceae), podem contribuir com as atuais filogenias do grupo baseadas, principalmente, em dados moleculares. Estudos sobre órgãos reprodutivos nesta tribo destacam a importância destes dados no entendimento da evolução dos caracteres, principalmente os que busquem diferenças entre estados de caráter aparentemente idênticos com origens independentes, como é o caso dos frutos carnosos e do tipo de embrião. A vegetação campestre e, também, as formações florestais do Estado do Paraná têm

Myrtaceae como uma das mais importantes ou a mais representativa família em riqueza florística e todas as espécies listadas nos levantamentos realizados, da mesma forma que todos os representantes americanos de Myrtaceae, estão incluídos em Myrteae. Diante da necessidade de ampliar o conhecimento sobre os órgãos reprodutivos em Myrtaceae como subsídio as atuais discussões sobre padrões filogenéticos nas espécies que apresentam frutos carnosos e, também, de fornecer dados que corroborem com a conservação de espécies que ocorrem em fragmentos florestais e, principalmente, nas formações campestres do Estado do Paraná, o presente projeto objetiva descrever a anatomia floral e a ontogênese do pericarpo e da semente de espécies de Myrteae que se enquadram nas subtribos ou clados das atuais propostas de classificação da tribo baseadas em dados moleculares. Espera-se neste estudo encontrar resultados quanto à morfoanatomia de órgãos reprodutivos que possam reforçar as atuais propostas de classificação de Myrteae. A coleta do material, representando 11 gêneros, será realizada em formações florestais e campestres do Estado do Paraná (Estação Ecológica do Caiuá, Parque Estadual de Vila Velha e do Guartelá) e, posteriormente, processado de acordo com técnicas usuais para análise em microscopia de luz e eletrônica de varredura (MEV). Considerando a experiência dos botânicos do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá em pesquisas que envolvem a morfoanatomia de órgãos reprodutivos, comprovada por artigos, capítulos de livro e livros publicados na área, o presente projeto também objetiva iniciar uma parceria entre a Universidade Estadual de Maringá e a Universidade Estadual de Ponta Grossa e, assim, propiciar a integração entre pesquisadores botânicos das duas instituições. Vale ressaltar que na Universidade Estadual de Maringá a equipe do projeto contará com a infraestrutura do Laboratório de Anatomia Vegetal e da Central de Apoio a Pesquisa (CONCAP), ambos com todos os equipamentos e materiais de consumo necessários à execução da presente proposta. Outro aspecto importante a destacar é que teses de doutorado, dissertações de mestrado e trabalhos de iniciação científica serão desenvolvidos em projetos vinculados a esta proposta, contando com recursos do PROAP para a sua viabilização.

Palavras-chave – Ontogênese, vascularização floral, fruto, MEV, Myrtaceae

INTRODUÇÃO

Myrtaceae, incluída em Myrtales (APG 2009), é constituída por 3800 a 5800 espécies distribuídas em aproximadamente 130 gêneros (Wilson *et al.*, 2001, Govaerts *et al.*, 2008). De acordo com Souza e Lorenzi (2008), ocorrem no Brasil 26 gêneros e 1000 espécies, e segundo Govaerts *et al.* (2008) os gêneros com maior número de espécies são: *Eugenia* (1000), *Myrcia* s.l. (incluindo *Calyptranthes*, *Gomidesia* e *Marlierea*, 760), *Psidium* (92) e *Campomanesia* (37).

De acordo com Lucas *et al.* (2005) há muita controvérsia na literatura quanto à circunscrição de gêneros e espécies em categorias infrafamiliais em Myrtaceae. Até recentemente a família era dividida em duas grandes subfamílias, Myrtoideae, com frutos do tipo baga e filotaxia oposta, e Leptospermoideae, com frutos capsulares secos e filotaxia alterna (Wilson *et al.* (2001). Entretanto, com base em dados moleculares e morfológicos, Wilson *et al.* (2001) sugeriram que a presença de frutos deiscentes é um estado plesiomórfico e que os frutos indeiscentes originaram-se em quatro ocasiões diferentes na família. Posteriormente, Wilson *et al.* (2005), utilizando dados da sequência *matK*, reavaliaram a classificação infrafamilial de Myrtaceae e propuseram a subfamília Myrtoideae, com 15 tribos e uma nova subfamília, Psiloxylloideae, com duas tribos monoespecíficas.

Myrteae é a tribo com maior diversidade de gêneros dentro de Myrtoideae, encontrando-se nela todos os representantes americanos de Myrtaceae (exceto o gênero monotípico chileno *Tepualia*) e ainda cerca de 35 gêneros paleotropicals com frutos carnosos (Lucas *et al.* 2007). Baseando-se em caracteres morfológicos do embrião, Myrteae foi dividida por Berg (1855-56, 1857-59) em três subtribos: Eugeniinae, Myrciinae e Myrtinae. Entretanto, na proposta de Wilson *et al.* (2005), Myrteae apresenta cinco subtribos: Eugeniinae, Myrciinae, Myrrhiniinae, Pimentinae e Feijoinae.

De acordo com dados moleculares as espécies com frutos carnosos de Myrtaceae foram reagrupadas em dois clados ou tribos de Myrtoideae, Myrteae e Syzygeae (Wilson *et al.*, 2005) e segundo Lucas *et al.* (2005) nas três subtribos de Myrteae *sensu* Berg (1855-1856; 1857-1959), Eugeniinae e Myrtinae parecem polifiléticas, mas a monofilia de Myrciinae foi confirmada.

Para Wilson *et al.* (2001) o fruto carnoso teve três origens em Myrtaceae, entretanto, Biffin *et al.* (2010) afirmam que surgiram múltiplas vezes. Segundo Moreira-Coneglian (2011) isto indica que o caráter é homoplásico e evoluiu paralelamente em Myrtaceae e embora isso dificulte o uso em comparações a

ontogênese do pericarpo pode evidenciar as peculiaridades de uso potencial nas filogenias da família.

Nas análises filogenéticas mais recentes para Myrteae realizadas por Lucas *et al.* (2005, 2007), Eugeniinae e Myrtinae são grupos polifiléticos enquanto Myrciinae, sem *Myrceogenia*, é monofilética. Nesta análise, *Myrceogenia*, *Blepharocalyx* e *Luma* não apresentam posição definida. Estes autores sugerem ainda que se abandone a classificação infrafamilial de Berg e para Myrteae definem grupos subtribais informais baseados nos clados gerados pela análise molecular combinada e, também, pela combinação de caracteres morfológicos úteis a esta circunscrição. São eles: o 'grupo *Plinia*', o 'grupo *Eugenia*', o 'grupo *Myrcia*', o 'grupo *Myrceogenia*', o 'grupo *Myrteola*', o 'grupo *Pimenta*' e o 'grupo Australasian'.

Ampla revisão sobre estudos com órgãos reprodutivos em Myrtaceae, foi realizada por Moreira-Coneglian (2011) em sua tese intitulada "Morfoanatomia de ovário, pericarpo e semente de sete espécies de Myrteae DC. (Myrtaceae): *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, *Eugenia aurata* O. Berg, *Eugenia bimarginata* DC., *Myrcia bella* Cambess., *Myrcia laruotteana* Cambess., *Psidium australe* var. *argenteum* (O. Berg) Landrum e *Psidium guineense* Sw. A autora destaca que segundo Schmid (1972), o conhecimento das estruturas reprodutivas dos membros de Myrtaceae é bastante escasso e, embora tal referência já tenha sido feita há quatro décadas, pouco foi acrescentado nesta área do conhecimento.

Segundo Moreira-Coneglian (2011) estudos ontogênicos de órgãos reprodutivos em Myrtaceae podem fornecer informações relevantes para a evolução dos caracteres nos grupos infrafamiliares, principalmente os que busquem diferenças entre estados de caráter aparentemente idênticos com origens independentes, como é o caso dos frutos carnosos e, também, conforme destacado por Lucas *et al.* (2007) quanto ao tipo de embrião.

Para Moreira-Coneglian (2011), dentre os estudos da anatomia floral, aqueles que envolvem vascularização floral mostra-se promissor para fornecer informações a respeito das características vasculares das espécies das subtribos de Myrteae. Com relação ao fruto afirma que os resultados obtidos em seu estudo sugerem que os pericarpos de Myrteae são ricos em informações e que a disponibilização de novos dados pode permitir o seu uso em análises filogenéticas, podendo esclarecer a evolução dos estados desse caráter na família.

Em relação às sementes, Moreira-Coneglian (2011) descreve que os resultados obtidos ilustram a variedade morfológica presente na tribo, e mostram

que o estudo das sementes de maior número de espécies deste grupo pode acrescentar dados ainda pouco disponíveis na literatura, como a presença de paucicalaza, pericalaza e sarcotesta.

Moreira-Coneglian (2011) registra ainda que os órgãos reprodutivos de espécies de Myrteae constituem amplo campo de investigação, e que o aumento no volume de dados pode permitir a utilização em estudos filogenéticos que, associados às análises moleculares, permitem compreender a evolução do grupo.

De acordo com Cervi *et al.* (2007) a degradação ambiental no estado do Paraná atingiu níveis alarmantes e muitas das áreas degradadas abrigavam espécies endêmicas e desconhecidas. Com relação às formações campestres da América do Sul, situadas abaixo do trópico de Capricórnio, o nível de proteção é de menos de 0,3%, formando uma das áreas mais ameaçadas do Continente (Bilenca & Miñarro, 2004).

Myrtaceae é a mais representativa ou está entre as famílias mais importantes em levantamentos florísticos e fitossociológicos realizados no Brasil. Nos levantamentos realizados em vegetação campestre do Estado do Paraná por Carmo (2006), Cervi *et al.* (2007) e Carmo e Assis (2012), Myrtaceae encontra-se entre as 10 famílias de maior riqueza específica.

Diante da necessidade de ampliar o conhecimento sobre os órgãos reprodutivos em Myrtaceae como subsídio às atuais discussões sobre padrões filogenéticos nas espécies que apresentam frutos carnosos e, também, de fornecer dados que corroborem com a conservação de espécies que ocorrem em fragmentos florestais e, principalmente nas formações campestres do Estado do Paraná, o presente projeto objetiva descrever a anatomia floral e a ontogênese do pericarpo e da semente de espécies que ocorrem nestes ambientes e que se enquadram nas subtribos de Myrteae *sensu* Wilson *et al.* (2005) e nos clados propostos por Lucas *et al.* (2007) para a tribo.

ESPÉCIES A SEREM SELECIONADAS PARA O ESTUDO

Serão selecionadas espécies de **dez (10)** gêneros de acordo com a disponibilidade de material reprodutivo em diferentes fases de desenvolvimento, ao longo do período de coleta, incluídos em diferentes subtribos (*sensu* Wilson *et al.*, 2005) ou clados (*sensu* Lucas *et al.*, 2007) sulamericanos de Myrteae e **uma (1)** espécie de *Blepharocalyx*, gênero de posição indefinida, que ocorrem em vegetação campestre e de mata do Estado do Paraná.

Vale destacar, que o número de táxons que ocorre nesses ambientes e que não foi estudado em detalhe quanto à ontogênese do fruto totaliza cerca de 73, distribuídos como segue: **Posição indefinida** - *Blepharocalyx* (2 espécies); **Grupo “Eugenia”**- *Eugenia* (21 espécies); **Grupo “Pimenta”** – *Campomanesia* (6 espécies), *Pimenta* (1 espécie), *Psidium* (13 espécies); **Grupo “Myrcia”**- *Calyptranthes* (2 espécies), *Gomidesia* (1 espécie), *Myrcia* (16 espécies); **Grupo “Plinia”**- *Myrciaria* (6 espécies), *Plinia* (2 espécies); **Grupo “Myrceugenia”** – *Myrceugenia* (4 espécies).

JUSTIFICATIVAS

Interesse botânico

Quanto ao interesse botânico, o estudo proposto justifica-se pela:

- ampliação do conhecimento sobre os órgãos reprodutivos em Myrtaceae;
- escassez de estudos ontogênicos detalhados dos frutos e sementes de angiospermas que dificulta a classificação dos tipos de frutos e das estruturas que envolvem as sementes;
- importância da descrição das características estruturais dos diásporos como ferramenta para a identificação de gêneros e, possivelmente, espécies, fornecendo subsídios as atuais discussões sobre padrões filogenéticos das espécies de Myrteae.

Interesse ecológico

Sob o aspecto ecológico, a análise morfoanatômica de órgãos reprodutivos e, especialmente, de frutos e sementes, são de suma importância em estudos de regeneração ambiental. Contribuem, dentre outros, para a identificação das espécies em estudos de dispersão, bem como de sucessão ecológica, viabilizando a aplicação dos métodos de manejo para a recuperação de áreas degradadas antes ocupadas por vegetação similar à da área estudada.

Outro aspecto a destacar é que a descrição morfoanatômica dos órgãos reprodutivos, bem como o preparo de ilustrações de qualidade, pode ser utilizada na elaboração de material visando à divulgação da flora dos Campos Gerais, aspecto importante tanto ao ecoturismo da região quanto aos projetos de educação ambiental.

Interesse econômico

No campo econômico, as áreas objeto de estudo representam importantes redutos da biodiversidade e, em especial, da vegetação campestre do sul do Brasil. Deste modo, todo e qualquer estudo visando ampliar o conhecimento a respeito das espécies que ali ocorrem podem contribuir na descoberta de novos produtos a serem utilizados pelo homem e na exploração econômica decorrente do ecoturismo da região.

A pesquisa das estruturas florais, dos frutos e das sementes é indispensável na domesticação de uma planta e fornece subsídios ao seu controle e melhor aproveitamento pelo homem.

OBJETIVOS

Objetivo geral

O projeto visa o estudo morfoanatômico da flor, fruto (pericarpo e semente) em desenvolvimento de espécies de Myrtaceae que ocorrem em diferentes formações vegetais do Estado do Paraná e, principalmente, nas formações vegetacionais do Parque Estadual de Vila Velha, município de Ponta Grossa e do Parque Estadual do Guartelá, município de Tibagi.

Objetivos específicos

Análise morfoanatômica das flores de onze espécies incluídas nos cladogramas propostos pelas análises filogenéticas recentes para Myrteae.

Análise do fruto (pericarpo e semente) em desenvolvimento das mesmas espécies incluídas no estudo morfoanatômico da flor, com ênfase no desenvolvimento embrionário.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de material botânico

A coleta do material botânico (ramos com botões florais, flores e frutos em diferentes fases de desenvolvimento) das onze espécies a serem estudadas será realizada em diferentes formações vegetacionais que ocorrem no Parque Estadual de Vila Velha, município de Ponta Grossa (25° 14' 09" S e 50° 00' 17" W) e no Parque Estadual do Guartelá, município de Tibagi (24°39'10"S e 50°15'25"W),

ambos no Estado do Paraná. As coletas também serão realizadas na Estação Ecológica de Caiuá (22°45' S e 52°45' W), unidade de conservação situada também no estado do Paraná, município de Diamante do Norte, onde a Universidade Estadual de Maringá conta com a infra-estrutura do Campus do Arenito. Com os ramos e informações sobre a planta coletada, como ambiente, nome vulgar, época de floração e frutificação, dentre outras, serão montadas exsicatas e depositadas/registradas no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM) e Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (HUPG), que deverão ser encaminhadas para a confirmação de identificação para especialistas no grupo.

O material coletado para os estudos morfoanatômicos será acondicionado em sacos plásticos umedecidos e levado para o Laboratório de Anatomia Vegetal da UEM para análise e fixação.

Morfoanatomia da flor, do fruto e da semente em desenvolvimento (microscopia de luz)

As flores abertas e em pré-antese e os frutos e sementes em desenvolvimento serão analisados morfológica e estruturalmente.

Morfologia

A terminologia utilizada para a descrição morfológica da flor e do fruto (pericarpo e semente) se baseará na literatura botânica, como Johri (1984), Weberling (1992), Spjut (1994), Werker, 1997, Barroso *et al.* (1999), Souza (2003), Souza (2006), Gonçalves & Lorenzi (2007) e outros. O estudo da flor e do fruto será ilustrado mediante desenhos e/ou fotografias digitais. A ilustração destes órgãos também será feita em microscópio estereoscópico Leica EZ4D com câmera digital embutida, e posterior captação de imagem em computador.

Anatomia

Fixação

O material botânico coletado - botões florais, flores e frutos em desenvolvimento das espécies a serem estudadas - após a retirada do ar dos tecidos, será fixado em FAA 50, FPA 50, glutaraldeído ou outro fixador, e armazenado em álcool 70% (Johansen, 1940).

Preparo de lâminas

O estudo anatômico do material botânico será feito em seções executadas em diversos planos dos órgãos vegetais, realizadas à mão livre ou então obtidas em micrótomo de rotação.

Com as seções manuais serão montadas lâminas temporárias e lâminas semipermanentes. As seções, após coloração em safranina e azul de astra ou outro corante, serão montadas entre lâmina e lamínula, em água (lâminas temporárias) ou em glicerina a 33% (ou gelatina glicerinada), e lutadas posteriormente, com esmalte incolor (lâminas semipermanentes).

As lâminas permanentes serão confeccionadas com as peças botânicas fixadas, já submetidas à desidratação em série alcoólica etílica, incluídas em historresina Leica, conforme orientações especificadas no produto, e seccionadas em micrótomo de rotação. As seções assim obtidas serão coradas com azul de toluidina (O'Brien *et al.*, 1965). O material botânico também poderá ser emblocado em parafina, seccionado em micrótomo de rotação e corado em hematoxilina de Ehrlich e safranina, segundo técnica descrita em Johansen (1940).

Testes histoquímicos

Serão realizados testes histoquímicos para diferentes substâncias que ocorrem na parede celular ou no protoplasta, utilizando-se corantes e reagentes específicos (Johansen, 1940; Rawlins & Takahashi, 1952; Berlyn & Mikshe, 1976; Pearse, 1980; Kraus & Arduin, 1997; Souza *et al.* 2005).

Diafanização de gineceu, ovário ou óvulo

O gineceu, ovário ou óvulo poderão ser diafanizados conforme método de Herr (1971), Smith (1973) ou French (1987).

Terminologia a ser adotada para estudo do fruto e semente

Será consultada bibliografia pertinente para adoção de terminologia na descrição de frutos e sementes, como: Corner (1976); Roth (1977), Johri (1984), Werker (1997), Betrati & Paoli (2006), Souza (2006, 2009) e outras referências bibliográficas.

Análise em MEV

A análise dos órgãos reprodutivos das várias espécies será feita em amostras fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965), desidratadas em série etílica e, em seguida, secas ao ponto crítico de CO₂ (Horridge & Tamm, 1969). Em seguida, as amostras serão montadas sobre suportes de alumínio e cobertas com uma camada de ouro de 30 a 40 nm.

A análise ultra-estrutural será feita em microscópio eletrônico de varredura (MEV) modelo Shimadzu SS 550, com as escalas das micrografias eletrônicas diretamente impressas nas mesmas. A descrição das camadas cuticulares será realizada de acordo com a padronização proposta por Barthlott *et al.* (1998).

Ilustração

A ilustração anatômica será feita mediante desenhos elaborados ao microscópio binocular Willd., com auxílio de câmara clara ou fotomicrografias. Estas serão obtidas por captura de imagem por câmera digital Canon Power Shot A95 (Zoom Browser EX 4.6) ou microscópio Leica com câmera digital. As escalas referentes às ilustrações serão obtidas com lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para cada caso.

REFERÊNCIAS

- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, p.105 – 121, 2009
- BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F. **Frutos e sementes (morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas)**. Viçosa: Editora Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- BARTHLOTT, W.; NEINHUIS, C.; CUTLER, D.; DITSCH, F.; MEUSEL, I.; THEISEN, I.; WILHELMI, H. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. **Botanical Journal of Linnean Society**, v. 126, p. 237-260, 1998.
- BELTRATI, C. M.; PAOLI, A. A. S. Semente. In: Appezzato-da-Gória, B.; Carmello-Guerreiro, S. M. **Anatomia vegetal**. 2ª edição. Viçosa: Editora Universidade Federal de Viçosa, 2006.
- BERG, O. Revisio Myrtacearum Americae huc usque cognitarum s. Klotzschii "Flora Americae aequinoctialis" exhibens Myrtaceas. **Linnaea** 27: 1-472, 1855-1856. *apud* LUCAS, E.J.; HARRIS, S.A.; MAZINE, F.F.; BELSHAM, S.R.; Nic LUGHADHA, E.M.; TELFORD, A.; GASSON, P.E.; CHASE, M.W. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). **Taxon**, v.56, n.4, p.1105-1128, 2007.
- BERG, O. Myrtaceae. In: MARTIUS, C.F.P. (Ed.). **Flora Brasiliensis**.v.14. 1857-1859. 655p *apud* LUCAS, E.J.; HARRIS, S.A.; MAZINE, F.F.; BELSHAM, S.R.; Nic LUGHADHA, E.M.; TELFORD, A.; GASSON, P.E.; CHASE, M.W.

- Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). **Taxon**, v.56, n.4, p.1105-1128, 2007.
- BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: The Iowa State University, 1976.
- BIFFIN, E.; LUCAS, E.J.; CRAVEN, L.A.; COSTA, I.R.; HARRINGTON, M.G.; CRISP, M.D. Evolution of exceptional species richness among lineages of flesh-fruited Myrtaceae. **Annals of Botany**, v.106, p. 79-93, 2010.
- BILENCA, D.N; MIÑARRO, F.O. **Identificação de áreas valiosas de pastizal (AVPs) em lãs pampas y campos de Argentina, Uruguay y sur de Brasil**. Fundación. Vida Silvestre Argentina. 2004. 352p *apud* CERVI, A.C.; Van LINSINGEN, L.; HATSCHBACH, G.; RIBAS, O.S. A Vegetação do Parque Estadual de Vila Velha. **Boletim do Museu Botânico Municipal**, n. 69, p. 1-51, 2007.
- CARMO, M.R.B. **Caracterização Fitofisionômica do Parque Estadual do Guartelá, Município de Tibagi, Estado do Paraná**. 2006. 152 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, 2006.
- CARMO, M.R.B.; ASSIS, M.A. Caracterização florística e estrutural das florestas naturalmente fragmentadas no Parque Estadual do Guartelá, município de Tibagi, estado do Paraná. **Acta Botanica Brasílica**, v. 26, n. 1, p.133-145, 2012
- CERVI, A.C.; Van LINSINGEN, L.; HATSCHBACH, G.; RIBAS, O.S. A Vegetação do Parque Estadual de Vila Velha. **Boletim do Museu Botânico Municipal**, n. 69, p. 1-51, 2007.
- CORNER, E. J. H. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge: Cambridge University Press, 1976.
- FRENCH, J. C. Structure of ovular and placental trichomes of Araceae. **The Botanical Gazette**, v. 148, n.2, p. 198-208, 1987.
- GONÇALVES, E. G.; LORENZI, H. **Morfologia vegetal (organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares)**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2007.
- GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, P; BARRIE, F.; HOLST, B.; LANDRUM, L.; LUCAS, E.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F.; PROENÇA, C.; SOARES-SILVA, L.; WILSON, P.; Nic LUGHDHA, E. **World Checklist**

- of selected plant families – Myrtaceae.** 2008 *apud* COSTA, I.R. **Estudos evolutivos em Myrtaceae: aspectos citotaxonômicos e filogenéticos em Myrteae, enfatizando *Psidium* e gêneros relacionados.** 2009. 244 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 2009.
- HERR, J. M. Jr. A new clearing-squash technique for study of the ovule development in angiosperms. **American Journal of Botany**, v. 58, n.8, p. 785-790, 1971.
- HORRIDGE, G.A.; TAMM, S.L. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliary motion. **Science** v.163, n.3869, p.817-818, 1969.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique.** New York: McGraw-Hill, 1940.
- JOHRI, B. M. (ed.) **Embryology of angiosperms.** Berlin: Springer-Verlag, 1984.
- KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v.27, n.2, p.137-138, 1965.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal.** Seropédica: Rio de Janeiro: Editora Universidade Rural, 1997.
- LUCAS, E.J.; BELSHAM, S.R.; Nic LUGHADHA, E.M.; ORLOVICH, D.A.; SAKURAGUI, C.M.; CHASE, M.W.; WILSON, P.G. Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae – preliminary molecular evidence. **Plant Systematics and Evolution**, v.251, p.35-51, 2005.
- LUCAS, E.J.; HARRIS, S.A.; MAZINE, F.F.; BELSHAM, S.R.; Nic LUGHADHA, E.M.; TELFORD, A.; GASSON, P.E.; CHASE, M.W. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). **Taxon**, v.56, n.4, p.1105-1128, 2007.
- MOREIRA-CONEGLIAN, I.R. **Morfoanatomia de ovário, pericarpo e semente de sete espécies de Myrteae DC (Myrtaceae).** 2011. 115 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011.
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1965.
- PEARSE, A. G. E. **Histochemistry: theoretical and applied.** V. II. London: Longman Group, 1980.
- RAWLINS, T. E.; TAKAHASHI, W. N. **Technics of plant histochemistry and virology.** Millbrae: The National Press, 1952.

- ROTH, I. Fruits of angiosperms. In: Linsbauer, K. (ed.) **Encyclopedia of plant anatomy**. Berlin: Gebrüder Borntraeger, cap. 10, n.1, 1977.
- SCHMID, R. Floral anatomy of Myrtaceae. I. *Syzygium*. **Botanische Jahrbücher für Systematik**, v.92, p.433-489, 1972a. *apud* MOREIRA-CONEGLIAN, I.R. **Morfoanatomia de ovário, pericarpo e semente de sete espécies de Myrteae DC (Myrtaceae)**. 2011. 115 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Bociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011.
- SCHMID, R. Floral anatomy of Myrtaceae. II. *Eugenia*. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.53, p.336-363, 1972b. *apud* MOREIRA-CONEGLIAN, I.R. **Morfoanatomia de ovário, pericarpo e semente de sete espécies de Myrteae DC (Myrtaceae)**. 2011. 115 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Bociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011.
- SCHMID, R. A resolution of the *Eugenia – Syzygium* controversy (Myrtaceae). **American Journal of Botany**, v.59, n.4, p.423-436, 1972c. *apud* MOREIRA-CONEGLIAN, I.R. **Morfoanatomia de ovário, pericarpo e semente de sete espécies de Myrteae DC (Myrtaceae)**. 2011. 115 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Bociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011.
- SMITH, B. B. The use of a new clearing technique for the study of early ovule development, megasporogenesis, and megagametogenesis in five species of *Cornus* L. **American Journal of Botany**, v. 60, n.4, p. 322-338, 1973.
- SOUZA, L. A. **Morfologia e anatomia vegetal (célula, tecidos, órgãos e plântula)**. Ponta Grossa: Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2003.
- SOUZA, L. A. (org.) **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa: Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2006.
- SOUZA, L. A. (org.) **Sementes e plântulas – germinação, estrutura e adaptação**. Ponta Grossa: Todapalavra Editora, 2009.
- SOUZA, L. A.; ROSA, S. M.; MOSCHETA, I. S.; MOURÃO, K. S. M.; RODELLA, R. A.; ROCHA, D. C.; LOLIS, M. I. G. A. **Morfologia e anatomia vegetal – técnicas e práticas**. Ponta Grossa: Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2005.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704p.

- SPJUT, R. W. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, v. 70, p. 1-182, 1994.
- WEBERLING, F. **Morphology of flowers and inflorescences**. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.
- WERKER, E. **Seed anatomy**. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1997.
- WILSON, P.G.; O'BRIEN, M.M.; GADEK, P.A.; QUINN, C.J. Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. **American Journal of Botany**, v.88, p.2013-2025, 2001.
- WILSON, P.G.; O'BRIEN, M.M.; HESLEWOOD, M.M.; QUINN, C.J. Relationships within Myrtaceae *sensu lato* based on a *matK* phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**, v.251, p.3-19, 2005.

RESULTADOS ESPERADOS

Os resultados alcançados no projeto deverão propiciar a publicação de no mínimo sete (7) trabalhos científicos em revistas indexadas. Esses trabalhos também serão apresentados em Congressos Nacionais de Botânica.

Na análise estrutural das flores, frutos e sementes espera-se que:

- os feixes do hipanto tenham arranjo monocíclico;
- o hipanto de *Blepharocalyx* seja do tipo receptacular e o das demais espécies apendicular;
- a vascularização para *Blepharocalyx*, *Myrcia*, *Calypttranthes* e *Gomidesia* seja axial e para *Eugenia*, *Psidium*, *Campomanesia* e *Pimenta* seja transeptal;
- os ovários sejam biloculares para *Blepharocalyx*, *Eugenia* e *Myrcia* e tetraloculares para *Psidium*;
- os frutos sejam do tipo baga;
- os óvulos sejam campilótopos e bitegumentados em *Eugenia* e *Myrcia*, anátropo e bitegumentado em *Psidium* e anfítropo em *Blepharocalyx*;
- em *Blepharocalyx* não haja esclerificação do tegumento seminal;
- a semente seja testal em *Eugenia*, exotestal em *Myrcia* e mesotestal em *Psidium*;
- a semente seja paquicalazal em *Eugenia* e pericalazal em *Myrcia* e *Blepharocalyx*;
- a semente apresente sarcotesta em *Psidium*;
- os embriões apresentem os padrões descritos para Myrtaceae; e
- que os resultados quanto à morfoanatomia de órgãos reprodutivos possam reforçar as atuais propostas de classificação de Myrteae.

INFRAESTRUTURA DISPONÍVEL

O presente projeto será realizado com recursos disponíveis no Departamento de Biologia e na Central de Apoio a Pesquisa (CONCAP) da Universidade Estadual de Maringá. Convém destacar nestes locais os microscópios e lupas com sistema de captura de imagem acoplado e, também, o microscópio eletrônico de varredura.

Todo o material de consumo necessário à execução do projeto estará disponível no Laboratório de Morfologia e Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia e será adquirido com verba de custeio da universidade, com recursos do PROAP para o desenvolvimento das dissertações e teses sob a orientação do coordenador e participantes do projeto e, também, com recursos provenientes de projeto de prestação de serviços do Laboratório de Morfologia e Anatomia Vegetal.

As viagens de coleta, a serem realizadas periodicamente utilizando-se veículo da instituição, serão custeadas pela UEM/Depto. de Biologia e, também, com recursos do PROAP destinados ao desenvolvimento das dissertações e teses sob a orientação do coordenador e de participantes do projeto. As coletas a serem realizadas na Estação Ecológica do Caiuá contam com a infraestrutura do Campus do Arenito, na cidade de Diamante do Norte (PR), que pertence a Universidade Estadual de Maringá. As coletas a serem realizadas no Parque Estadual de Vila Velha e do Guartelá contará com o apoio e a infraestrutura da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), também no Estado do Paraná.

CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO (2012 A 2016)

Cronograma de execução/2012	
Mês/Ano	Atividades a serem desenvolvidas no projeto
Out/2012	Revisão bibliográfica. Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico.
Nov/2012	Revisão bibliográfica. Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico.
Dez/2012	Revisão bibliográfica. Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico.
Cronograma de execução/2013	
Mês/Ano	Atividades a serem desenvolvidas no projeto
Mar/2013	Revisão bibliográfica. Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico.
Abr/2013	Revisão bibliográfica. Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico.
Mai/2013	Revisão bibliográfica. Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico.
Jun/2013	Revisão bibliográfica. Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes.
Jul/2013	Revisão bibliográfica. Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes.
Ago/2013	Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Revisão bibliográfica. Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes.
Set/2013	Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Revisão bibliográfica. Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes.
Out/2013	Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Revisão bibliográfica. Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes.
Nov/2013	Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Revisão bibliográfica. Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Documentação morfológica e anatômica.
Dez/2013	Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Revisão bibliográfica. Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Documentação morfológica e anatômica.
Cronograma de execução/2014	

Mês/Ano	Atividades a serem desenvolvidas no projeto
Jan / 2014	Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Fev/ 2014	Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Mar/2014	Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Abr/ 2014	Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Mai/ 2014	Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Jun / 2014	Coleta e fixação de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Jul/ 2014	Coleta e fixação de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Documentação morfológica e anatômica.
Ago / 2014	Coleta e fixação de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Documentação morfológica e anatômica. Redação de trabalho científico.
Set / 2014	Coleta e fixação de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Documentação morfológica e anatômica. Redação de trabalho científico.
Out / 2014	Coleta e fixação de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Documentação morfológica e anatômica. Redação de trabalho científico.
Nov/ 2014	Coleta e fixação de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Documentação morfológica e anatômica. Redação de trabalho científico.
Dez/ 2014	Coleta e fixação de material botânico. Redação de trabalho científico.
Cronograma de execução/2015	
Mês/Ano	Atividades a serem desenvolvidas no projeto
Jan/ 2015	Coleta e fixação de material botânico. Redação de trabalho científico.
Fev/ 2015	Coleta e fixação de material botânico. Redação de trabalho científico.

Mar/2015	Coleta e fixação de material botânico. Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Abr/ 2015	Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Mai/ 2015	Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Jun/ 2015	Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Jul / 2015	Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Ago/ 2015	Confecção de lâminas semipermanentes e permanentes. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica.
Set / 2015	Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica. Redação de trabalho científico.
Out/ 2015	Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica. Redação de trabalho científico.
Nov/ 2015	Coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica. Redação de trabalho científico.
Dez/ 2015	Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica. Redação de trabalho científico.
Cronograma de execução/2016	
Mês/Ano	Atividades a serem desenvolvidas no projeto
Jan/ 2016	Análise morfoanatômica da flor, do fruto e da semente. Ilustração morfológica e anatômica. Redação de trabalho científico.
Fev/ 2016	Eventual coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Redação de trabalho científico.
Mar/2016	Eventual coleta e fixação de material botânico. Herborização de material botânico. Redação de trabalho científico. Redação de relatório final

RESUMO/ORÇAMENTO

Discriminação	UEM/Depto.
Equipamentos e Material Permanente *	245.350,00
Material de Consumo**	8.809,00
Viagens de coleta ***	12.000,00
Total	266.159,00

- * Recursos disponíveis na UEM/Depto. de Biologia/CONCAP.
- ** Materiais já existentes no laboratório, adquiridos com verba de custeio da universidade, com recursos do PROAP para o desenvolvimento das dissertações e teses sob a orientação do coordenador e participantes do projeto e, também, com recursos provenientes de projeto de prestação de serviços do Laboratório de Morfologia e Anatomia Vegetal.
- *** As viagens de coleta, a serem realizadas mensalmente utilizando-se veículo da instituição, serão custeadas pela UEM/Depto. de Biologia e, também, com recursos do PROAP destinados ao desenvolvimento das dissertações e teses sob a orientação do coordenador e de participantes do projeto.