

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA VEGETAL)

---

**Morfoanatomia do pericarpo, semente, folha de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. e *Psychotria trichophora* Müll. Arg., e desenvolvimento morfológico da plântula de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. (Rubiaceae, Rubioideae, Psychotrieae)**

**RITA DE CÁSSIA VIOLIN PIETROBOM**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Ciências Biológicas (Área de Concentração: Biologia Vegetal).

**Rio Claro  
Maio - 2008**

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA VEGETAL)

---

**Morfoanatomia do pericarpo, semente, folha de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. e *Psychotria trichophora* Müll. Arg., e desenvolvimento morfológico da plântula de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. (Rubiaceae, Rubioideae, Psychotrieae)**

**RITA DE CÁSSIA VIOLIN PIETROBOM**

**Orientadora: Profa. Dra. Adelita A. Sartori Paoli**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Ciências Biológicas (Área de Concentração: Biologia Vegetal).

*Dedico a realização deste sonho*

*Aos meus amados pais, Arcélio e Margarida a quem  
devo minha existência e minhas realizações.*

*Aos meus queridos irmãos, Vivian e Fernando, pelo  
companheirismo e amizade.*

*Ao Gustavo, pelo amor e por ter me tornado  
uma pessoa muito mais feliz.*

*À Neuza, pelo carinho e compreensão.*

Desejo registrar meus sinceros agradecimentos:

À **Profa. Dra. Adelita A. Sartori Paoli**, pela orientação, paciência, amizade e alegria em ensinar.

À **Profa. Dra. Vera Lúcia Scatena**, pelas sugestões dadas ao longo do curso.

Ao **Prof. Dr. Reinaldo Monteiro**, pela confiança e apoio.

Ao **Ari Roberto Pesce**, pela ajuda prestada na confecção do laminário permanente.

À Célia Maria Hebling de Moraes, pela atenção e apoio.

Aos **docentes e funcionários** do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro.

Aos **membros do Conselho de Curso**, pela confiança depositada em mim e em meu trabalho.

À **Capes**, pela bolsa concedida para o desenvolvimento desta pesquisa.

À **Ângela**, amiga de todas as horas, pela amizade, pelo ajuda nas horas mais difíceis.

Às amigas, **Suzana, Adriana e Michele** pela amizade, apoio e troca de conhecimento.

**Aos colegas de curso**, por todos os momentos.

**Índice**

Resumo.....	4
Abstract.....	6
1. Introdução geral.....	8
2. Informações sobre as espécies estudadas.....	14
3. Informações sobre os locais das coletas.....	14
4. Referências bibliográficas.....	16
Capítulo I.....	21
Capítulo II.....	49
Capítulo III.....	69
5. Considerações finais.....	84

## Resumo

*Psychotria* é o gênero maior de Rubiaceae. Representado mundialmente por cerca de 1.000 espécies é considerado taxonomicamente complexo devido ao seu tamanho e a ausência de caracteres morfológicos disponíveis para a definição dos grupos. Foram estudados aspectos estruturais do pericarpo, da semente, das folhas de *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria trichophora* e da plântula de *Psychotria hoffmannseggiana*. A estrutura e o desenvolvimento do pericarpo e da semente das espécies estudadas são semelhantes. O estágio I do desenvolvimento do fruto é representado pelo ovário de botões florais e de flores em pré-antese. O ovário é ínfero, bicarpelar, bilocular com um óvulo por lóculo, e a placentação é axial basal. A semente é originada do óvulo anátropo e unitegmentado. No estágio II, ocorre o predomínio de atividade meristemática no pericarpo (mesocarpo e endocarpo) e no tegumento da semente. O estágio III é caracterizado pela diferenciação do mesocarpo interno e endocarpo, e pelo amadurecimento das sementes. O endosperma é formado por células com paredes espessadas, grande quantidade de amido e cristais prismáticos de oxalato de cálcio. O embrião é basal espatulado rudimentar. No estágio final ocorre o amadurecimento do pericarpo por meio do aumento do tamanho das células e dos espaços intercelulares do mesocarpo. O fruto aumenta de tamanho e as células do mesocarpo tornam-se bastante alongadas, com paredes parcialmente desintegradas. O fruto maduro de ambas as espécies são drupóides com formato subgloboso. Possuem dois pirênios livres, monospermos, são dorsalmente convexos, com um sulco longitudinal na face ventral. As folhas de *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria trichophora* são simples, opostas, elípticas, dorsiventrais e hipostomáticas. A epiderme do pecíolo e da lâmina é unisseriada, papilosa em *Psychotria hoffmannseggiana*. Os estômatos são paracíticos em ambas as espécies. O mesofilo é

constituído por uma camada de parênquima paliçádico e várias de lacunoso. O sistema vascular da nervura central apresenta um feixe colateral central em forma de arco e um feixe colateral menor disposto lateralmente. O início da germinação de *Psychotria hoffmannseggiana* ocorreu cerca de oitenta e oito dias após a sementeira, com o surgimento da raiz primária. No oitavo dia após a germinação, com o crescimento da raiz, o ápice, a região pilosa e o hipocótilo apresentaram coloração avermelhada. Aos onze dias, observou-se a emissão de raízes secundárias e o início do alongamento do hipocótilo. Após vinte e um dias, os cotilédones foram liberados do envoltório seminal, que permaneceu parcialmente aderido a um deles até o vigésimo oitavo dia. Os cotilédones são foliáceos, verdes, peciolados, ovados, opostos com venação pinada. Foi observada a presença de estípulas entre os pecíolos dos cotilédones. Os eofilos surgiram por volta do vigésimo sexto dia e no trigésimo nono dia apresentavam-se expandidos. Os eofilos são simples, verdes, peciolados, elípticos, opostos com venação pinada. Sessenta e nove dias após a germinação, ocorreu a emissão do primeiro par de metafilos idênticos aos eofilos. A plântula é do tipo fanerocotiledonar-epígea com cotilédones foliares verdes.

### Abstract

*Psychotria* is the main Rubiaceae genus with nearly 1000 species worldwide. Owing to its magnitude, this genus is considered complex. Additionally, there is a lack of morphological features available to the definition of such group. The present study analyzed structural characteristics of seeds, leaves and pericarp of *Psychotria hoffmannseggiana* and *Psychotria trichophora* as well as the seedling of *Psychotria hoffmannseggiana*. The structure and development of the pericarp and seeds of such species are similar. The first fruit developmental stage consisted of the budding ovary and pre-anthesis flowers. The ovary is inferous, bicarpellary, bilocular with one ovule per loculus, and the placentation is basal axial. Seeds are originated from unitegmic anatropous ovule. During the second stage, there was a predominant meristematic activity both in the pericarp (mesocarp and endocarp) and in the seed tegmen. The third stage is characterized by the differentiation of the endocarp and inner mesocarp, and also the ripening of the seed. The endosperm is made up of thick wall cells, a large amount of starch and prismatic calcium oxalate crystals. The embryo is basal, spatulate and rudimentary. During the final stage the ripeness of the pericarp occurs by means of an increase in cell size and intercellular spaces of the mesocarp. The fruit increases in size and the mesocarp cells elongate considerably, exhibiting partially disintegrated walls. Mature fruits of both species are drupaceous with subglobose format. Such fruits have two free monospermatic pyrenes, dorsiventrally convex with a longitudinal sulcus on the ventral face. The leaves of *Psychotria hoffmannseggiana* and *Psychotria trichophora* are simple, opposite, elliptic, dorsiventral and hypostomatic. The petiole and blade epidermis is uniserial and papillose concerning *Psychotria hoffmannseggiana*. Both species have paracitic stomata. The mesophyll is composed of a single palisadic parenchyma layer and several lacunose ones. The vascular system of



the central vein exhibits a central collateral bundle in the shape of an arch and a smaller collateral bundle laterally disposed. The initial germination of *Psychotria hoffmannseggiana* had occurred approximately on the eighty-eighth day after sowing, when the primary root did appear. On the eighth day after germination, along with the root growth, the apex, pilose region and hypocotyl exhibited a reddish colour. By the eleventh day, it was observed the emission of secondary roots and the beginning of the hypocotyl elongation. After twenty-one days, the cotyledons were released from the seminal involucre, which kept partly adherent to one of them until the twenty-eighth day. The cotyledons are leaf-like, green, petiolate, oval, opposite with pinnate venation. The presence of stipule in between the cotyledonary petioles was observed. Eophylls appeared on the twenty-sixth day, approximately; and, by the thirty-ninth day, they were expanded. The eophylls are simple, green, petiolate, elliptic, opposite with pinnate venation. Sixty-nine days after germination the first pair of metaphylls was emitted, being identical to the eophylls. The seedling is phanerocotyledonary-epigeal with green leaf-like cotyledons.

## 1. Introdução geral

O cerrado abrange dois milhões de Km<sup>2</sup> no Brasil. É um dos tipos de vegetação floristicamente mais diversos no mundo, com um número estimado de 10.000 espécies de plantas superiores, das quais cerca da metade são endêmicas (Durigan *et al.* 2004).

A vegetação nativa do cerrado tem sofrido enorme destruição ao longo dos últimos anos, principalmente devido à expansão agrícola, como consequência a biodiversidade, ainda pouco conhecida, vem sendo ameaçada (Durigan *et al.* 2004)

A porção paulista do cerrado é atualmente a mais prejudicada, apenas 1% da área original ainda apresenta vegetação nativa e está representada por fragmentos da cobertura original no interior, constituindo áreas disjuntas (Durigan *et al.* 2004). Menos de 10% desses fragmentos encontram-se protegidos na forma de unidades de conservação estaduais (Klein 2002).

As informações sobre a flora do cerrado são esparsas e restritas a um pequeno número de espécies, o que dificulta qualquer tentativa de criação de um esquema racional para a preservação dos cerrados e identificação de áreas particularmente críticas (Castro 1999). Dentre as várias famílias que compõem a flora do cerrado paulista, Rubiaceae é uma das mais importantes em riqueza de espécies (Klein 2002). Segundo Mantovani & Martins (1993), é a terceira família de maior riqueza na área de cerrado da Reserva Biológica de Mogi Guaçu, Mogi Guaçu, SP.

Rubiaceae engloba cerca de 637 gêneros e aproximadamente 10.700 espécies. Está incluída no clado Gentianales, segundo APGII, juntamente com Apocynaceae, Gelsemiaceae, Gentianaceae e Longaniaceae (Soltis *et al.* 2005). Segundo Mabberley (1997), a família ocupa o quarto lugar em diversidade entre as Angiospermas, ficando atrás apenas de Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae. No Brasil

ocorrem cerca de 1.000 espécies, enquanto que no Estado de São Paulo, está representada por 48 gêneros e 254 espécies (Taylor 2007).

A classificação infrafamiliar é problemática nas Rubiaceae, especialmente na divisão das subfamílias e tribos (Robbrecht 1988). Para Bremer (1995), existem cinco os motivos que contribuem para essa situação: número elevado de espécies; uso de poucos caracteres para a classificação; caracteres morfológicos insuficientes; número reduzido de coletas nas regiões tropicais; e pouco interesse por parte dos taxonomistas.

Robbrecht (1988), baseado em caracteres morfológicos, dividiu a família em quatro subfamílias (Cinchonoideae, Ixoroideae, Antirheoideae e Rubioideae). Rubioideae compreende a maioria das espécies de Rubiaceae, é caracterizada pela presença de ráfides e corola valvada. É um grupo, provavelmente, monofilético; possíveis sinapomorfias incluem, a presença de ráfides, sementes com tegumento liso e hábito herbáceo (Judd *et al.* 2002).

*Psychotria* L. é o gênero maior da subfamília, representado mundialmente por cerca de 1.000 espécies, das quais, 46 são encontradas no Estado de São Paulo (Taylor 2007). É considerado taxonomicamente complexo devido ao seu tamanho e também devido à ausência de caracteres morfológicos disponíveis para a definição dos grupos (Nepokroeff *et al.* 1999). Para Robbrecht (1988), a delimitação da tribo Psychotrieae e de *Psychotria* permanecem aguardando uma solução.

De acordo com Nepokroeff *et al.* (1999), *Psychotria* sensu lato é distinto de outros gêneros de Psychotrieae por apresentar de ovário ínfero com um único óvulo por lóculo; corola com base plana, geralmente branca ou esverdeada; frutos carnosos com 2 a 5 pirênios; endosperma muitas vezes ruminado, duro e sem reserva de óleo; semente com testa vermelha, marrom ou púrpura.

Robbrecht (1988), em seu trabalho sobre as Rubiaceae tropicais, afirmou que o número de estudos morfoanatômicos que auxiliam a taxonomia de Rubiaceae está longe de ser o ideal, especialmente os que tratam dos frutos e sementes.

Para Puff (2001), estudos anatômicos em Rubiaceae que mostrem a transformação do ovário em fruto e do óvulo em semente são extremamente importantes, podendo contribuir significativamente para o esclarecimento da posição taxonômica dos taxa.

Uma análise minuciosa da embriologia de Rubiaceae foi realizada por Fagerlind (1937). O autor descreveu e analisou a formação do tegumento do óvulo, do nucelo, endosperma e embrião.

Houk (1938) estudou o desenvolvimento da semente de *Coffea arabica* e destacou a presença de “perisperma” formado a partir da divisão do tegumento do óvulo. Três anos mais tarde, Mendes contestou a presença de perisperma na semente madura dessa mesma espécie, e demonstrou, acompanhando o desenvolvimento da semente, a formação do endosperma.

Bacigalup (1952) publicou um trabalho sobre as características morfológicas de espécies argentinas dos gêneros *Psychotria*, *Palicourea* e *Rudgea*.

Em 1964, Petit destacou a importância das características do pirênio para a delimitação dos gêneros africanos de Psychotrieae. Mais tarde, Robbrecht (1989) reconheceu o valor dessa estrutura na classificação dos gêneros não africanos.

A ocorrência de endosperma ruminado em Rubiaceae foi discutida por Periasamy (1964). O autor analisou espécies de *Psychotria* e *Randia* e afirmou que as características desse fenômeno podem ter valor na segregação de alguns taxa da família.

Hayden & Dwyer (1969) destacaram a possibilidade de uma estreita relação entre as tribos Morindeae e Psychotriaceae, baseada nas características florais, ainda que a morfologia das sementes demonstre uma afinidade com Coussareae.

Uma análise completa da anatomia do desenvolvimento do fruto e semente de *Coffea arabica* e *Coffea robusta* foi realizada por Roth & Lindorf (1971), que constataram a semelhança entre a estrutura dos órgãos das duas espécies.

As características dos frutos carnosos e das sementes de Rubiaceae ocorrentes na Venezuela, foram apresentadas por Rodriguez (1976) e utilizadas na confecção de uma chave de identificação para os principais gêneros de 11 tribos da família.

Corner (1976), em sua extensa publicação sobre a anatomia das sementes de Dicotiledôneas, descreveu os aspectos gerais dos óvulos e das sementes de Rubiaceae. O autor salientou a necessidade de estudos detalhados sobre as variações da espessura do tegumento, da estrutura da exotesta, do suprimento vascular e da placenta em gêneros e espécies desta família.

Igershein (1992) acompanhou o desenvolvimento do ovário, do fruto e da semente de duas espécies de *Craterispermum* e concluiu que não existiam diferenças significativas entre as espécies estudadas. Em 1993, o mesmo autor publicou um estudo sobre o do gineceu em Vanguerieae, com ênfase na estrutura do estigma.

A estrutura do ovário e a placentação de espécies de Pauridiantheae foram descritas por Bangoura (1993), que destacou a presença de falsos septos e ovários bi e tetracarpelares.

Igershein *et al.* (1994) realizaram um estudo sobre a ontogênese do gineceu de *Gaertnera* comparando com espécies de *Psychotria*, *Palicourea* e *Chassalia*. Os

autores demonstraram o desenvolvimento atípico do ovário de *Gaertnera*, que no início é considerado ínfero, mas na maturidade torna-se súpero.

A morfologia do pirênio de espécies tropicais de *Geophila* foi discutida por Piesschaert *et al.* (1999). Para os autores, as características do pirênio são de extrema importância para a identificação das espécies do gênero.

De Toni & Mariath (2004) descreveram com detalhes o processo de formação do óvulo de *Borreria verticillata*.

A anatomia dos órgãos vegetativos das Angiospermas é uma ferramenta que pode ser usada pela taxonomia das seguintes maneiras: para a identificação de fragmentos de material vegetativos, como ajuda na identificação preliminar de espécimes herborizados e para indicar as relações filogenéticas entre os táxons (Metcalf & Chalk 1950).

Dentre os trabalhos realizados com Rubiaceae, destacam-se as obras de Solereder (1908), Metcalf & Chalk (1950), Robbrecht (1988) e os trabalhos de Accorsi (1947, 1948) que tratam dos estômatos e das características morfoanatômicas da epiderme foliar abaxial das folhas de várias espécies da família e Barros (1959) que observou a presença de domácias em mais de 600 espécies de Rubiaceae.

Recentemente, alguns autores descreveram a morfoanatomia foliar de algumas Rubiaceae: *Diodia radula* (Vieira 1986), *Tocoyena bullata* (Vieira 1986/1988), *Psychotria nuda*, *Psychotria leiocarpa* (Vieira *et al.* 1992), *Psychotria tenuinervis*, *Psychotria stenocalix* (Gomes *et al.* 1995), espécies dos gêneros *Relbunium* (Nunes 1994), *Palicourea longepedunculata* (Pereira *et al.* 2003) e *Rondeletia* (Kocsis *et al.* 2004).

As informações provenientes dos primeiros estádios do ciclo de vida de uma espécie são relevantes para os diferentes ramos da biologia, tais como a ecologia, agronomia e taxonomia (Carmello-Gerreiro & Paoli 1999).

No contexto ecológico, as plântulas constituem o potencial de perpetuação da espécie. O conhecimento da composição específica das comunidades de plântulas e da dinâmica de suas populações pode apontar as perspectivas ecológicas de comunidades vegetais (Parra 1984).

O estudo das plântulas possui importância também no setor agrônomo, produzindo informações que permitam o reconhecimento tanto de plantas úteis quanto de nocivas para as plantações e para o gado (Parra 1984).

Vogel (1980) em sua extensa obra sobre as plântulas das dicotiledôneas, descreveu algumas espécies de Rubiaceae incluindo *Psychotria celebica*. Para o autor, é extremamente importante o conhecimento das fases jovens das plantas, já que essas, muitas vezes, apresentam características diferentes da planta adulta.

Tendo em vista a necessidade de informações morfológicas a respeito de membros da tribo Psychotrieae, esta tese foi desenvolvida com os seguintes objetivos:

- Descrever a morfologia e anatomia do pericarpo e da semente de *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria trichophora*, nos diferentes estádios de desenvolvimento;
- Retratar a estrutura folhas adultas de *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*;
- Acompanhar os aspectos da germinação e desenvolvimento morfológico da plântula de *P. hoffmannseggiana*.

## 2. Informações sobre as espécies estudadas

*Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. Ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. é um arbusto que mede de 0,5 a 2 m. Ocorre na América Central de Cuba até o Paraguai. Pode ser encontrada na mata atlântica, em matas mesófilas, semidecíduas, restinga, mata ciliar e cerrado (Taylor 2007).

*Psychotria trichophora* Müll. Arg. pode ser um arbusto ou herbácea, chegam a medir até 0,6 m, às vezes rastejantes. Ocorre na Bolívia, possivelmente na Venezuela, no Brasil nos estados de Goiás, Minas Gerais, São Paulo. Pode ser encontrada na mata atlântica, em matas de encosta, em matas pluviais e no cerrado (Taylor 2007).

## 3. Informações sobre o local das coletas

O estudo foi desenvolvido na Reserva Biológica e Estação Experimental de Mogi Guaçu, Estado de São Paulo, na região fisiográfica denominada depressão periférica paulista, que está situada entre 22° 15'-16'S e 47°08'-12'W (Mantovani & Martins, 1993). O clima da região foi caracterizado por Mantovani & Martins (1993) como do tipo Cwa., de Köeppen. Os meses mais quentes apresentam temperaturas superiores a 22°C e os meses mais frios temperaturas inferiores a 18°C. O inverno é seco, apresentando meses com precipitações inferiores a 30 mm. A temperatura média anual é de cerca de 23°C.

Perez Filho *et al.* (1980) classificaram os solos da reserva como solos da planície de inundação e latossolos vermelho-amarelo, álico a moderado.

Os remanescentes de vegetação nativa da Reserva são compostos de floresta de galeria, campos úmidos e cerrado (Mantovani, 1983). Segundo os mapas geológicos do Estado de São Paulo, a porção de terreno mais baixo, próximo ao Rio Mogi Guaçu, é coberto com floresta ou brejo, enquanto que a porção mais alta sustenta o cerrado (Struffaldi-De Vuono *et al.*, 1986).



*Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria trichophora* encontram-se distribuídas nas áreas sombreadas do cerrado. De maneira geral as duas espécies ocorrem juntas, porém *P. hoffmannseggiana* em maior abundância.

Ramos das espécies estudadas foram coletados, herborizados e depositados no Herbário Rioclarense (HRCB). O material botânico foi identificado por comparação e enviado para confirmação à Profa. Dra. Charlotte M. Taylor (Missouri Botanical Garden, St. Louis, USA), especialista na família.

#### 4. Referências bibliográficas

- ACCORSI, W.R. Ocorrência das células anexas dos estômatos na família Rubiaceae. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, v.4, p.421-436, 1947.
- ACCORSI, W.R. Características morfológicas, anatômicas e citológicas da epiderme inferior da folha das Rubiaceae. **Lilloa**, v.16, p.5-59, 1948.
- BACIGALUP, N.M. Las espécies argentinas de los gêneros *Psychotria*, *Palicourea* y *Rudgea* (Rubiaceae). **Darwiniana**, v.10, n.1, p.31-64, 1952.
- BANGOURA, D. Ovary structure and placentation in tribe Pauridiantheae (Rubiaceae). **Bull. Jard. Bot. Nat. Belg.**, v.62, p.419-428, 1993.
- BARROS, M.A.A. Ocorrência de domácias na família Rubiaceae. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, v.16, p.331-337, 1959.
- BREMER, B. Combined and separate analyses of morphological and molecular data in the plant family Rubiaceae. **Cladistics**, v.12, p.21-40, 1995.
- CARMELO-GUERREIRO, S.M., PAOLI, A.A.S. Morfologia e desenvolvimento pós-seminal de *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem. e *Astrnium graveolens* (Jacq.) Anacardiaceae. **Naturalia**, v.24, p.127-138, 1999.
- CASTRO, A.A.J.F., MARTINS, F.R., TAMASHIRO, J.Y., SHEPHERD, G.J. How rich is the flora of brazilian cerrados? **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.86, p.192-224, 1999.
- CORNER, E.J.H. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge: University Press, 1976. 2v.
- DE TONI, K.L.G., MARIATH, J.E.A. Desenvolvimento do rudimento seminal em *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. (Rubiaceae – Rubioideae - Spermacoceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.27, n.1, p.185-192, 2004.

- DURIGAN, G., BAITELLO, J.B., FRANCO, G.A.D.C., SIQUEIRA, M.F. **Plantas do Cerrado Paulista: Imagens de uma paisagem ameaçada.** São Paulo: Páginas & Letras Editora e Gráfica, 2004.
- FAGERLIND, F. Embryologische, zytologische und bestäubungsexperimentelle Studien in der Familie Rubiaceae nebst Bemerkungen über einige Polyoliditätsprobleme. **Acta Horti Bergiani**, v.2, p.196-470, 1937.
- GOMES, D.M.S., MANTOVANI, A., VIEIRA, R.C. Anatomia foliar de *Psychotria tenuinervis* Muell. Arg. e *Psychotria stenocalix* Muell. Arg. **Arquivos de Biologia e tecnologia**, v.38, n.1, p.15-33, 1995.
- HAYDEN, S.M.V., DWYER, J.D. Seed morphology in the tribe Morindeae (Rubiaceae). **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v.96, n.6, p.704-710, 1969.
- HOUK, W.G. Endosperm and perisperm of Coffee with notes on the morphology of the ovule and seed development. **American Journal of Botany**, v.25, n.1, p.56-61.
- IGERSHEIM, A. The ovary, fruit and seed development of *Craterispermum* (Rubiaceae). **Belgian Journal of Botany**, v.125, n.1, p.101-113, 1992.
- IGERSHEIM, A., PUFF, C., LEINS, P., ERBAR, C. Gynoecial development of *Gaertnera* Lam. and of presumably allied taxa of the Psychotrieae (Rubiaceae): secondarily “superior” vs. inferior ovaries. **Bot. Jahrb. Syst.**, v.116, n.3, p.401-414, 1994.
- JUDD, W.S., STEVENS, P.F., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A., CAMPBELL, C. **Plant Systematics: a phylogenetic approach.** Sunderland: Sinauer Associates, 2002.
- KLEIN, A.L. **Eugen Warming e o cerrado brasileiro: um século depois.** São Paulo: Editora UNESP, 2002.

- KOCSIS, M., DARÓK, J., BORHIDI, A. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* species. **Plant Systematics and Evolution**, v.248, p.205-218, 2004.
- MABBERLEY, D.J. **The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants.** Cambridge: Cambridge University Press, 1997.
- MANTOVANI, W., MARTINS, F.R. Florística do cerrado na Reserva Biológica de Moji Guaçu, SP. **Acta Botânica Brasílica**, v.7, n.1, p.33-60, 1993.
- MENDES, A.J.T. Cytological observations in *Coffea*. VI. Embryo and endosperm development in *Coffea arabica* L. **American Journal of Botany**, v.28, n.6, p.784-789, 1941.
- METCALFE, C.R., CHALK, L. **Anatomy of Dicotyledons: leaves, stems and wood in relation to taxonomy with notes on economics uses.** Oxford: Clarendon Press, 1950.
- NEPOKROEFF, M., BREMER, B., SYTSMA, K.J. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. **Systematic Botany**, v.24, n.1, p.5-27, 1999.
- NUNES, E.C.M., MARIATH, J.E.A., OLIVEIRA, P.L. Morfologia e anatomia da folha de espécies da secção III (sensu Ehrendorfer) do gênero *Relbunium* (Runieae - Rubiaceae). **Iheringia**, v.44, p.113-149, 1994.
- PARRA, P. Estudio de la morfología externa de plantulas de *Calliandra gracilis*, *Mimosa albida*, *Mimosa arenosa*, *Mimosa camporum* y *Mimosa tenuiflora*. **Re. Fac. Agron. Maracay**, v.13, n.1-4, p.311-350, 1984.

- PEREIRA, Z.V., MEIRA, R.M.S.A., AZEVEDO, A.A. Morfoanatomia de *Palicourea longepedunculata* Gardiner (Rubiaceae). **Revista Árvore**, v.27, n.6, p.759-767, 2003.
- PEREZ FILHO, A., DONZELLI, J.L., LEPSCH, I.F. Relação solos-geomorfologia em várzea do Rio Mogi Guaçu. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. v.4, p.181-187, 1980.
- PERISAMY, K. Studies on seeds with ruminant endosperm. V. Seed development and rumination in two genera of the Rubiaceae. **Proceedings of the Indian Academy Biological Sciences** v.60, n.19, p.351-360, 1964.
- PETIT, E. Les espèces africaines du genre *Psychotria* L. (Rubiaceae). **Bulletin du Jardín Botanique de Bruxelles**, v.34, p.1-229, 1964.
- PIESSCHAERT, F., ROBBRECHT, E., POULSEN, A.D., SMETS, E. Pyrene and pollen observations in the pantropical genus *Geophila* (Rubiaceae - Psychotrieae). **Nordic Journal of Botany**, v.19, n.1, p.93-100, 1999.
- PUFF, C. The significance of gynoecium and fruit and seed characters or the classification on the Rubiaceae. **Malayan Nature Journal**, v.55, n.1-2, p.133-146, 2001.
- ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Belgica**, v.1, p.1-127, 1988.
- RODRIGUEZ, P. Estudio sobre frutos carnosos y sus semillas de las Rubiaceae de Venezuela. **Acta Botánica Venezolana**, v.11, n.1-4, p.285-381, 1976.
- ROTH, I. & LINDORF, H. Anatomia y desarrollo del fruto y de la semilla del café. **Acta Botanica Venezolana**, v.6, p.197-238, 1971.

- SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the Dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 1908.
- SOLTIS, D.E., SOLTIS, P.S., ENDRESS P.K. CHASE, M.W. **Phylogeny and Evolution of Angiosperms**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers, 2005.
- STRUFFALDI-DE VUONO, Y.S., BATISTA, E.A., FUNARI, F.L. Balanço hídrico da reserva biológica de Mogi Guaçu, SP. **Hoehnea**, v.13, n.1, p.73-85, 1986.
- TAYLOR, C.M. Rubiaceae. In: **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo** (MELHEM, T.S., WANDERLEY, M.G.L., MARTINS, S.E., JUNG-MENDAÇOLLI, S.L., SHEPHERD, G.J., KIRIZAWA, M. eds.). São Paulo: Fapesp, 2007.
- VIEIRA, R.C. *Diodia radula* (Willd. Et Hoffm.) Cham. Et Schlecht. (Rubiaceae). Anatomia foliar. **Revista Brasileira de Biologia**, v.46, n.3, p.667-674, 1986.
- VIEIRA, R.C. *Tocoyena bullata* (Vell.) Mart. (Rubiaceae). Anatomia foliar. **Rodriguésia**, v.64/66, n.38-40, p.33-39, 1986/1988.
- VIEIRA, R.C., GOMES, D.M.S., FERRAZ, C.L.A. Anatomia foliar de *Psychotria nuda* Wawra e *Psychotria leiocarpa* Mart. (Rubiaceae). **Hoehnea**, v.19, n.1/2, p.185-195, 1992.
- VOGEL, E.F. **Seedlings of dicotyledons**. Wagening: Pudoc, 1980.

## **CAPÍTULO I**

**Morfoanatomia e desenvolvimento do pericarpo e da semente de *Psychotria  
hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. e *Psychotria trichophora*  
Müll. Arg. (Rubiaceae, Rubioideae, Psychotrieae)**



**Resumo:** *Psychotria* é o gênero maior de Rubiaceae. Representado mundialmente por cerca de 1.000 espécies é considerado taxonomicamente complexo devido ao seu tamanho e a ausência de caracteres morfológicos disponíveis para a definição dos grupos. Foram estudados aspectos estruturais do pericarpo e da semente de *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria trichophora*. A estrutura e o desenvolvimento do pericarpo e da semente das espécies estudadas são semelhantes. O estágio I do desenvolvimento do fruto é representado pelo ovário de botões florais e de flores em pré-antese. O ovário é ínfero, bicarpelar, bilocular com um óvulo por lóculo, e a placentação é axial basal. A semente é originada do óvulo anátropo e unitegumentado. No estágio II, ocorre o predomínio de atividade meristemática no pericarpo (mesocarpo e endocarpo) e no tegumento da semente. O estágio III é caracterizado pela diferenciação do mesocarpo interno e endocarpo, e pelo amadurecimento das sementes. O endosperma é formado por células com paredes espessadas, grande quantidade de amido e cristais prismáticos de oxalato de cálcio. O embrião é basal espatulado rudimentar. No estágio final ocorre o amadurecimento do pericarpo por meio do aumento do tamanho das células e dos espaços intercelulares do mesocarpo. O fruto aumenta de tamanho e as células do mesocarpo tornam-se bastante alongadas, com paredes parcialmente desintegradas. O fruto maduro de ambas as espécies são drupóides com formato subgloboso. Possuem dois pirênios livres, monospermos, são dorsalmente convexos, com um sulco longitudinal na face ventral.

**Abstract:** *Psychotria* is the main Rubiaceae genus with nearly 1000 species worldwide. Owing to its magnitude, this genus is considered complex. Additionally, there is a lack of morphological features available to the definition of such group. The present study analyzed structural characteristics of pericarp and seeds of *Psychotria hoffmannseggiana* and *Psychotria trichophora*. The structure and development of the pericarp and seeds of such species are similar. The first fruit developmental stage consisted of the budding ovary and pre-anthesis flowers. The ovary is inferous, bicarpellary, bilocular with one ovule per loculus, and the placentation is basal axial. Seeds are originated from unitegmic anatropous ovule. During the second stage, there was a predominant meristematic activity both in the pericarp (mesocarp and endocarp) and in the seed tegmen. The third stage is characterized by the differentiation of the endocarp and inner mesocarp, and also the ripening of the seed. The endosperm is made up of thick wall cells, a large amount of starch and prismatic calcium oxalate crystals. The embryo is basal, spatulate and rudimentary. During the final stage the ripeness of the pericarp occurs by means of an increase in cell size and intercellular spaces of the mesocarp. The fruit increases in size and the mesocarp cells elongate considerably, exhibiting partially disintegrated walls. Mature fruits of both species are drupaceous with subglobose format. Such fruits have two free monospermatic pyrenes, dorsiventrally convex with a longitudinal sulcus on the ventral face.

## 1. Introdução

Rubiaceae engloba cerca de 637 gêneros e aproximadamente 10.700 espécies, classificadas em quatro subfamílias (Cinchonoideae, Ixoroideae, Antirheoideae e Rubioideae) e 44 tribos, essencialmente tropicais (Robbrecht 1988). A família ocupa o quarto lugar em diversidade entre as Angiospermas, ficando atrás apenas de Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae (Mabberley 1997).

Apesar de Rubiaceae ser facilmente delimitada, a classificação de subfamílias e tribos ainda é problemática, principalmente devido à utilização de poucos ou até de um único carácter para a divisão (Bremer & Jansen 1991). Outros fatores também são responsáveis por esta situação como; o tamanho da família e o número reduzido de coletas nas áreas tropicais (Bremer 1995).

Corner (1976) em sua ampla publicação sobre anatomia de sementes de Dicotiledôneas, descreveu as características principais dos óvulos e das sementes de Rubiaceae. O autor destacou a necessidade de estudos detalhados sobre as variações da espessura do tegumento, da estrutura da exotesta, do suprimento vascular e da placenta em gêneros e espécies desta família.

Robbrecht (1988) em sua obra sobre as Rubiaceae tropicais, ressaltou a importância das características dos ovários, frutos e sementes para a definição dos grupos taxonômicos. Segundo o autor, há necessidade de trabalhos anatômicos que acompanhem o desenvolvimento do fruto e da semente, estádios importantes para a elucidação da posição dos taxa. Barroso *et al.* (1999) afirmaram que os frutos de Rubiaceae apresentam características variadas de grande importância na sistemática de tribos, seções, gêneros e espécies.

*Psychotria* L. é o gênero maior da família, representado mundialmente por cerca de 1.000 espécies, das quais, 46 são encontradas no Estado de São Paulo (Taylor

2007). É considerado taxonomicamente complexo, devido ao seu tamanho e também à ausência de caracteres morfológicos disponíveis para a definição dos grupos (Nepokroeff *et al.* 1999). Para Robbrecht (1988), a delimitação da tribo Psychotrieae e de *Psychotria* permanecem aguardando uma solução.

Estudos morfoanatômicos de frutos e sementes de Rubiaceae, especialmente *Psychotria* são escassos. Entretanto, convém destacar as descrições morfológicas dos frutos de Rubiaceae realizadas por Barroso *et al.* (1999); o estudo ontogenético dos frutos e sementes de *Coffea arabica* realizado por Mendes (1941) e Roth (1971); o estudo de Perisamy (1964) sobre as sementes com endosperma ruminado; as observações anatômicas das sementes efetuadas por Corner (1976); o trabalho de Rodriguez (1976) sobre a morfoanatomia de frutos e sementes de Rubiaceae na Venezuela e o estudo do desenvolvimento do fruto de *Craterispermum* realizado por Igersheim (1992).

Neste trabalho, acompanhou-se o desenvolvimento do pericarpo e da semente de duas espécies de *Psychotria* ocorrentes no cerrado do Estado de São Paulo, *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria trichophora*, com o objetivo de descrever a morfologia e anatomia nas diversas fases e fornecer subsídios para o conhecimento geral de Psychotrieae.

## **2. Material e Métodos**

O material botânico de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. e *Psychotria trichophora* Müll. Arg. (figuras 1-4), constou de botões florais, flores pós-antese, frutos em várias fases de desenvolvimento (figuras 5-26), coletados de 10 indivíduos de cada espécie localizados nas áreas de cerrado da Reserva Biológica de Mogi Guaçu, localizada no município de Mogi Guaçu, São Paulo, sob a responsabilidade do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do

Estado de São Paulo. Ramos foram coletados, herborizados e depositados no Herbário de Rio Claro (HRCB) pertencente ao Departamento de Botânica, UNESP, Campus de Rio Claro, como documento taxonômico.

Os estudos anatômicos foram realizados em material fresco e fixado em FAA 70 (Johansen 1940) e conservado em álcool etílico a 70%.

Após desidratação em série etílica, o material foi incluído em historresina metacrilato (Leica®), segundo o protocolo do fabricante, seccionado em micrótomo rotativo com cerca de 8 µm de espessura, obtendo-se séries transversais e longitudinais. Foi utilizado azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1964) para coloração das secções que, em seguida, foram montadas em Entellan®.

Os testes histoquímicos foram realizados em material fresco. Para tanto, foram utilizados os seguintes corantes e/ou reagentes: vermelho de rutênio, para identificar polissacarídeos diversos e pectinas (Jensen 1962); floroglucinol em meio ácido, para evidenciar paredes lignificadas (Sass 1951). Sudam IV, para a localização de substâncias lipofílicas; lugol, para detectar amido; cloreto férrico, para verificar a ocorrência de compostos fenólicos e ácido sulfúrico diluído para identificar a composição química dos cristais (Johansen 1940).

Após a análise do laminário com o auxílio de microscopia óptica, os resultados foram documentados por meio de fotomicrografias e imagens capturadas, as quais foram acrescidas de escalas em condições ópticas adequadas a cada caso.

A descrição do desenvolvimento do pericarpo e da semente foi realizada a partir de estádios de desenvolvimento. Foram descritos quatro estádios, caracterizados como: estágio I – ovário e óvulo de botões florais; estágio II – ovário de flor pós-antese e frutos jovens; estágio III – fruto pré-maturação; estágio IV – fruto maduro.

Não foi possível avaliar a extensão dos tecidos carpelares e não carpelares devido ao concrecimento, sendo considerado ovário, a estrutura na sua totalidade (tecidos carpelares e não carpelares). Para a descrição anatômica do pericarpo foi empregada a terminologia proposta por Roth (1977), e a classificação do embrião foi baseada em Martin (1946).

Para a caracterização da micromorfologia de superfície, amostras foram processadas no Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Rio Claro, SP, de acordo com a técnica descrita por Robards (1978), com modificações segundo as características do material. Os pirênios foram fixados em FAA 50 (Johansen 1940) e desidratados em série acetônica. As amostras foram secas em ponto crítico, utilizando-se CO<sub>2</sub> como líquido de transição. Em seguida, foram fixadas com grafite sobre suporte de alumínio e recobertas com carbono e ouro para visualização em microscópio eletrônico de varredura.

### **3. Resultados**

#### **3.1. Descrição morfológica (1-30)**

*P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* possuem inflorescências terminais capitadas (figuras 5-6, 17-18). Em *P. hoffmannseggiana* a inflorescência é envolvida por brácteas arroxeadas com margens levemente denteadas (5-6). As flores são hermafroditas, gamossépalas, gamopétalas e heterostílicas (figuras 5-6, 10). A corola é tubular, branca com pêlos transparentes. O cálice é verde, curto, glabro e ligeiramente lobado (figura 10). Em *P. trichophora* as flores também são hermafroditas, gamossépalas, gamopétalas e heterostílicas (figuras 17-18, 22). A corola é tubular, branca com pêlos transparentes e arroxeados. O cálice é verde, hirsuto e lobado (figura 22). As brácteas que envolvem a inflorescências são arroxeadas e hirsutas (figuras 17-

18). Em ambas as espécies, tanto as flores como os frutos se desenvolvem de maneira aleatória. O cálice persiste até o amadurecimento dos frutos (figuras 10-16, 21-26).

O fruto maduro de ambas as espécies são drupóides, possuem formato subgloboso (figuras 16, 26). Externamente, o pericarpo de *P. hoffmannseggiana* é negro (figuras 1-2) com polpa de mesma cor, o de *P. trichophora* é azul (figuras 2-4) com polpa branca. A maioria dos frutos possui dois pirênios, entretanto alguns apresentaram somente um. Os pirênios são plano-convexos, monospermos, marrons e possuem um sulco longitudinal pouco profundo na face ventral (figuras 28, 30). A superfície dorsal do pirênio de *P. hoffmannseggiana* é formada por cinco sulcos (figura 29) e a de *P. trichophora* não é sulcada, sendo lisa (figura 27).

### **3.2. Descrição anatômica**

#### **3.2.1. Estádio I (figuras 31-44)**

Nas espécies estudadas, o ovário é ínfero, bicarpelar, bilocular com um óvulo por lóculo, e a placentação é axial basal (figuras 31-32, 34-35, 37-38, 40-41). A epiderme externa do ovário é unisseriada, composta por células cubóides com cutícula espessada (figuras 33, 36, 38-39, 42-43). Em *P. trichophora* foram observados tricomas tectores, multicelulares, unisseriados por toda extensão do ovário (figuras 37-38, 41-42). Estômatos estão presentes na epiderme externa de ambas as espécies.

Em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*, a maior parte do mesofilo ovariano é composta por células parenquimáticas, aproximadamente isodiamétricas, com poucos espaços intercelulares; entretanto a região mais interna é formada por células retangulares alongadas longitudinalmente (figuras 33, 36, 39, 43-44). Nas duas espécies foram observados 10 feixes vasculares colaterais formando um anel ao redor dos lóculos (figuras 34, 41). Em *P. hoffmannseggiana* dois pares de feixes internos a este anel, dirigem-se ao disco nectarífero (figura 34). *P. trichophora* apresenta dois

feixes maiores que possuem a mesma função (figura 41). Vários idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio dos tipos ráfides, estilóides e prismáticos foram observados no mesofilo (figuras 32-33, 42-44).

Em ambas as espécies, a epiderme interna do ovário é composta por uma camada de células alongadas longitudinalmente e não possui estômatos e tricomas (figuras 33, 39, 43-44).

O estágio inicial da semente é representado pelo óvulo que é anátropo, unitegumentado e com funículo curto (figuras 31-36, 38-42). A micrópila é formada apenas pela exóstoma. Em *P. trichophora*, o tegumento possui de 12 a 15 camadas de células, sendo a epiderme externa formada por células transversalmente alongadas (figuras 39, 42). Em *P. hoffmannseggiana* a epiderme externa é formada por células cubóides e o tegumento apresenta de 14-16 camadas celulares (figuras 33, 35-36). Em ambas as espécies, o feixe vascular é único com poucos elementos traqueais diferenciados e percorre a rafe até a calaza, não havendo extensão pós-calazal (figuras 31-32, 37). Não foi possível visualizar o nucelo nas espécies estudadas.

### **3.2.2. Estádio II (figuras 45-58)**

No início do desenvolvimento dos frutos de *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*, ocorre o predomínio a atividade meristemática no pericarpo, principalmente no meso e endocarpo, e no tegumento da semente.

No início dessa fase, em ambas as espécies, o exocarpo é unisseriado e derivado da epiderme externa do ovário. As células continuam apresentando as mesmas características do ovário, porém ocorrem divisões anticlinais (figuras 45-50). Em *P. trichophora*, tricomas tectores ainda estão presentes (figura 45). O mesocarpo formado a partir do mesofilo ovariano, permanece parenquimático, verificando-se divisões celulares anticlinais e periclinais (figuras 46-50, 55-56, 58). As camadas mais internas



tornam-se ainda mais alongadas, caracterizando o mesocarpo interno (figuras 56, 58). Os feixes vasculares mantêm estruturas similares ao estágio anterior. No endocarpo, derivado da epiderme interna do ovário, ocorrem apenas divisões anticlinais, permanecendo com o mesmo número de camadas da fase anterior (figuras 47, 50, 56-57).

Esta fase do desenvolvimento da semente das espécies estudadas é caracterizada por uma atividade meristemática acentuada no tegumento (figuras 51-54), principalmente na região próxima ao saco embrionário (figuras 53-54, 58). Ocorrem divisões periclinais e anticlinais que proporcionam o aumento de volume da semente. Em ambas as espécies o endosperma é nuclear, com celularização periférica (figuras 53-54). O embrião conserva forma zigótica.

### **3.2.3. Estádio III (figuras 59-75, 80-85)**

O terceiro estágio é caracterizado pela diferenciação do mesocarpo interno e endocarpo, e pelo amadurecimento das sementes.

O exocarpo é unisseriado formado por células cubóides, sendo observadas divisões periclinais em algumas células, porém não ocorre formação de camadas hipodérmicas (figuras 71-72).

O mesocarpo é constituído por camadas de células parenquimáticas distribuídas em três regiões distintas (figuras 66-67, 71, 73). A região externa do mesocarpo é constituída de células volumosas, 12 feixes vasculares e vários idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio (ráfides, estilóides e prismáticos). A região mediana é composta por células menores em relação à externa, que formam uma região de fragilidade contígua ao mesocarpo interno (figuras 66-67, 71, 73). Ao final dessa fase, o mesocarpo interno e o endocarpo diferenciam-se em fibras lignificadas orientadas em diferentes direções dependendo da região do fruto, formando um tecido

coriáceo que envolve a semente (figuras 59-60, 65-66, 71, 73, 75). O número de camadas de células do tecido coriáceo pode variar em frutos da mesma espécie.

Nessas espécies, é comum a ocorrência de frutos nos quais só uma semente se desenvolve enquanto o outro óvulo degenera-se (figura 59).

No estágio pré-maturação da semente de *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*, o endosperma é formado por células volumosas com paredes delgadas (figuras 61-64). Enquanto ocorre o desenvolvimento do endosperma parte da testa é consumida e/ou colapsada (figuras 61-64). O acúmulo de substâncias de reserva nas células do endosperma só acontece após o término da sua formação.

Na semente madura, nas espécies estudadas, a testa é unisseriada, formada por células da epiderme com cutícula delgada (figuras 66-67, 71, 73-74, 80, 83). A região do sulco ventral é composta por várias camadas de células parenquimáticas, caracterizando uma mesotesta (figuras 80-84). Em *P. trichophora*, parte das células da mesotesta diferencia-se em fibras lignificadas (Figura 84). Tanto as células da exotesta quanto as da mesotesta, possuem compostos fenólicos. O endosperma preenche a maior parte da semente (figuras 65, 70, 80, 83). É ruminado e possui uma invaginação profunda em forma de U na face ventral (figuras 80, 83) sendo formado por células de tamanhos variados, com paredes espessadas, reservas de amido, óleo e cristais prismáticos de oxalato de cálcio (figuras 66-69).

Em ambas as espécies o embrião é axial e pequeno em relação ao endosperma (razão 1/4). É espatulado rudimentar, ereto com cotilédones pouco diferenciados (figuras 82, 85). É revestido pela protoderme unisseriada formada por células cubóides, seguida do mesofilo fundamental formado por células com paredes delgadas e núcleos evidentes e procâmbio maciço central. A plúmula é indiferenciada.

### 3.2.4. Estádio IV (figuras 76-79, 80-81)

Estádio caracterizado pelo aumento do tamanho das células e dos espaços intercelulares do mesocarpo.

As células do exocarpo tornam-se alongadas, em relação ao estágio anterior, e possuem compostos fenólicos (figuras 76-78). Poucos tricomas tectores foram observados em *P. trichophora* (figura 78).

Nesta fase, os frutos de *P. hoffmannseggiana* e de *P. trichophora* aumentam consideravelmente de tamanho, e as células do mesocarpo tornam-se bastante alongadas, com paredes parcialmente desintegradas, conferindo amolecimento nesta região (figuras 76-79). Paralelamente, ocorre a ruptura da região de fragilidade formada entre o tecido carnoso, formado pelo exocarpo e mesocarpo mediano, e o tecido coriáceo, formado pelo mesocarpo interno e endocarpo, resultando na separação dos pirênios. Após a separação, parte do mesocarpo mediano permanece aderido ao tecido coriáceo (figuras 80-81). Apesar do aparecimento de grandes espaços intercelulares, o septo mantém-se intacto na maturidade do fruto, e permanece com dois lóculos em *P. trichophora*. Em *P. hoffmannseggiana* o septo desaparece formando uma cavidade única no fruto.

Nesse estágio as sementes maduras permanecem com as características do estágio anterior.

## 4. Discussão

De acordo com Robbrecht (1988), a condição ínfera e bicarpelar do ovário é uma das características mais confiáveis para definir e reconhecer espécies de Rubiaceae. Várias tribos, assim como Psychotrieae, podem apresentar um número maior de carpelos, geralmente de dois a cinco (Puff 2001). Urophyllae é a tribo que possui a maior variação do número de carpelos. Entretanto há uma tendência de redução a um

carpelo na família. *Otiophora lebruniana* (Robbrecht e Puff 1981) e *Calandra* (Robbrecht 1988) apresentam ovários unicarpelares com traços do segundo carpelo. *Theligonum* possui flores com ovários unicarpelares sem traços de um segundo carpelo. Corroborando o que foi descrito para outras espécies do gênero, *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* também possuem ovário ínfero e bicarpelar.

A placentação axial é comum a todas as Rubiaceae, exceto, nos gêneros de Gardeniinae, alguns de Hypobathreae e em *Tammsia*, que podem apresentar placentação parietal ou transições entre axial e parietal (Robbrecht 1988). Em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* os óvulos desenvolvem-se na porção basal do septo.

Em Rubiaceae, o número de óvulos varia de um a muitos, sendo esse caráter, tradicionalmente, usado para a separação de subfamílias (Robbrecht 1988). Muitas tribos possuem, rigorosamente, um óvulo por lóculo como Vanguerieae, Guettardeae, Knoxieae, Rubieae, Spermaceae e Psychotrieae (Robbrecht 1988), incluindo as espécies estudadas. Segundo Puff (2001), a maioria das espécies de Rubiaceae possui óvulos anátropos e unitegmentados, como em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*, entretanto existe uma forte tendência, dentro da família, à forma campilótropa.

As espécies aqui estudadas, assim como outras Rubiaceae apresentam óvulo unitegmentado, embora alguns táxons apresentem resquícios de um segundo tegumento como *Borreria verticillata* (De Toni & Mariath 2004). É provável que os ancestrais da família possuíssem óvulos bitegmentados, caráter considerado plesiomórfico por Corner (1976).

As características do nucelo assim como o número dos tegumentos, possuem valor taxonômico e filogenético (Rangan & Rangaswamy 1999). O processo de redução nucelar ocorre em algumas famílias simpétalas, incluindo Rubiaceae. Fagerlind (1937) reconheceu três tipos de nucelo na família. Shamrov (1998) constatou somente um

único tipo de nucelo e classificou-o com reduzido. Mendes (1941) observou durante o desenvolvimento do óvulo de *Coffea arabica*, que as poucas células do nucelo foram comprimidas entre o tegumento e o saco embrionário e desapareceram na maturidade. Em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* não foi possível verificar a presença de nucelo.

Gaertner (1788) definiu o fruto como resultado do amadurecimento do ovário, porém Winkler (1944) considerou que os frutos são formados pelo ovário e por outras partes da flor. Nas espécies estudadas, verificou-se que o fruto é derivado do desenvolvimento do ovário concrecido com o hipanto.

A classificação dos frutos permanece até o presente sem uma solução concreta. Existem muitos sistemas de classificação propostos por diferentes autores, que introduzem subtipos, com menos importância fazendo com que a classificação torne-se cada vez mais confusa. Diferentes caracteres, como a estrutura do ovário, número de carpelos e sementes, estruturas associadas à dispersão dos frutos e sementes, deiscência ou indeiscência e consistência do pericarpo são usados para o enquadramento dos tipos de frutos (Roth 1977).

Segundo Rodriguez (1976), os frutos de *Psychotria* são nuculânios, com dois pirênios monospermos, coriáceos e lignificados. Barroso *et al.* (1999) classificou os frutos do gênero como drupóides. Os frutos drupóides originam-se de ovários súperos ou ínferos constituídos de dois ou mais carpelos, raramente unicarpelar, com pericarpo claramente diferenciado em exocarpo e mesocarpo carnosos e endocarpo com textura coriácea ou lenhosa. Nuculânio é um fruto drupóide com pirênios livres e endocarpo esclerificado tendendo mais para coriáceo que propriamente lenhoso (Barroso *et al.* 1999). Levando em conta a análise ontogenética dos frutos de *P. hoffmannseggiana* e de *P. trichophora* que demonstra que o tecido coriáceo que envolve o pirênio é composto

pelo endocarpo mais as camadas do mesocarpo interno, é pertinente afirmar que até o momento não existe uma definição na literatura adequada para o tipo de fruto das espécies estudadas. Visando a simplificação da classificação dos frutos e não a criação de mais subtipos, julga-se apropriado a ampliação da definição do tipo drupóide, adicionando ao conceito a lignificação de parte do mesocarpo, como considerado neste trabalho.

Estudos filogenéticos envolvendo Rubiaceae sugerem que o tipo de fruto plesiomórfico para a família é cápsula com muitas sementes (Bremer e Eriksson 1992). De acordo com os autores, os frutos carnosos de Rubiaceae surgiram a partir de um ancestral com fruto seco do tipo cápsula, no mínimo 12 vezes ao longo do processo de diferenciação da família. Dessas 12 vezes, quatro delas ocorreram em Rubioideae.

O desenvolvimento do fruto pode abranger vários estádios de crescimento, que são baseados nas etapas de divisão, alongamento e maturação celular (Souza 2006). O desenvolvimento das drupas, especialmente de *Prunus cerasus*, foi acompanhado por Tukey (1935) e Tukey & Young (1939), que demonstraram três etapas principais: I. o crescimento rápido do fruto após a fertilização; II. o crescimento lento do fruto; III. o crescimento rápido do fruto até a maturação. As três fases de desenvolvimento do fruto relatadas pelos autores, correspondem aos estádios observados em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*.

A delimitação das regiões do pericarpo nos frutos provenientes de ovário ínfero é complexa, pois a parede desses frutos tem origem dupla: carpelar e do hipanto (Souza 2006). No presente trabalho, o termo ovário compreende a estrutura de origem carpelar mais hipanto que apresentam-se fundidos.

A parede do ovário transforma-se durante o desenvolvimento no pericarpo Roth (1977). A definição das três camadas formadoras da parede do fruto, exocarpo,

mesocarpo e endocarpo, varia conforme a interpretação do autor. Segundo Roth (1977), a maioria dos autores considera o exocarpo derivado da epiderme externa do ovário, incluindo as camadas subepidérmicas por ela produzidas, o mesocarpo derivado do mesofilo ovariano e endocarpo derivado da epiderme interna do ovário, também abrangendo as camadas subepidérmicas existentes.

O exocarpo de *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* é formado por células parenquimáticas e recoberto por cutícula espessada assim como descrito por Roth (1977) para *Coffea arabica*. O conteúdo dessas células possui compostos fenólicos. Embora os compostos fenólicos, especialmente os taninos, sejam citados como efetivos na defesa das plantas contra a herbivoria, acredita-se que a sua principal função durante a evolução foi proteger as plantas contra o ataque de fungos e bactérias (Rosenthal e Janzen 1979). Poucos estômatos foram observados nas espécies estudadas, sendo raros nos frutos drupóides (Roth 1977).

Roth (1977) afirmou que o mesocarpo dos frutos drupóides é normalmente parenquimático, e desenvolve partes carnosas e suculentas. O mesocarpo das espécies estudadas é parenquimatático, com exceção do mesocarpo interno que se torna lignificado na maturidade do fruto. Ainda segundo a autora, o número de camada de células presentes no mesofilo ovariano pode aumentar ou continuar o mesmo no mesocarpo do fruto maduro. Em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*, o número de camadas de células encontrado no ovário é menor do que no fruto maduro devido à ocorrência de divisões periclinais.

Quanto ao endocarpo, não foi possível atribuir caráter multisseriado às espécies estudadas, pois não foram observadas divisões periclinais na epiderme interna do ovário. Portanto, segundo o conceito ontogenético de Roth (1977), é correto interpretar que a camada lignificada do pericarpo de *P. hoffmannseggiana* e *P.*

*trichophora*, chamada de tecido coriáceo nesse estudo, é formada pelo mesocarpo interno e endocarpo lignificados.

São muitas as funções do pericarpo, mas a principal é a de proteger o embrião, relacionada ao desenvolvimento de camadas mais rígidas, como por exemplo, no endocarpo. Existem certas relações de reciprocidade entre o desenvolvimento do pericarpo e da testa. Quando o pericarpo é muito desenvolvido, a testa apresenta pouca diferenciação. Se a testa desenvolve camadas mais rígidas, o pericarpo é deiscente, de estrutura reduzida ou formado principalmente por células parequimáticas (Roth 1977). Em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* o tecido coriáceo é responsável pela proteção da semente, uma vez que a testa é unisseriada em quase toda a extensão da semente.

Durante o amadurecimento, o pericarpo passa por mudanças na coloração e na textura. O amadurecimento do fruto causa mudança de coloração devido à perda de clorofila e dismantelamento do aparato fotossintético, acúmulo de carotenóides e síntese de pigmentos antociânicos. O amolecimento dos frutos carnosos é dado por alterações na composição das paredes celulares, por meio da solubilização da celulose e pectinas (Coll *et al.* 1995). As alterações celulares, principalmente relativas à parede foram conferidas nos frutos maduros das espécies estudadas. Ao longo do amadurecimento, ocorreu um acúmulo de antocianina no exocarpo e mesocarpo de *P. hoffmannseggiana*, resultando numa coloração negra externa e interna do fruto. Em *P. trichophora* o acúmulo de antocianina foi observado somente nas camadas mais externas do pericarpo, resultando na coloração azul externa e branca na polpa. A coloração azulada dos frutos é uma característica excepcional nas Rubiaceae, exceto em Psychotrieae.

Nepokroeff *et al.* (1999) salientaram o uso da morfoanatomia do pirênio como característica diagnóstica para a tribo Psychotrieae. De acordo com os autores, na



maioria dos gêneros da tribo os pirênios apresentam rachaduras na parede (“preformed germination slits” - PGS) que auxiliam no processo de germinação. Petit (1964) foi o primeiro pesquisador a utilizar as características dos pirênios na classificação das Psychotriaceae africanas. Robbrecht (1988) determinou que o número e a posição das PGS têm grande valor para o diagnóstico dos gêneros. Espécies de *Psychotria* já estudadas apresentaram pirênios com endocarpo muito delgado e ausência de PGS. Para Robbrecht (1988) esta característica pode representar uma sinapomorfia para o gênero. PGS não foram observadas em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*.

O aborto de óvulos é comum em Rubiaceae (Puff 2001). Nas espécies estudadas a maioria dos frutos maduros apresentou duas sementes, porém alguns continham apenas uma. Os frutos maduros de *Craterispermum* possuem uma só semente, apesar das flores apresentarem um óvulo em cada um dos lóculos do ovário (Robbrecht 1988).

Segundo Corner (1976), na maioria das Angiospermas que apresentam óvulos unitegumentados, parte da porção interna e mediana do tegumento é colapsada ou esmagada pelo endosperma em desenvolvimento, e as camadas mais externas, juntamente com a epiderme, formam a testa da semente. Em Rubiaceae, assim como na maioria das Asteridae, a testa das sementes apresenta-se constituída pela exotesta formada por uma única camada de células. Apenas em algumas espécies de *Paragenipa* e *Didymosalpinx* a exotesta é composta por mais de uma camada de células. Além disso, alguns gêneros apresentam exotesta reduzida ou ausente. Em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*, após a fecundação do óvulo ocorre intensa atividade meristemática e formação da testa. Com o início da formação do endosperma, ocorre a compressão e consumo dessas camadas. Esse padrão de desenvolvimento do tegumento é peculiar em Rubiaceae, sendo registrado somente por Mendes (1941) em *Coffea arabica*. Na

maturidade das sementes estudadas, a região do sulco ventral apresentou camadas de células parenquimáticas constituindo uma mesotesta, enquanto que no restante das regiões ocorre somente a exotesta. De acordo com Robbrecht (1988), a presença de mesotesta nas Rubiaceae, está relacionada com as regiões da semente onde a pressão exercida pelo endosperma é reduzida.

Em muitas sementes os tegumentos não apresentam uma camada mecânica. Esta característica ocorre geralmente em famílias com frutos indeiscentes, como Aceraceae, Anacardiaceae, Cornaceae, Menispermaceae e Apiaceae (Paoli 2006). A testa de *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* não apresentou camada mecânica, ainda que algumas células da mesotesta de *P. trichophora* tenham se diferenciado em fibras, estas não caracterizaram uma camada mecânica.

Nas sementes onde ocorre redução ou ausência do nucelo, a função de nutrição é transferida para outros tecidos. Nas espécies estudadas o tecido responsável pela nutrição do saco embrionário durante o desenvolvimento do endosperma é o tegumento. Durante as fases iniciais do desenvolvimento da semente, o tegumento apresenta uma atividade meristemática acentuada, enquanto o endosperma permanece quiescente. Com a formação do endosperma a testa é parcialmente consumida. Esta característica peculiar deve ser destacada, tendo em vista, não ser uma ocorrência comum na literatura pertinente.

Todas as espécies pertencentes à Rubiaceae possuem sementes com endosperma. Em Psychotrieae a textura é normalmente córnea, provavelmente devido às reservas amilíferas (Robbrecht 1988). Tribos como Morindeae, Vanguerieae e Guettardeae são caracterizadas pelo endosperma tenro com reserva composta de lipídeos (Robbrecht 1988). Petit (1964) e Taylor (1996) usaram como característica distintiva para *Psychotria* a ausência de óleo no endosperma. Robbrecht (1988),

observou pequena quantidade de lipídeos no endosperma de algumas espécies de *Psychotria* e destacou a necessidade de um estudo mais detalhado a respeito das reservas endospermicas desse gênero. Os testes histoquímicos realizados nesse trabalho revelaram a presença de substâncias lipídicas no endosperma das espécies estudadas. Portanto, torna-se necessária uma revisão sobre o uso da característica “ausência de óleo no endosperma” para delimitar *Psychotria*.

Outro aspecto a ser ressaltado, é a presença de cristais prismáticos de oxalato de cálcio nas células endospermicas de *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*. Esta condição é considerada incomum para a maioria das plantas, mas também foi observada em *Metroxylon* e *Hamamelis* (Werker 1997).

Células do endosperma com paredes espessadas, como as das espécies estudadas, foram encontradas também em outras monocotiledôneas e dicotiledôneas. Esta característica pode estar relacionada com a reserva de carboidratos para a germinação. Werker (1997) classificou esse tipo de endosperma como “endosperma com paredes espessadas”.

Invaginações no endosperma são comuns em Rubiaceae. *Psychotria* possui uma ampla variação no grau de ruminação do endosperma, que vai da ausência à presença invaginações profundas. Algumas espécies apresentam formas intermediárias. O endosperma de *P. congesta*, *P. dalzellii* e *P. elongata* possui numerosas invaginações que proporcionam à superfície das sementes o aspecto de rede. Em *P. reevesii*, as invaginações são menos profundas e formam cinco sulcos na face dorsal da semente e três em *P. serpens*. *P. macrocarpa* apresenta ruminações que só são detectadas com um exame mais detalhado (Perisamy 1964). A presença de invaginações profundas em forma de U na face ventral da semente e sulcos na face dorsal, caracterizaram o endosperma ruminado em *P. hoffmannseggiana* e em *P. trichophora*. De acordo com

Perisamy (1964), em gêneros taxonomicamente complexos como *Psychotria*, o tipo de ruminação pode auxiliar na separação das espécies.

Para Werker (1997), a produção de ruminações em sementes com desenvolvimento tardio do endosperma, ocorre devido à pré-formação do tegumento. Existem casos em que a formação da invaginação acompanha o curso do feixe vascular do tegumento, característica observada na ruminação da face ventral das sementes de *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*.

Existe uma correlação entre tamanho do embrião e do endosperma em Rubiaceae; quanto maior o endosperma, menor o embrião e vice-versa (Puff 2001). Essa relação foi confirmada nas espécies estudadas, uma vez que o embrião é pequeno em relação ao tamanho do endosperma.

Martin (1946) propôs um sistema de classificação de embriões baseado na razão entre o volume do embrião e do endosperma. Os embriões de *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* possuem razão  $\frac{1}{4}$ , portanto foram considerados pequenos. O tipo espatulado rudimentar observado em ambas as espécies, é característico também de vários gêneros de Rubiaceae.

## 5. Referências bibliográficas

- BARROSO, G.M., MORIM, M.P., PEIXOTO, A.L. & ICHASO, C.L.F. 1999. **Frutos e sementes:** morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Editora UFV, Viçosa.
- BREMER, B. 1995. Combined and separate analyses of morphological and molecular data in the plant family Rubiaceae. **Cladistics** 12: 21-40.
- BREMER, B. & ERIKSSON, O. 1992. Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. **Biological Journal of the Linnean Society** 47:79-95.
- BREMER, B. & JANSEN, R.K. 1991. Comparative restriction site mapping of the chloroplast DNA implies new phylogenetic relationships within the Rubiaceae. **American Journal of Botany** 78:198-213.
- COLL, J.B., RODRIGO, G.N., GARCIA, B.S. & TAMÉS, R.S. 1995. **Fisiología Vegetal.** Pirámide, Madrid.
- CORNER, E.J.H. 1976. **The seeds of dicotyledons.** 2v . Cambridge University Press, Cambridge.
- DE TONI, K.L.G. & MARIATH, J.E.A. 2004. O desenvolvimento do rudimento seminal de *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. (Rubiaceae, Rubioideae, Spermacoceae). **Revista Brasileira de Botânica** 27(1)185-192.
- FAGERLIND, F. 1937. Embryologische, zytologische und bestäubungsexperimentelle Studien in der Familie Rubiaceae nebst Bemerkungen über einige Polyoliditätsprobleme. **Acta Horti Bergiani** 2:196-470.

- GAERTNER, J. **De fructibus et seminibus plantarum.** v.I. Leipzig, 1788 *apud*
- ROTH, I. 1977. **Fruits of Angiosperms.** Gebrüder Borntraeger (Handbuch der Pflanzenanatomie), Berlin.
- IGERSHEIM, A. 1992. The ovary, fruit and seed development of *Craterispermum* (Rubiaceae). **Belgian Journal of Botany** 125(1):101-113.
- JENSEN, W.A. 1962. **Botanical Histochemistry: principles and practice.** W. H. Freeman, San Francisco.
- JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant Microtechnique.** McGraw-Hill Book, New York.
- MABBERLEY, D.J. 1997. **The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants.** Cambridge University Press, Cambridge.
- MARTIN, A.C. 1946. The comparative internal morphology of seeds. **The American Midland Naturalist** 36(3):513-660.
- MENDES, A.J.T. 1941. Cytological observations in *Coffea*. VI. Embryo and endosperm development in *Coffea arabica* L. **American Journal of Botany** 28(6):784-789.
- NEPOKROEFF, M., BREMER, B. & SYTSMA, K.J. 1999. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. **Systematic Botany** 24(1):5-27.
- O'BRIEN, T.P., FEDER, N. & McCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** 59:368-73.
- PAOLI, A.A.S. 2006. Semente. *In* Anatomia do fruto e da semente (L.M.Souza, ed.), Editora UEPG, Ponta Grossa, p.127-163.

- PERISAMY, K. 1964. Studies on seeds with ruminant endosperm. V. Seed development and rumination in two genera of the Rubiaceae. **Proceedings of the Indian Academy Biological Sciences** 60(19):351-360.
- PETIT, E. 1964. Les espèces africaines du genre *Psychotria* L. (Rubiaceae). **Bulletin du Jardin Botanique de Bruxelles** 34:1-229.
- PUFF, C. 2001. The significance of gynoecium and fruit and seed characters or the classification on the Rubiaceae. **Malayan Nature Journal** 55(1-2):133-146.
- RANGAN, T.S. & RANGASWAMY, N.S. 1999. Nucellus – a unique embryologic system. **Phytomorphology** 49(4):223-335.
- ROBARDS, A.W. 1978. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In **Electron microscopy and cytochemistry of plant cells** (HALL J.L. ed.), Elsevier, New York.
- ROBBRECHT, E. 1988. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Belgica** 1:1-271.
- ROBBRECHT, E. & PUFF, C. 1981. *Mericocalyx* Bamps, synonymous with *Otiophora* Zucc. (Rubiaceae). **Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique** 51:143-151.
- RODRIGUEZ, P. 1976. Estudio sobre frutos carnosos y sus semillas de las Rubiaceae de Venezuela. **Acta Botánica Venezolana** 11(1-4):285-381.
- ROSENTHAL, G.A. & JANZEN, D.H. 1979. **Herbivores**: their interaction with secondary plant metabolites. Academic Press, New York.
- ROTH, I. & LINDORF, H. 1971. Anatomía y desarrollo del fruto y de la semilla del café. **Acta Botanica Venezolana** 6:197-238.

- ROTH, I. 1977. **Fruits of Angiosperms**. Gebrüder Borntraeger (Handbuch der Pflanzenanatomie), Berlin.
- SASS, J.E. 1951. **Botanical Microtechnique**. 3.ed., State Press, Iowa.
- SHAMROV, I.I. 1998. Ovule classification in flowering plants – new approaches and concepts. **Botanische Jahrbücher für Systematik Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie** 154(3):377-407.
- SOUZA, L.A. 2006. Fruto. *In Anatomia do fruto e da semente* (L.A. Souza ed.). Editora UEPG, Ponta Grossa, p.11-123.
- TAYLOR, C.M. 1996. Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. **Opera Botanica Belgica** 7:261-270.
- TAYLOR, C.M. 2005. Margaritopsis (Rubiaceae, Psychotrieae) in the Neotropics. **Systematics and Geography of Plants** 75:61-177.
- TAYLOR, C.M. 2007. Rubiaceae. *In Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo* (MELHEM, T.S., WANDERLEY, M.G.L., MARTINS, S.E., JUNG-MENDAÇOLLI, S.L., SHEPHERD, G.J., & KIRIZAWA, M. eds.). Fapesp, São Paulo.
- TUKEY, H.B. 1935. Growth of the embryo, seed, and pericarp of the sour cherry (*Prunus cerasus*) in relation to season of fruit ripening. **Proceedings American Society for Horticultural Science** 31:125-144.
- TUKEY, H.B. & YOUNG, J.O. 1939. Histological study of the developing fruit of the sour cherry. **The Botanical Gazette** 100:723-749.
- WERKER, E. 1997. **Seed anatomy**. Gebrüder Borntraeger, Berlin.

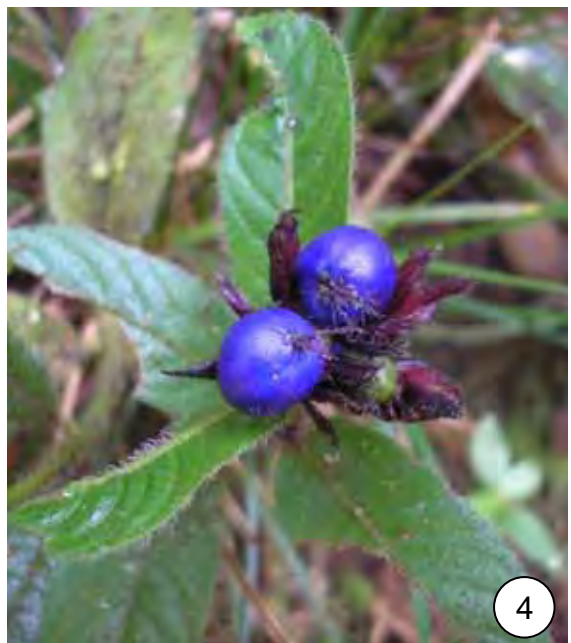


WINKLER, H. 1944. Zur einigung und weiterführung in der frage des fruchtsystems.

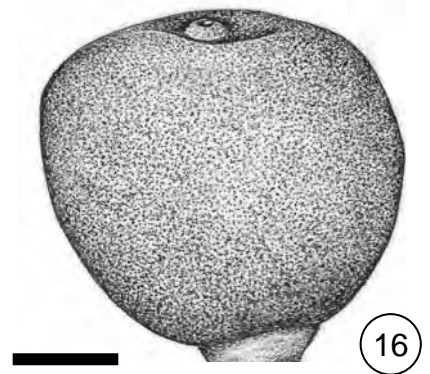
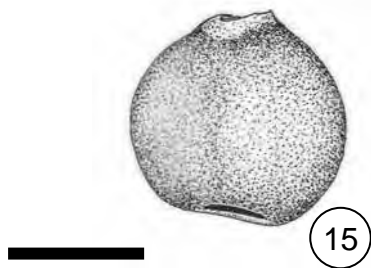
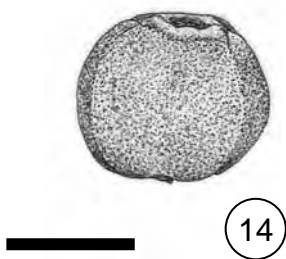
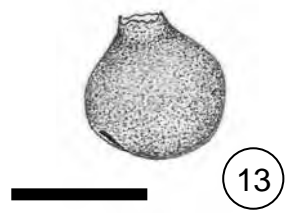
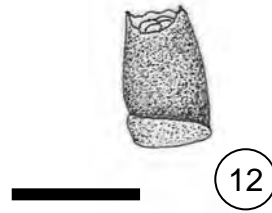
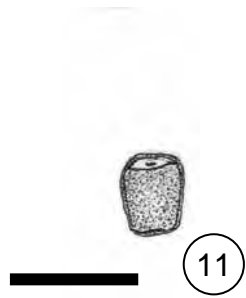
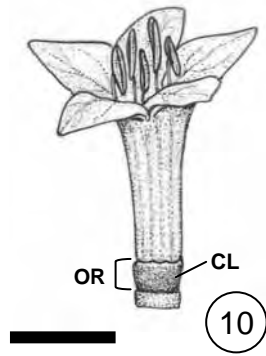
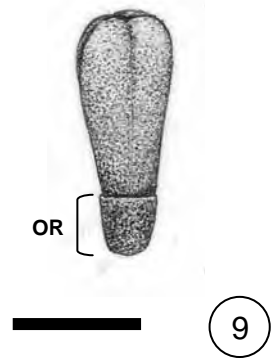
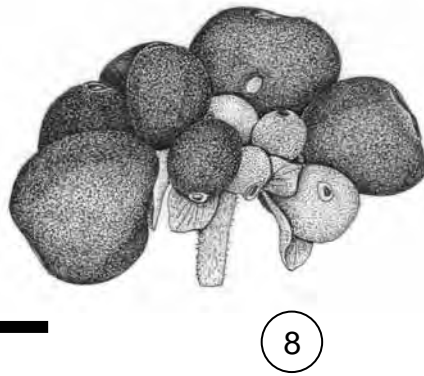
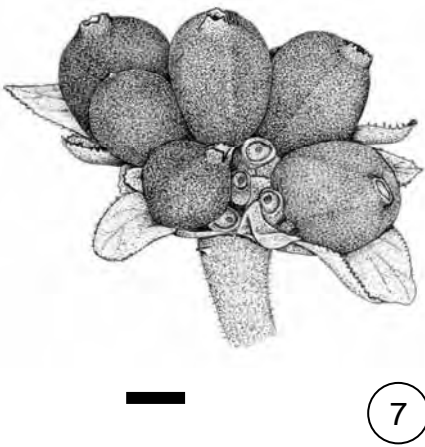
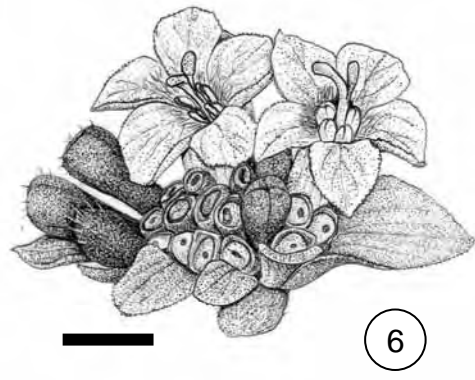
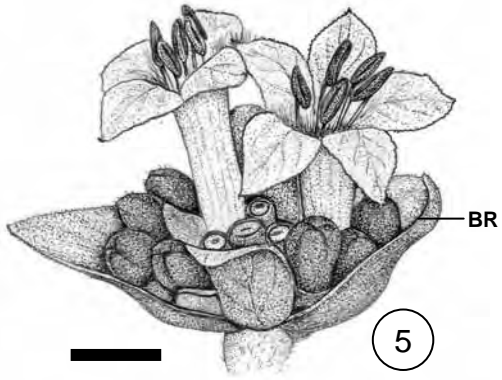
**Beitr. Biol. Pfl.** *apud* ROTH, I. 1977. **Fruits of Angiosperms.** Gebrüder  
Borntraeger (Handbuch der Pflanzenanatomie), Berlin.

## **Ilustrações**

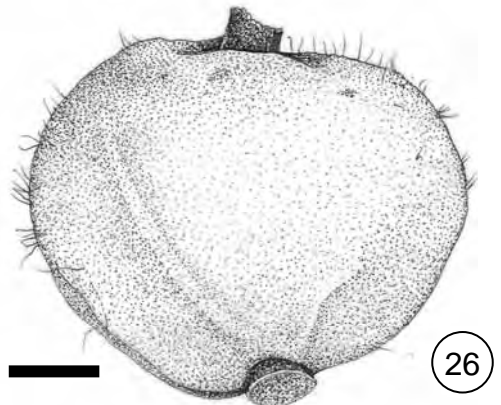
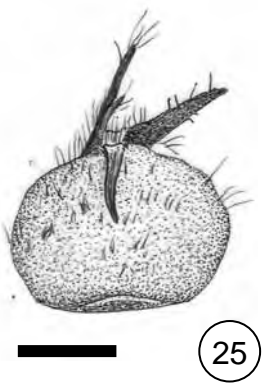
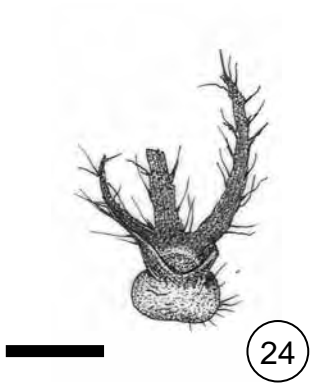
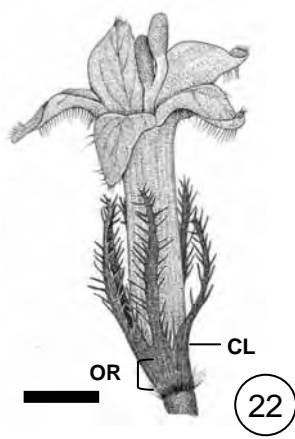
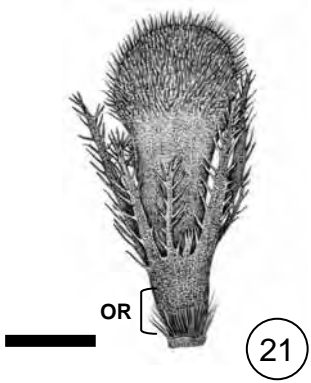
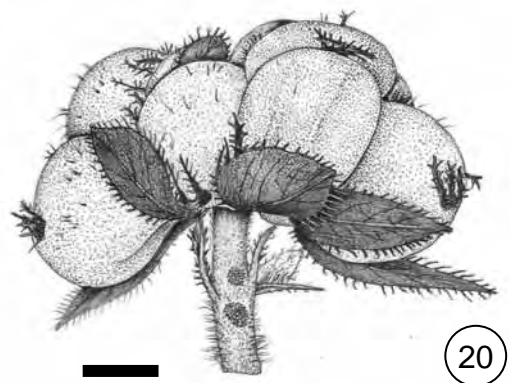
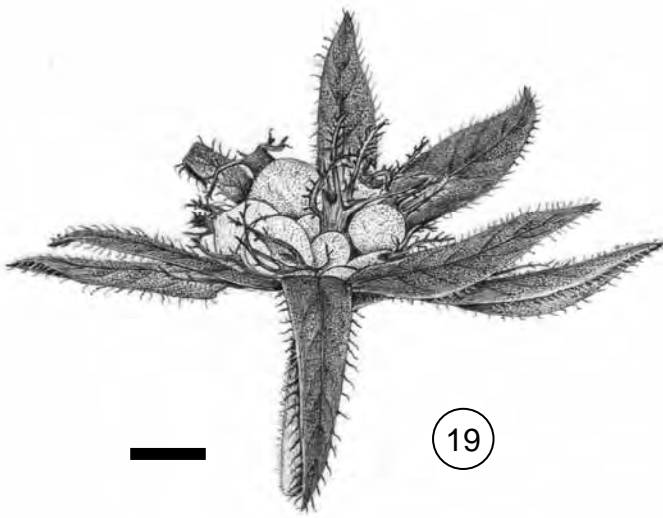
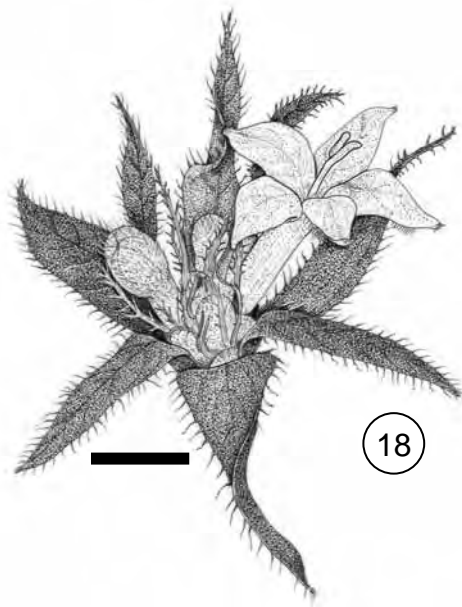
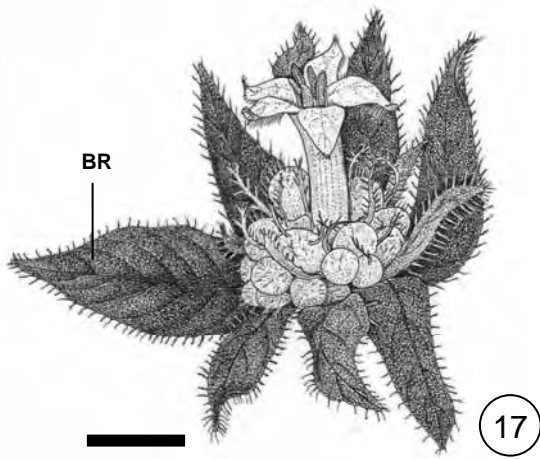
Figuras 1-4. 1-2. *Psychotria hoffmannseggiana*. 1. Aspecto geral da planta. 2. Infrutescência com frutos maduros. 3-4. *Psychotria trichophora*. 3. Aspecto geral da planta. 4. Infrutescência com frutos maduros.



Figuras 5-16. *Psychotria hoffmannseggiana*. 5. Inflorescência com botões florais, flores longistilas em antese. 6. Inflorescência com botões florais, flores brevistilas em antese e frutos jovens. 7. Infrutescência com frutos jovens. 8. Infrutescência com frutos jovens e maduros. 9. Botão floral. 10. Flor em antese. 11-15. Frutos jovens em diferentes fases do desenvolvimento. 16. Fruto maduro. (BR: bráctea, CL: cálice, OR: ovário). Barras de escala = 2,5 mm (5-16).

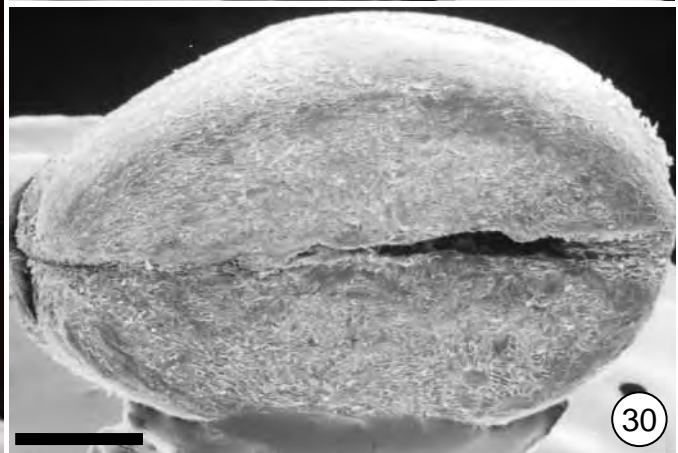
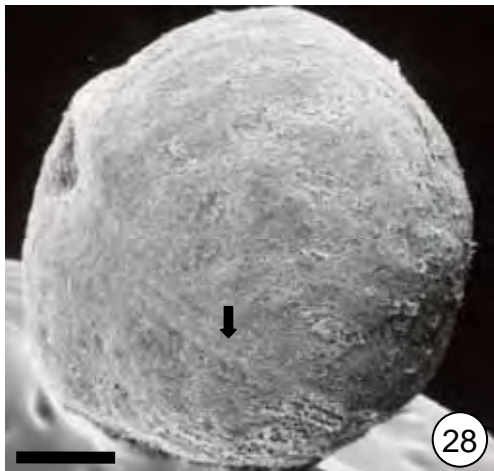
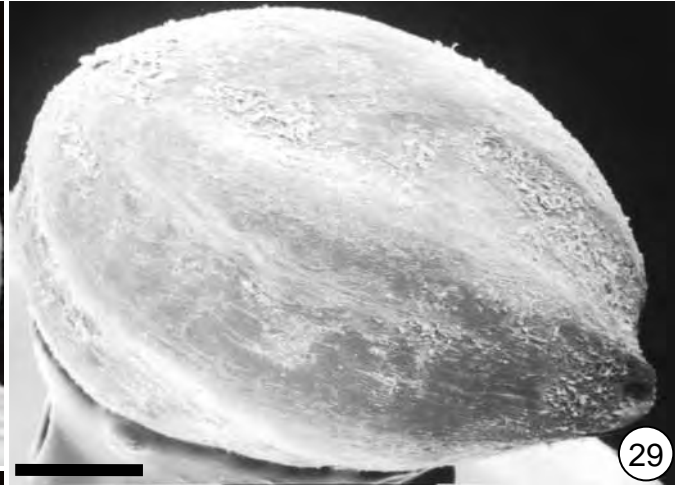
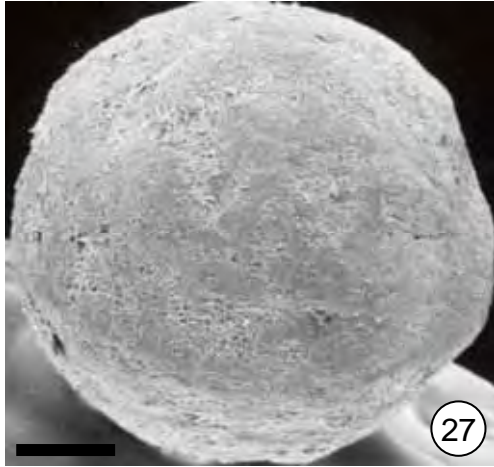


Figuras 17-26. *Psychotria trichophora*. 17. Inflorescência com botões florais, flores longistilas em antese. 18. Inflorescência com botões florais, flores brevistilas em antese. 19. Infrutescência com frutos jovens. 20. Infrutescência com frutos maduros. 21. Botão floral. 22. Flor em antese. 23-25. Frutos jovens em diferentes fases do desenvolvimento. 26. Fruto maduro. (BR: bráctea, CL: cálice, OR: ovário). Barras de escala = 10 mm (17-20), 2,5 mm (21-26).

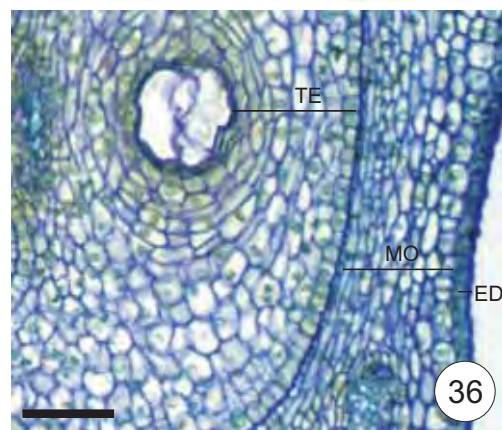
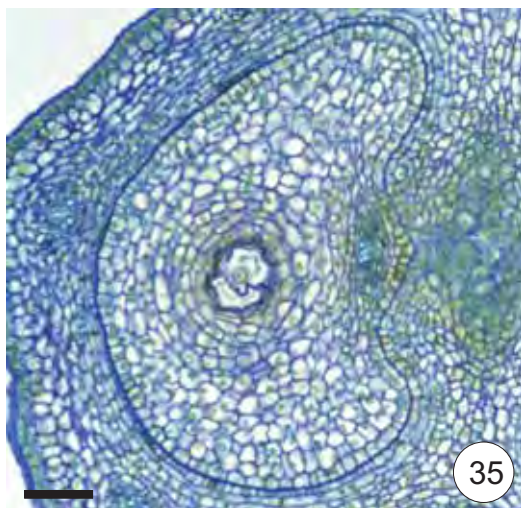
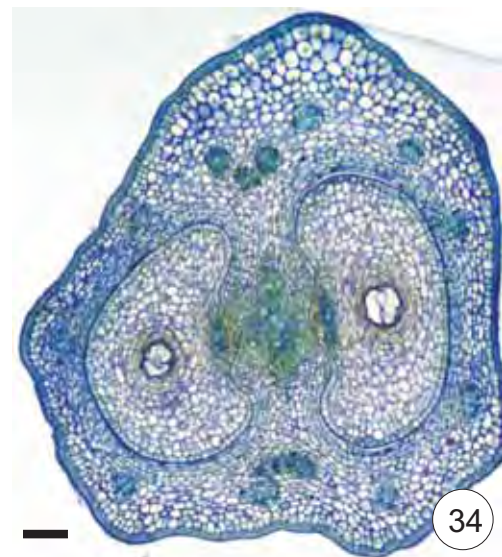
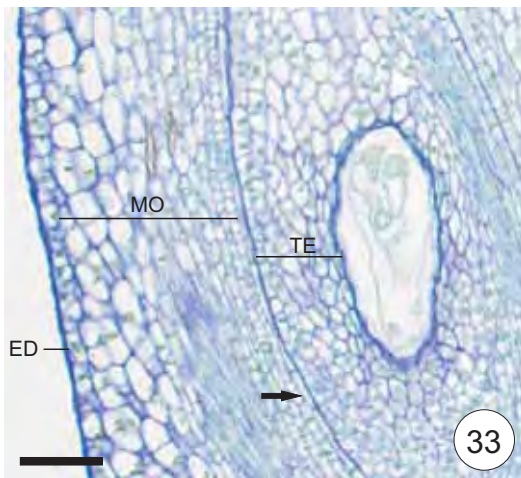
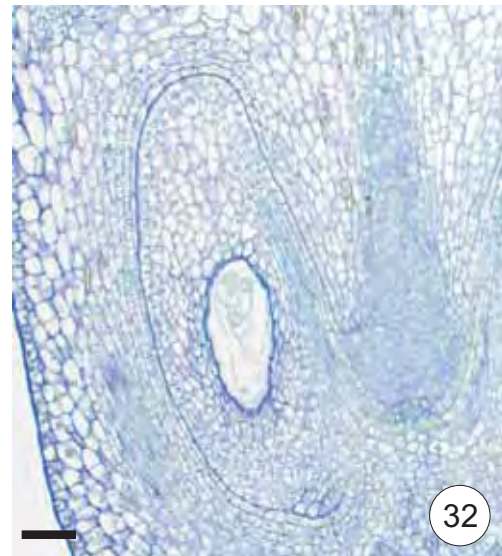
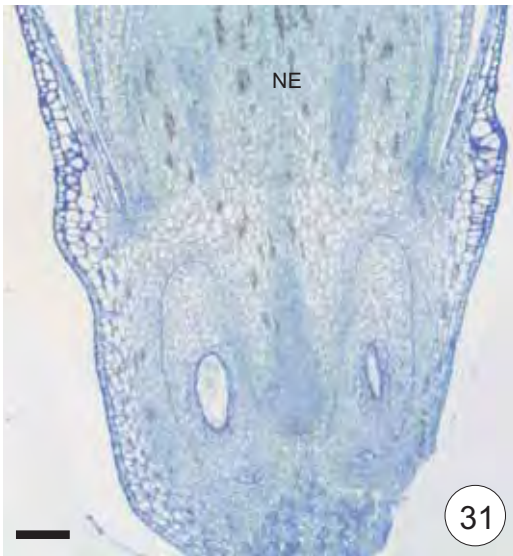




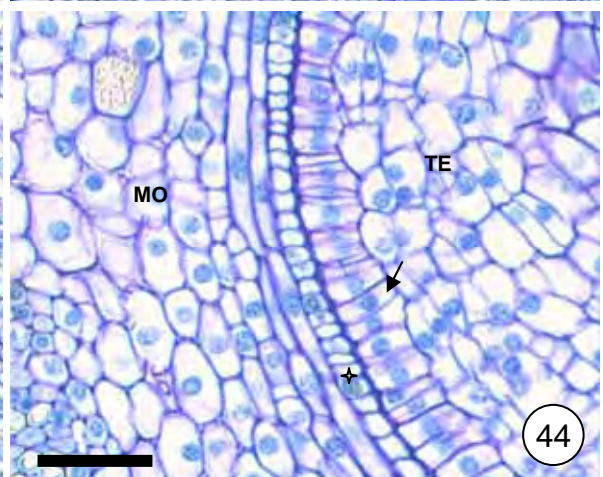
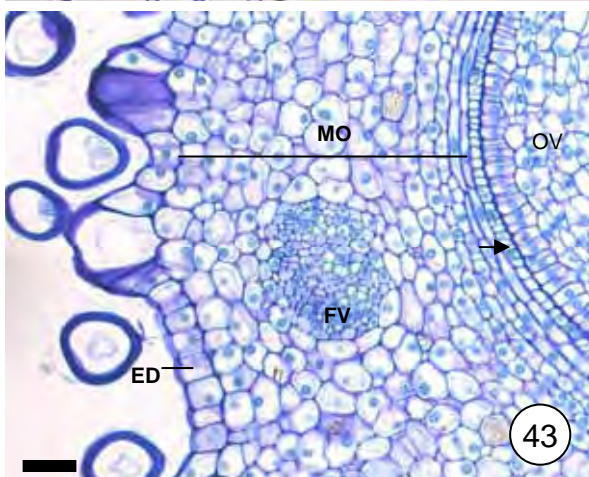
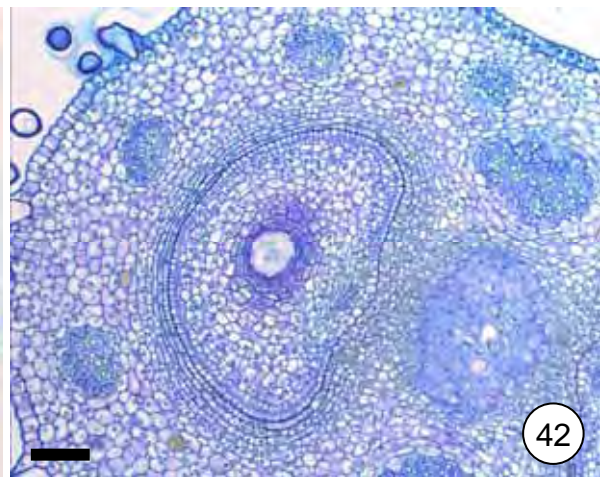
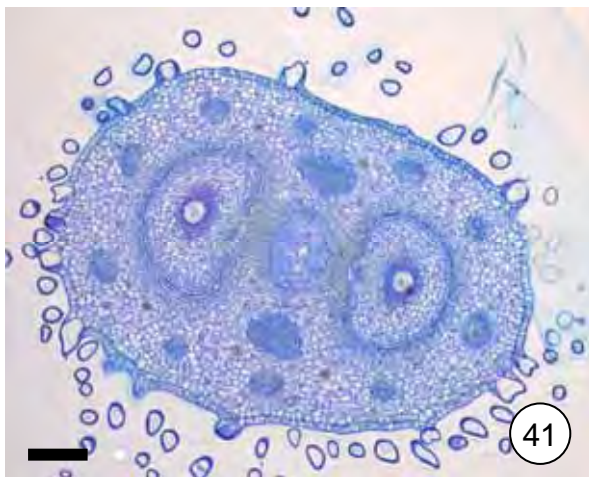
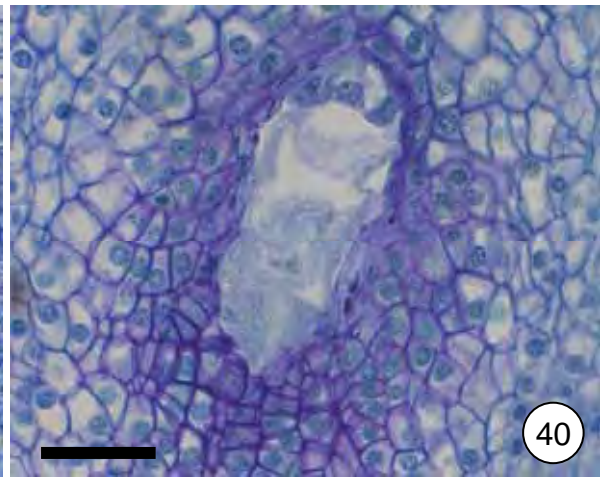
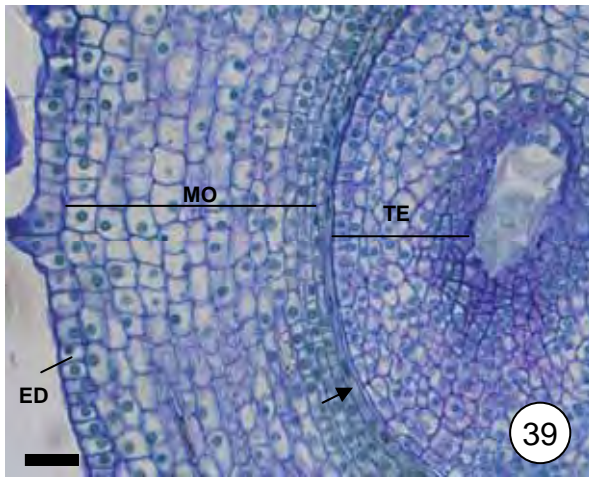
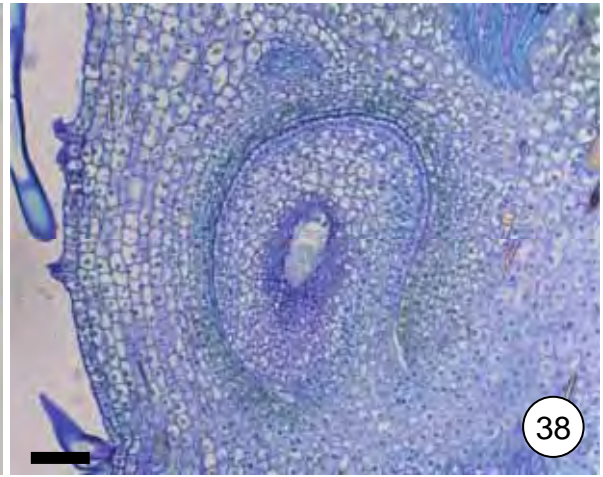
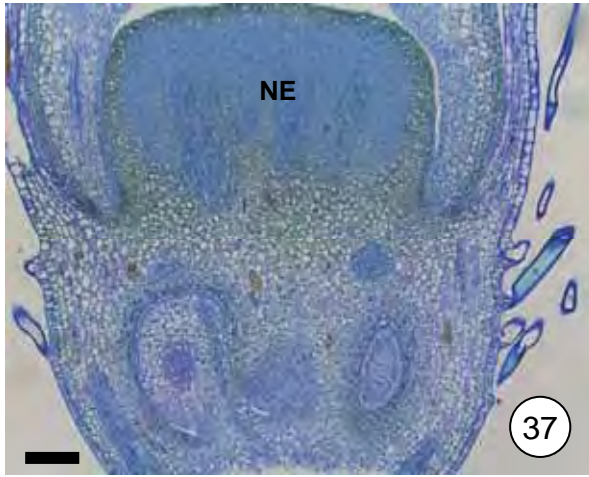
Figuras 27-30. 27-28. Pirênio de *Psychotria trichophora*. 27. Face dorsal. 28. Face ventral, notar invaginação ventral (seta). 29-30. Pirênio de *Psychotria hoffmannseggiana*. 29. Face dorsal. 30. Face ventral, destacando a invaginação ventral. Barras de escala = 500 $\mu$ m (27-30).



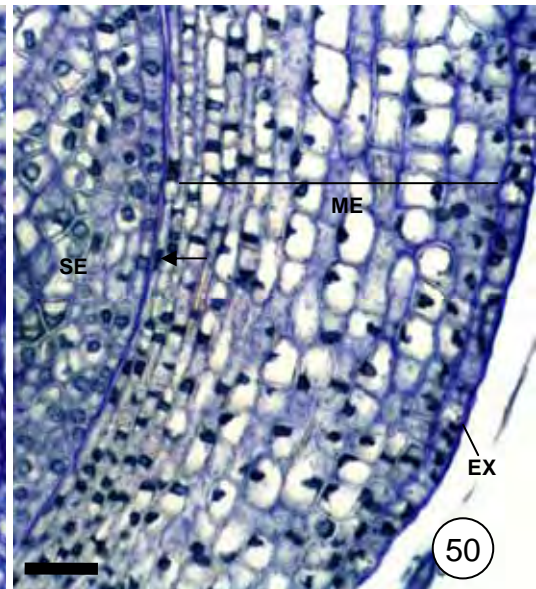
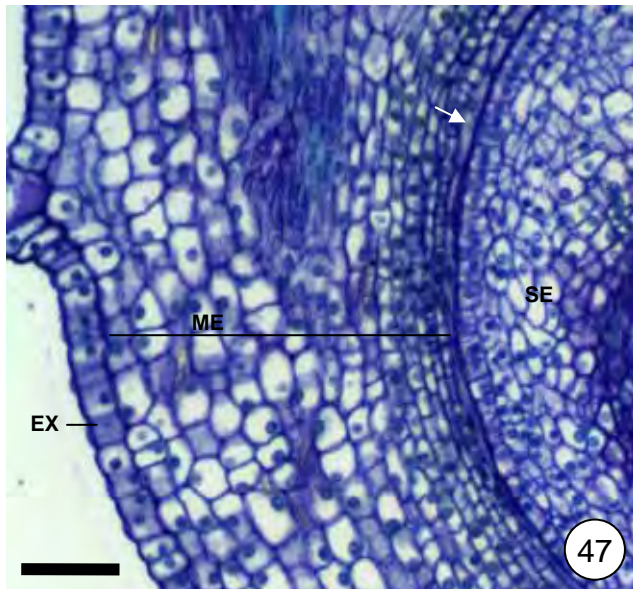
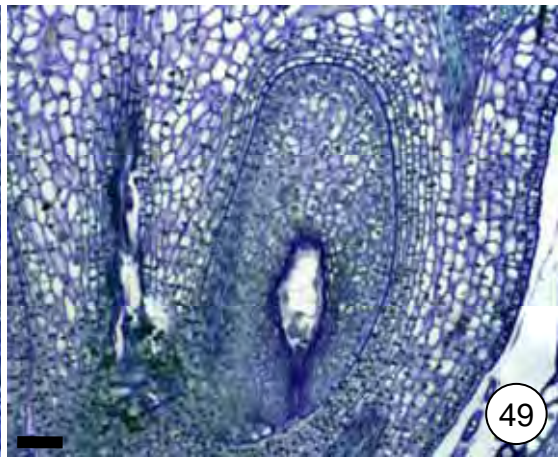
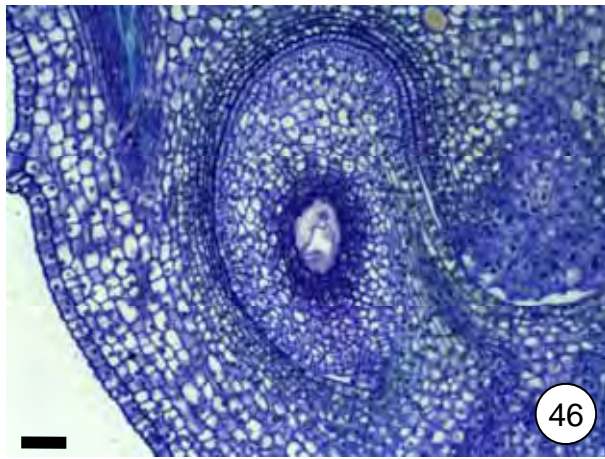
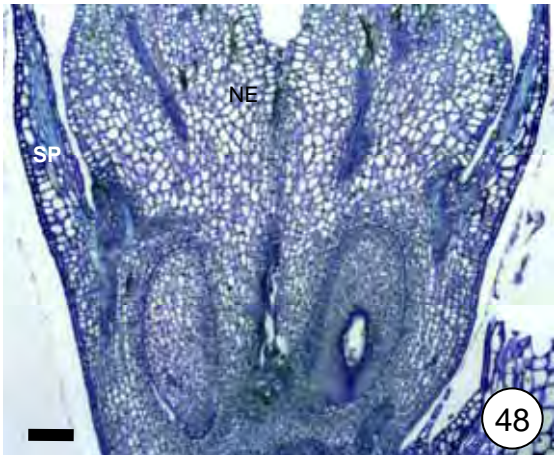
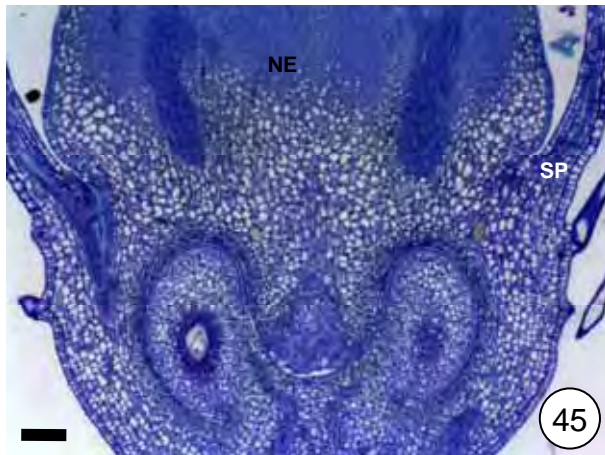
Figuras 31-36. Estádio I do desenvolvimento do pericarpo e da semente de *Psychotria hoffmannseggiana* (31-33 secções longitudinais, 34-36 secções transversais). 31. Ovário. 32. Óvulo. 33. Parede do ovário destacando o mesofilo, a epiderme interna (seta), o tegumento do óvulo e saco embrionário. 34. Ovário. 35. Óvulo. 36. Parede ovariana, destacando a epiderme externa, o mesofilo e o tegumento do óvulo. (ED: epiderme externa do ovário, MO: mesofilo, NE: nectário floral, TE: tegumento). Barras de escala = 100  $\mu\text{m}$  (31, 34), 50  $\mu\text{m}$  (32-33, 35-36).



Figuras 37-44. Estádio I do desenvolvimento do pericarpo e da semente de *Psychotria trichophora* (37-40 secções longitudinais, 41-44 secções transversais). 37. Ovário. 38. Óvulo. 39. Parede do ovário destacando o mesofilo, a epiderme interna (seta) e o tegumento do óvulo. 40. Saco embrionário. 41. Ovário. 42. Óvulo. 43. Parede ovariana evidenciando a epiderme externa, mesofilo e epiderme interna (seta). 44. Mesofilo ovariano, a epiderme interna do ovário (cruz), e a epiderme externa do tegumento do óvulo (seta). (ED: epiderme externa do ovário, FV: feixe vascular, MO: mesofilo, NE: nectário floral, TE: tegumento). Barras de escala = 200µm (37, 41), 100µm (38, 42), 50µm (39-40, 43-44).



Figuras 45-50. 45-47. Estádio II do desenvolvimento de *Psychotria trichophora* (secções longitudinais). 45. Fruto. 46. Semente. 47. Pericarpo, destacando o exocarpo, mesocarpo e endocarpo (seta). 48-50. Estádio II do desenvolvimento de *Psychotria hoffmannseggiana* (secções longitudinais). 48. Fruto. 49. Semente. 50. Pericarpo, evidenciando o exocarpo, mesocarpo e endocarpo (seta). (EX: exocarpo, ME: mesocarpo, SE: semente). Barras de escala = 100  $\mu\text{m}$  (45, 48), 50  $\mu\text{m}$  (46-47, 49), 40  $\mu\text{m}$  (50).

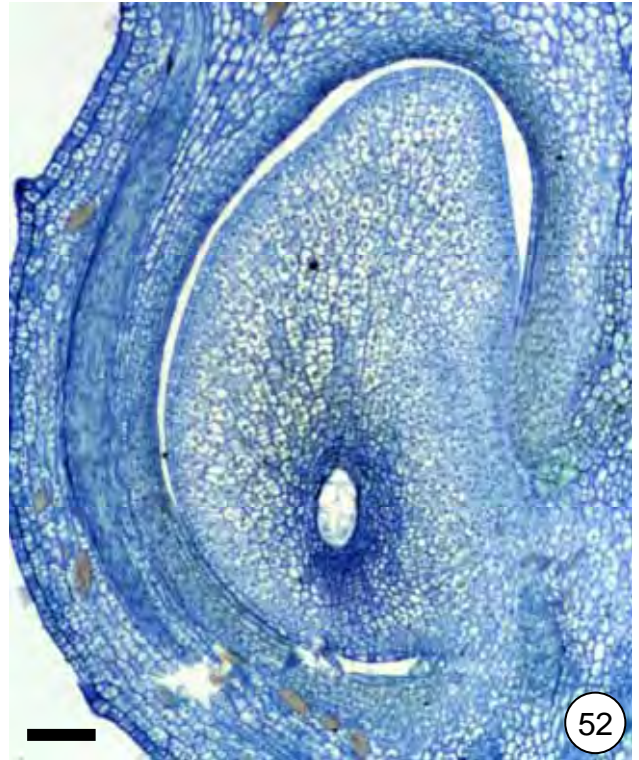




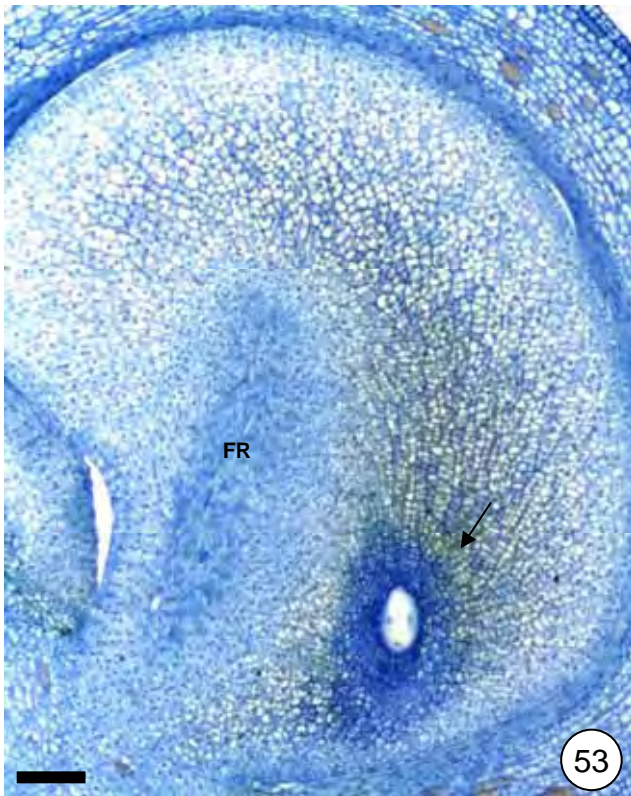
Figuras 51-54. Estádio II do desenvolvimento de *Psychotria trichophora* (secções longitudinais).  
51. Fruto. 52-53. Semente, notar intensa atividade meristemática (seta). 54. Início do desenvolvimento do endosperma (seta). (FR: feixe rafeal). Barras de escala: 100  $\mu\text{m}$  (51-53), 40  $\mu\text{m}$  (54).



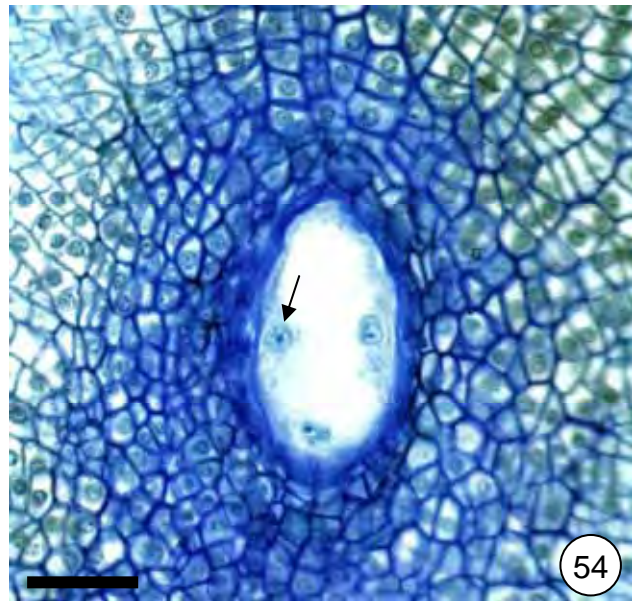
51



52

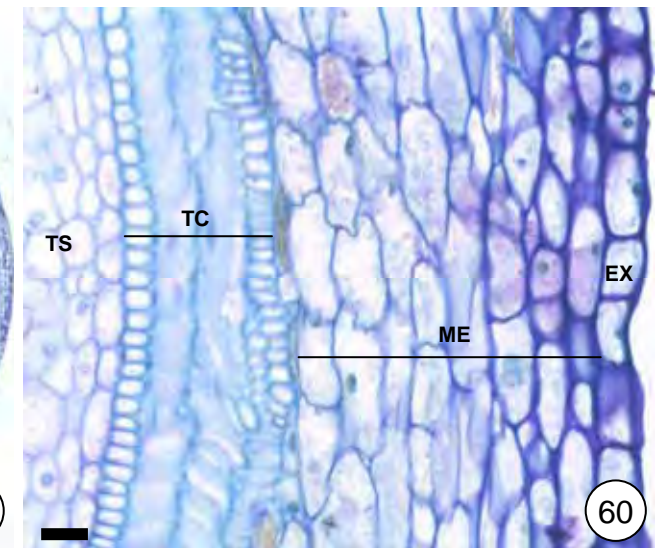
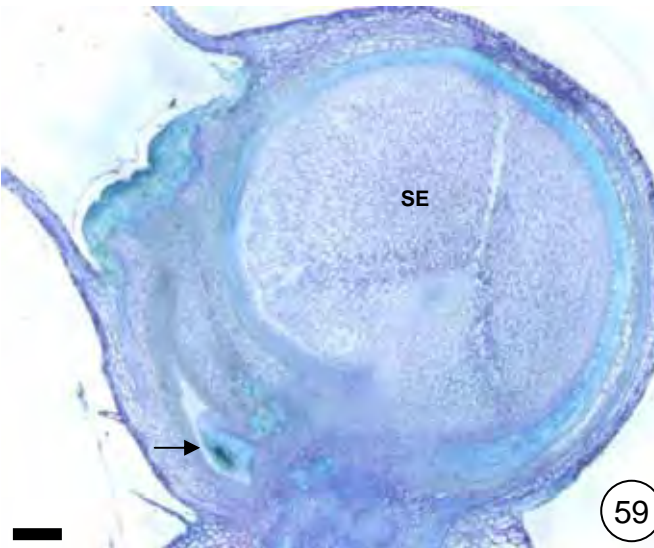
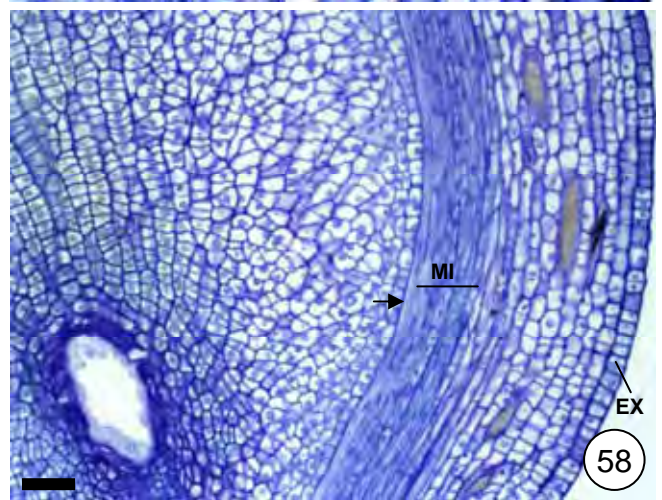
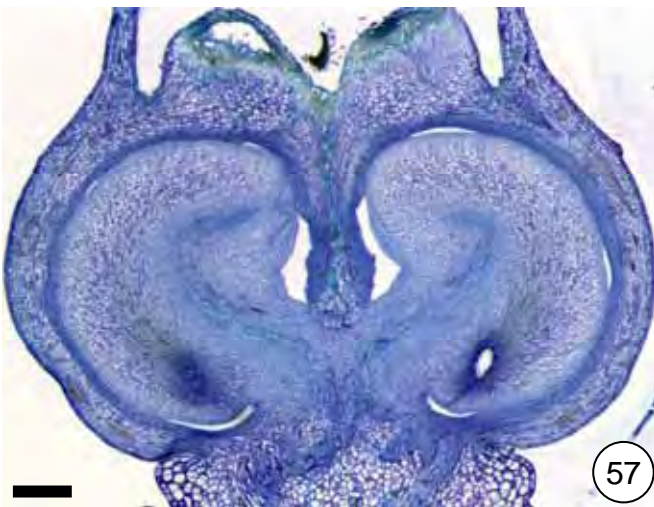
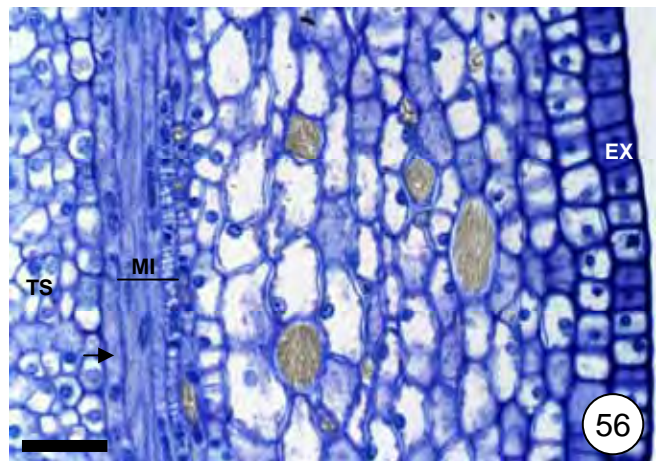
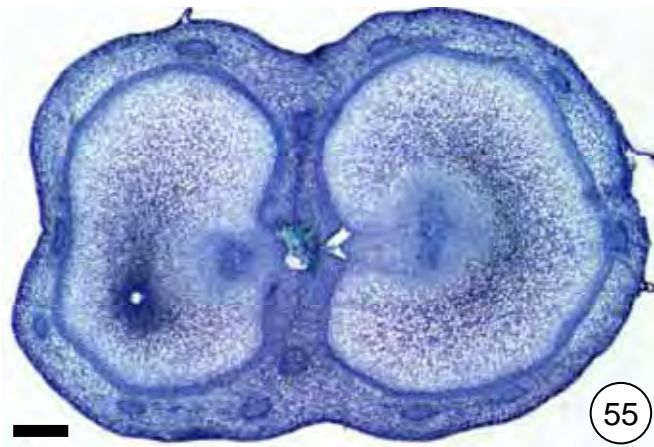


53

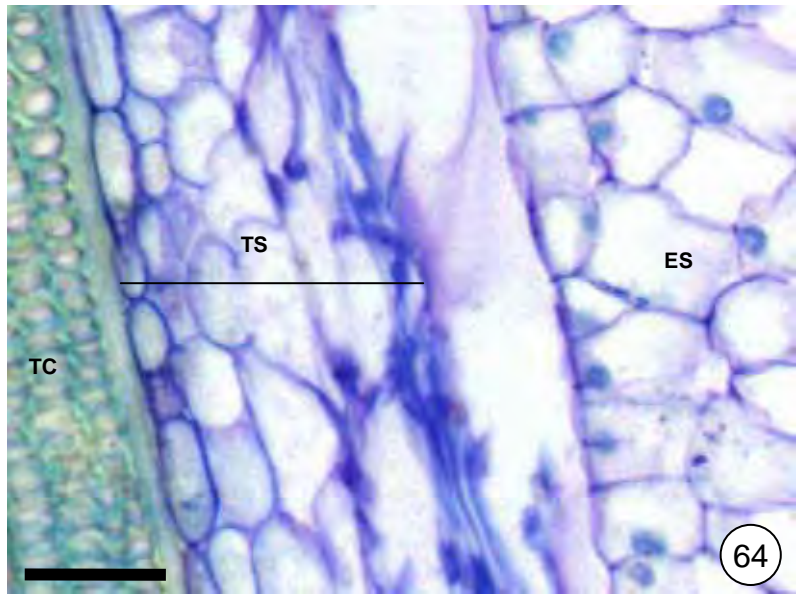
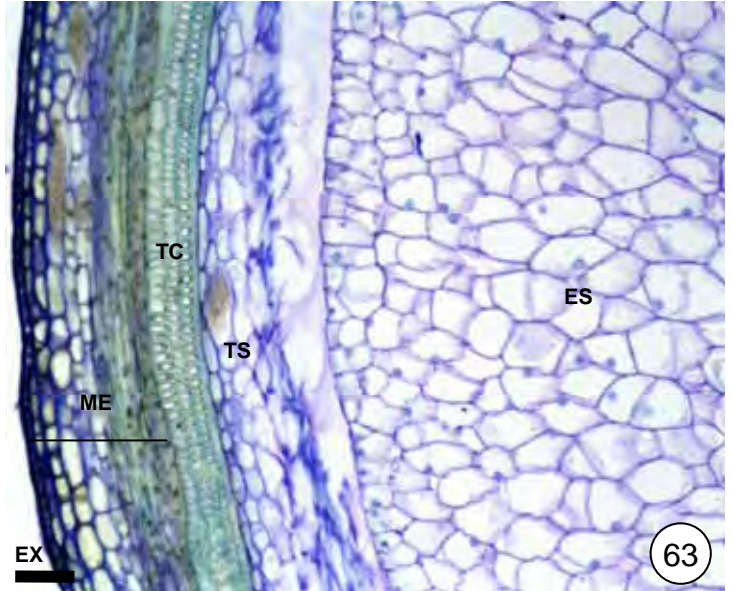


54

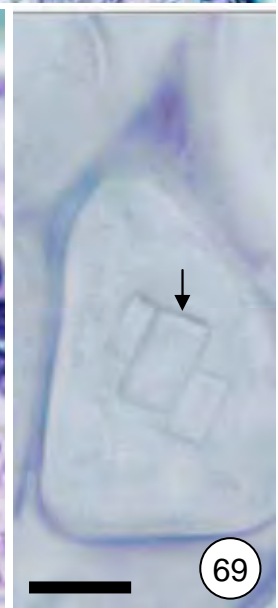
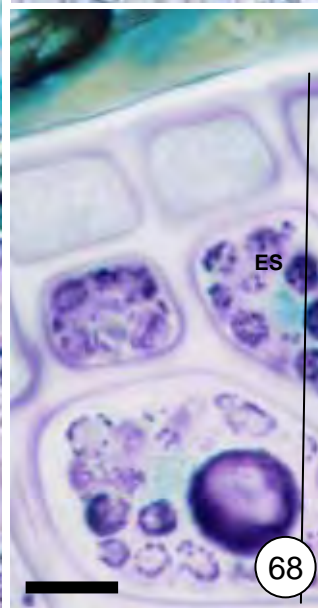
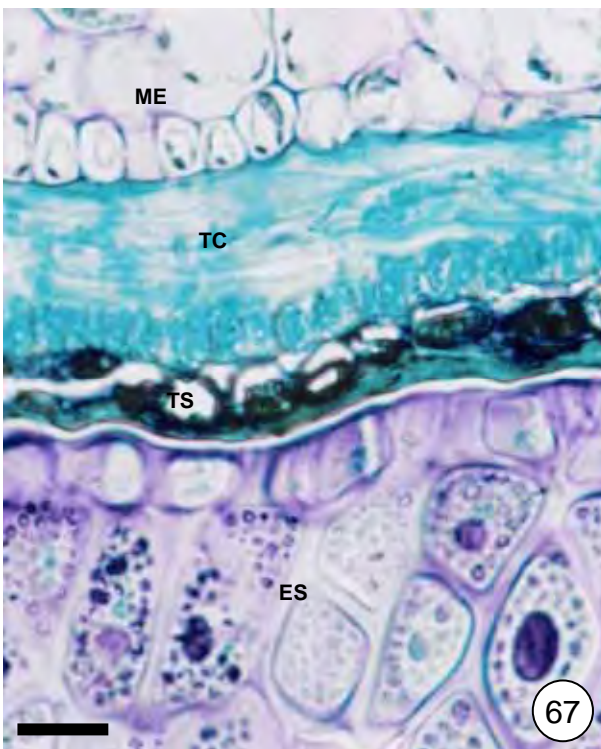
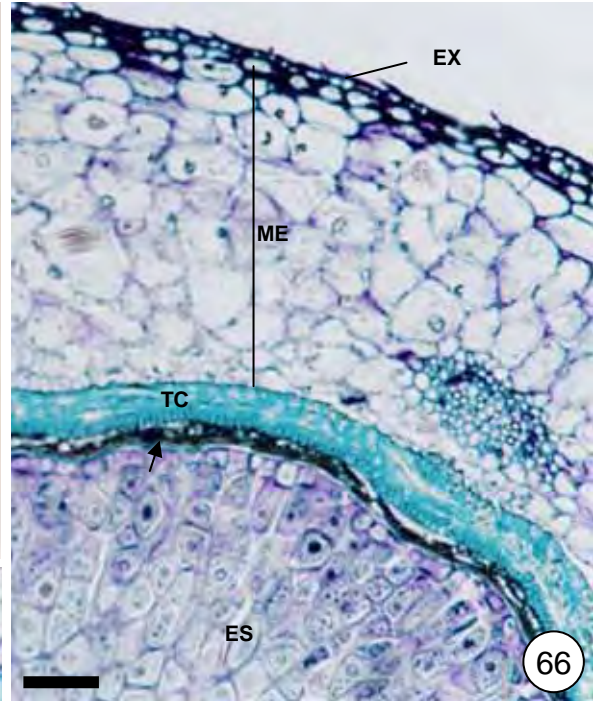
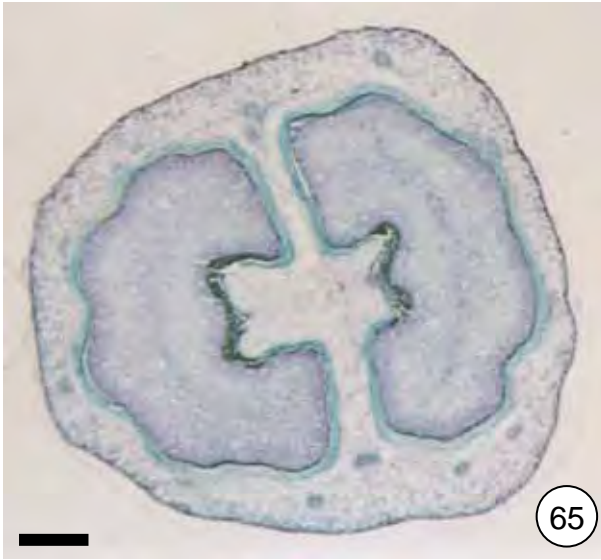
Figuras 55-60. 55-58. Estádio II do desenvolvimento de *Psychotria trichophora* (55-56 secções transversais, 57-58 secções longitudinais). 55. Fruto. 56. Pericarpo, evidenciando o exocarpo, mesocarpo interno e endocarpo (seta). 57. Fruto. 58. Pericarpo, mostrando o exocarpo, mesocarpo, em destaque o mesocarpo interno e endocarpo (seta). 59-60. Início do estágio III do desenvolvimento de *Psychotria trichophora* (secções longitudinais). 59. Fruto, destacando o aborto de uma das sementes (seta). 60. Pericarpo, apresentando exocarpo, mesocarpo e tecido coriáceo. (EX: exocarpo, ME: mesocarpo, MI: mesocarpo interno, SE: semente, TC: tecido coriáceo, TS: testa). Barras de escala = 300 µm (55, 57), 200 µm (59), 40 µm (56, 58, 60).



Figuras 61-64. Estádio III do desenvolvimento de *Psychotria hoffmannseggiana* (secções longitudinais). 61. Fruto. 62. Semente mostrando o desenvolvimento do endosperma. 63. Detalhe do pericarpo, mostrando o exocarpo, o mesocarpo, o tecido coriáceo, a testa e o endosperma em formação. 64. Detalhe da testa. (ES: endosperma, EX: exocarpo, ME: mesocarpo, TC: tecido coriáceo, TS: testa). Barras de escala = 300  $\mu\text{m}$  (61- 62), 50  $\mu\text{m}$  (63-64).

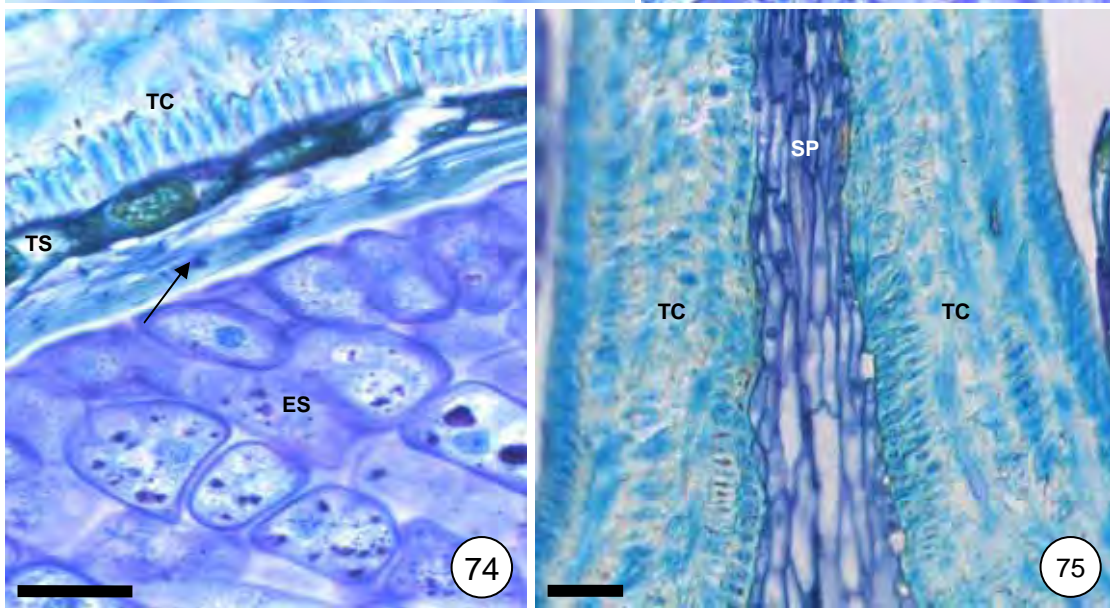
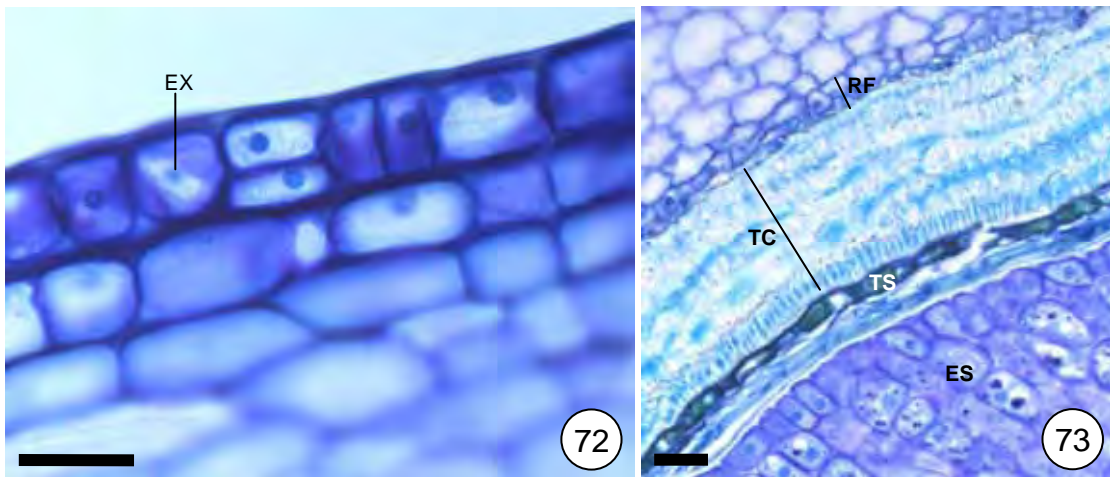
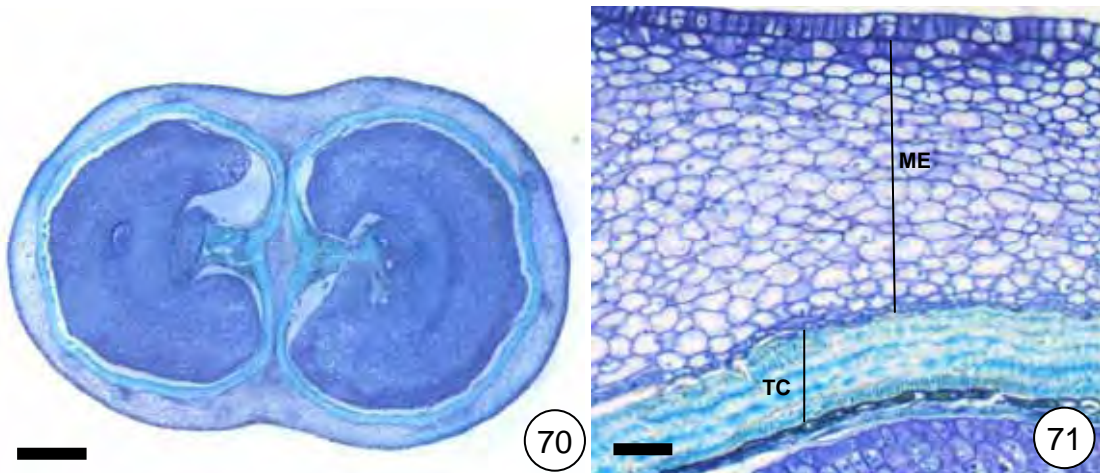


Figuras 65-69. Estádio III do desenvolvimento do pericarpo e da semente de *Psychotria hoffmannseggiana* (secções transversais). 65. Fruto. 66. Detalhe do pericarpo e da semente, mostrando o mesocarpo, o tecido coriáceo, a testa (seta) e o endosperma. 67. Detalhe do tecido coriáceo e da testa. 68. Células do endosperma. 69. Células do endosperma, destacando a presença de cristais prismáticos de oxalato de cálcio (seta). (ES: endosperma, EX: exocarpo, ME: mesocarpo, TC: tecido coriáceo, TS: testa) Barras de escala = 200  $\mu\text{m}$  (65), 70  $\mu\text{m}$  (66), 20  $\mu\text{m}$ , (67), 10  $\mu\text{m}$  (68-69).

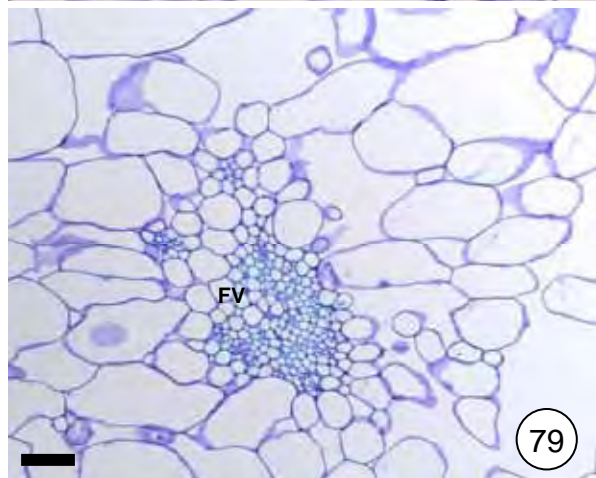
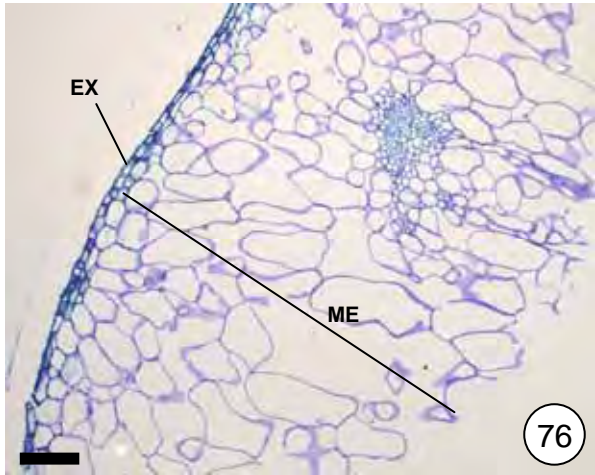




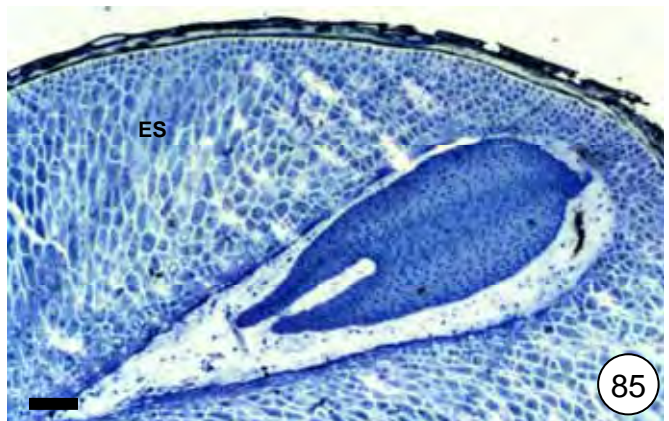
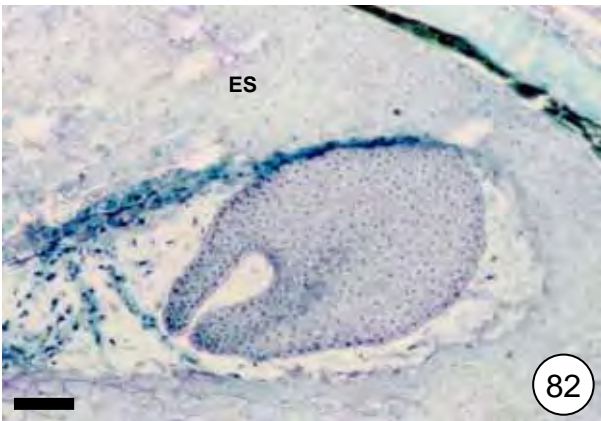
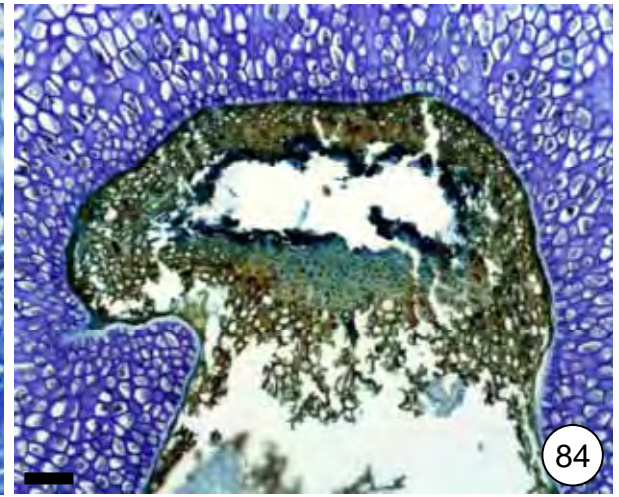
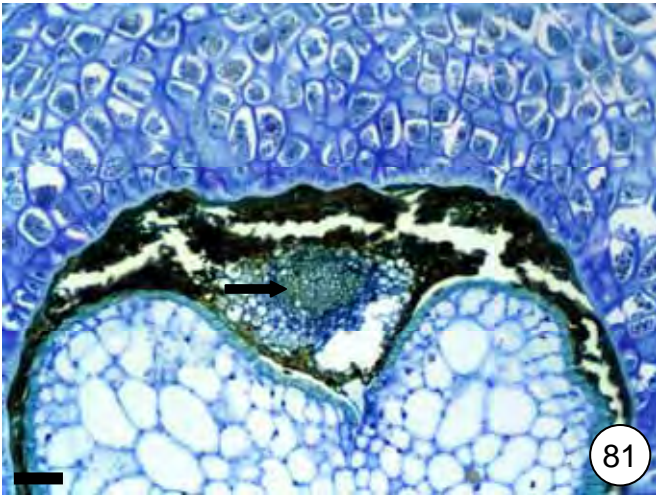
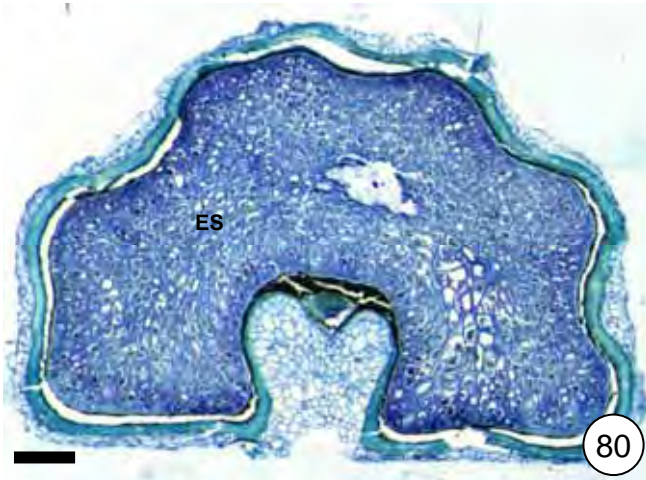
Figuras 70-75. Estádio III do desenvolvimento do pericarpo e da semente de *Psychotria trichophora* (secções transversais). 70. Fruto. 71. Pericarpo mostrando o mesocarpo e o tecido coriáceo. 72. Exocarpo, com divisão celular periclinal. 73. Região de fragilidade (mesocarpo), do tecido coriáceo e da testa. 74. Testa e endosperma. 75. Região central do septo. (EX: exocarpo, ME: mesocarpo, RF: região de fragilidade, SP: septo, TC: tecido coriáceo, TS: testa). Barras de escala = 500  $\mu\text{m}$  (70), 100 $\mu\text{m}$  (71), 50 $\mu\text{m}$  (72-75).



Figuras 76-79. Estádio IV do desenvolvimento do pericarpo de *Psychotria trichophora* (secções transversais). 76. Pericarpo após a separação dos pirênios. 77. Pericarpo, mostrando o exocarpo e parte do mesocarpo. 78. Tricoma tector. 79. Feixe vascular. (EX: exocarpo, FV; feixe vascular, ME: mesocarpo). Barras de escala = 200 $\mu$ m (76), 100 $\mu$ m (79), 50 $\mu$ m (77-78).



Figuras 80-85. 80-82. Pirênio maduro de *Psychotria hoffmannseggiana*. 80. Pirênio (secção transversal). 81. Detalhe da região do sulco ventral, mostrando o feixe rafeal (secção transversal). 82. Embrião (secção longitudinal). 83-85. Pirênio maduro de *Psychotria trichophora*. 83. Pirênio (secção transversal). 84. Detalhe da região do sulco ventral (secção transversal). 85. Embrião (secção longitudinal). (ES: endosperma). Barras de escala = 400  $\mu\text{m}$  (80, 83), 50  $\mu\text{m}$  (81, 84), 100  $\mu\text{m}$  (82, 85).



## **CAPÍTULO II**

**Morfoanatomia foliar de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.)  
Müll. Arg. e *Psychotria trichophora* Müll. Arg. (Rubiaceae, Rubioideae,  
Psychotrieae)**



**Resumo:** O presente trabalho teve por objetivo descrever a morfoanatomia das folhas de *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria trichophora*. As folhas de *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria trichophora* são simples, opostas, elípticas, dorsiventrais e hipoestomáticas. A epiderme do pecíolo e da lâmina é unisseriada, papilosa em *Psychotria hoffmannseggiana*. Os estômatos são paracíticos em ambas as espécies. O mesofilo é constituído por uma camada de parênquima paliçádico e várias de lacunoso. O sistema vascular da nervura central apresenta um feixe colateral central em forma de arco e um feixe colateral menor disposto lateralmente.

**Abstract:** The morphology and anatomy of leaves of *Psychotria hoffmannseggiana* and *Psychotria trichophora*, are here described. The leaves of *Psychotria hoffmannseggiana* and *Psychotria trichophora* are simple, opposite, elliptic, dorsiventral and hypostomatic. The petiole and blade epidermis is uniserial and pappilose concerning *Psychotria hoffmannseggiana*. Both species have paracitic stomata. The mesophyll is composed of a single palisadic parenchyma layer and several lacunose ones. The vascular system of the central vein exhibits a central collateral bundle in the shape of an arch and a smaller collateral bundle laterally disposed.

## 1. Introdução

Rubiaceae possui cerca de 637 gêneros e aproximadamente 10.700 espécies, classificadas em quatro subfamílias; Cinchonoideae, Ixoroideae, Antirheoideae e Rubioideae (Robbrecht 1988). Segundo Mabberley (1997), a família ocupa o quarto lugar em diversidade entre as Angiospermas, ficando atrás apenas de Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae.

A classificação das subfamílias e tribos de Rubiaceae é problemática, principalmente devido à utilização de poucos ou até de um único carácter para a divisão (Bremer e Jansen 1991). Outros fatores também são responsáveis por esta situação: o tamanho da família e a existência de poucas coletas nas áreas tropicais (Bremer 1995).

*Psychotria* L. é o gênero maior da família, representado mundialmente por cerca de 1.000 espécies (Taylor 2007). É considerado taxonomicamente complexo devido ao tamanho e também, à ausência de caracteres morfológicos disponíveis para a definição dos grupos (Nepokroeff *et al.* 1999).

A morfoanatomia dos órgãos vegetativos das Angiospermas é uma ferramenta que pode ser usada pela taxonomia das seguintes maneiras: para a identificação de fragmentos de material vegetativos, como ajuda na identificação preliminar de espécimes herborizados e para indicar as relações filogenéticas entre os taxa (Metcalf 1950).

Dentre os trabalhos realizados com Rubiaceae, destacam-se as obras de Solereder (1908), Metcalfe & Chalk (1950), Robbrecht (1988), os trabalhos de Accorsi (1947, 1948) que tratam dos estômatos e das características morfoanatômicas da epiderme foliar abaxial de várias espécies da família e o de Barros (1959), que observou a presença de domácias em mais de 600 espécies de Rubiaceae.

Recentemente, alguns trabalhos descreveram a morfoanatomia foliar de algumas Rubiaceae: *Diodia radula* (Vieira 1986), *Tocoyena bullata* (Vieira 1986, 1988), *Palicourea longepedunculata* (Pereira *et al.* 2003), *Psychotria nuda*, *Psychotria leiocarpa* (Vieira *et al.* 1992), *Psychotria tenuinervis*, *Psychotria stenocalix* (Gomes *et al.* 1995), e espécies dos gêneros *Relbunium* (Nunes 1994) e *Rondeletia* (Kocsis *et al.* 2004).

Neste trabalho foram descritas e analisadas as características morfoanatômicas das folhas de *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria trichophora* com o objetivo de contribuir para o conhecimento geral de Rubiaceae.

## **2. Material e Métodos**

O material botânico de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. e *Psychotria trichophora* Müll. Arg. (figuras 1-2), constou de folhas adultas, coletadas do segundo nó de 10 indivíduos localizados nas áreas de cerrado da Reserva Biológica de Mogi Guaçu localizada no município de Mogi Guaçu, São Paulo, sob a responsabilidade do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. Ramos foram coletados, herborizados e depositados no Herbário de Rio Claro (HRCB) pertencente ao Departamento de Botânica, UNESP, Campus de Rio Claro, como documento taxonômico.

Os estudos anatômicos foram realizados em material fresco e em material fixado em FAA 70 (Johansen 1940) e conservado em álcool etílico a 70%.

Amostras da região mediana da lâmina, do bordo e do pecíolo foram submetidas à desidratação em série etílica, posteriormente o material foi incluído em historresina metacrilato (Leica®), segundo o protocolo do fabricante, e seccionado em micrótomo rotativo com cerca de 8µm de espessura, obtendo-se séries transversais.

Utilizou-se azul de toluidina (O'Brien *et al.* 1964) para coloração das secções que, em seguida, foram montadas em Entellan®.

Testes histoquímicos foram realizados em material fresco. Para tanto, utilizou-se os seguintes corantes e/ou reagentes: vermelho de rutênio, para identificar polissacarídeos diversos e pectinas (Jensen 1962); floroglucinol em meio ácido, para evidenciar paredes lignificadas (Sass 1951); Sudam IV, para a localização de substâncias lipofílicas; lugol, para detectar amido; cloreto férrico, para verificar a ocorrência de compostos fenólicos e ácido sulfúrico diluído para identificar a composição química dos cristais (Johansen 1940).

Para o estudo da venação, folhas inteiras foram mergulhadas em solução de NaOH 5% até adquirirem coloração amarelada. Posteriormente, foram lavadas em água corrente e colocadas em solução de hipoclorito de sódio 20%, até clarificar. Após nova lavagem em água corrente, as folhas foram coradas com safranina aquosa 0,5% e submetidas a uma série alcoólica crescente por 10 minutos em cada solução. A montagem foi efetuada em gelatina glicerinada (Kraus & Arduim 1997).

Após a análise do laminário por meio da microscopia óptica, os resultados foram documentados por meio de fotomicrografias, imagens capturadas e desenhos a nanquim as quais foram acrescidas de escalas em condições ópticas adequadas a cada caso.

Para a caracterização da micromorfologia de superfície, amostras foram processadas no Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Rio Claro, SP, segundo a técnica descrita por Robards (1978), com modificações devido às características do material. As folhas foram fixadas em FAA 50 (Johansen 1940) e desidratadas em série acetônica. As amostras foram secas em ponto crítico, utilizando-se CO<sub>2</sub> como líquido de transição. Em seguida, foram fixadas com

grafite sobre suporte de alumínio e recobertas com carbono e ouro para visualização em microscópio eletrônico de varredura.

A terminologia adotada para a descrição das folhas foi baseada nas obras de Radford *et al.* (1974) e Leaf Architecture Working Group (1999) para a morfologia, Wilkinson (1979) e Barthlott *et al.* (1998) para a micromorfologia da superfície.

### 3. Resultados

No cerrado, *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* são encontradas nas áreas sombreadas. As folhas de ambas as espécies são microfilas simples, opostas, elípticas, de consistência membranácea e de coloração verde escura. O ápice da lâmina de *P. hoffmannseggiana* é acuminado, base decurrente e em *P. trichophora* o ápice é acuminado com base convexa (figuras 1-2). O padrão de venação em ambas as espécies é do tipo pinado, broquidródomo, caracterizado pela união das nervuras secundárias formando arcos próximos à margem. A nervura central é proeminente em ambas as faces, tornando-se afilada em direção ao ápice. As nervuras secundárias são alternadas, ascendentes e levemente curvadas. A venação terciária é reticulada regular poligonal. A venação marginal é fimbriada (figuras 1-2).

*P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* apresentam estípulas interpeciolares, concrecidas na base e ápice bífido (figuras 3, 5). Nas duas espécies as estípulas são persistentes. Em *P. trichophora* foi observada a presença de uma bainha delgada e translúcida recobrindo o caule na região das estípulas e acima da inserção dos pecíolos (figura 4), em *P. hoffmannseggiana* essa estrutura é ausente (figura 6).

O pecíolo das duas espécies em questão é circular (figuras 7, 9). A epiderme é unisseriada composta por células isodiamétricas com cutícula espessa. Tricomas tectores unisseriados e pluricelulares são encontrados em *P. trichophora*. O sistema vascular de *P. hoffmannseggiana* é composto por um feixe vascular central colateral na

forma de arco e dois feixes colaterais menores posicionados lateralmente (figura 7). O feixe central de *P. trichophora* possui as extremidades ligeiramente curvadas e, é acompanhado por dois feixes colaterais menores posicionados nas laterais (figuras 9-10).

A região periférica do córtex no pecíolo é constituída de colênquima anelar e a interna formada por células parenquimáticas (figuras 7-10). Junto ao floema as células parenquimáticas são menores que as das outras regiões e possuem paredes espessadas em *P. trichophora* (figura 10). Em *P. hoffmannseggiana* camadas de fibras lignificadas envolvem o feixe central (figura 8).

A cutícula da lâmina foliar de *P. hoffmannseggiana* é estriada e coberta por cera epicuticular lisa em ambas as faces da folha (figuras 11, 13, 16). Na face adaxial de *P. trichophora*, a cera é encontrada em forma de crosta, o que dificultou a visualização da cutícula (figura 18). Na face abaxial a cera e a cutículas são lisas (figura 21).

Em vista frontal, as células epidérmicas de ambas as faces da folha de *P. trichophora* (figuras 21, 24, 25) e da face abaxial de *P. hoffmannseggiana* apresentam formato irregular com paredes sinuosas (figuras 14-16, 23), na face adaxial de *P. hoffmannseggiana* as células são poligonais (figuras 11-13, 22). Em secção transversal, a epiderme é unisseriada e as células possuem paredes anticlinais levemente sinuosas nas duas espécies (figuras 27, 29). A parede periclinal externa das células da epiderme adaxial de *P. hoffmannseggiana* é papilosa (figuras 11-13, 26-27). Tricomas tectores unisseriados e pluricelulares ocorrem em ambas as faces da folha de *P. trichophora* (figuras 17, 19, 20) e ao longo da nervura central da folha de *P. hoffmannseggiana* (figuras 12, 14). Na lâmina de *P. hoffmannseggiana*, ocorrem tricomas unicelulares cônicos (figuras 11, 13).

As folhas das duas espécies são hipoestomáticas, com estômatos do tipo paracítico (figuras 15-16, 21, 23, 25) situados no mesmo nível das demais células epidérmicas (figura 27). As células anexas possuem tamanhos diferentes entre si (figuras 23, 25).

O mesofilo, em ambas as espécies é dorsiventral e está representado por uma camada de parênquima paliçádico e de três a quatro camadas de parênquima lacunoso com grandes espaços intercelulares (figuras 27, 30). Feixes colaterais de tamanhos variados são encontrados imersos no mesofilo ao longo da lâmina foliar.

O bordo foliar apresenta-se ligeiramente fletido em direção a face abaxial. A organização dos tecidos reflete a do mesofilo em *P. trichophora* (figura 31), e em *P. hoffmannseggiana* é composto por parênquima aclorofilado (figura 28).

A face adaxial da nervura central possui formato convexo em *P. hoffmannseggiana* e apresenta projeções em toda a sua extensão (figura 26). Em *P. trichophora* a face adaxial é côncava (figura 29). A região cortical em ambas as espécies é formada por colênquima anelar, seguido por células colapsadas e células parenquimáticas intactas (figuras 26, 29). Em *P. trichophora* o parênquima paliçádico é descontínuo nessa região (figura 29). O sistema vascular da nervura central de *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* apresenta-se constituído de um feixe vascular colateral central em forma de arco e um feixe vascular colateral menor disposto lateralmente, denominado acessório (figuras 26, 29). Em *P. trichophora* as extremidades do feixe vascular principal são levemente curvadas (figura 29). Camadas de fibras lignificadas envolvem os feixes vasculares principais, quase que totalmente, nas duas espécies (figuras 26, 29).

Idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio aparecem em forma de ráfides, estilóides e prismáticos, sendo comuns no pecíolo, na nervura central e no mesofilo foliar em ambas as espécies (figuras 27, 30).

#### 4. Discussão

A maioria das Rubiaceae apresenta folhas de formato mais ou menos elíptico com base cuneada e ápice agudo (Robbrecht 1988). As folhas das espécies estudadas são elípticas, com o ápice acuminado, sendo a base foliar de *P. hoffmannseggiana* decurrente e a de *P. trichophora* convexa. Apesar da macrofilia ser uma característica predominante nas Rubiaceae (Robbrecht 1988), alguns taxa apresentam folhas microfilas, assim como as espécies descritas nesse trabalho.

Segundo Robbrecht (1988), o padrão de venação mais comum em Rubiaceae é o broquidódromo. Esta característica foi observada em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* e em outras espécies estudadas de *Psychotria* como: *P. nuda*, *P. leiocarpa* (Vieira *et al.* 1992); *P. tenuinervis*, *P. stenocalix* (Gomes *et al.* 1995); *P. carthaginensis* (Arias & Parrado 1996).

A presença de estípulas é uma das principais características vegetativas que distinguem as Rubiaceae das demais Asteridae (Robbrecht 1988). As estípulas, via de regra, são interpeciolares e raramente intrapeciolares. Podem ser livres ou concrecidas, com ápice inteiro, bífido, recortado ou fimbriado (Barroso *et al.* 1986). A condição considerada primitiva para a família é a presença de duas estípulas livres de cada lado do pecíolo (Robbrecht 1988). *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* apresentam estípulas interpeciolares, concrecidas na base com o ápice bífido, características supostamente derivadas em Rubiaceae (Robbrecht 1988).

Uma característica singular ocorre em algumas espécies de Psychotrieae; a presença de uma bainha fina e translúcida recobrindo o caule na região das estípulas



(Robbrecht 1988). Essa estrutura ocorre em algumas espécies de *Psychotria* da América do Sul, incluindo *P. trichophora*.

O sistema vascular do pecíolo é uma característica distintiva bastante usada na taxonomia (Hare 1942). Em Rubiaceae, é sempre composto por um feixe vascular central, acompanhado lateralmente por feixes acessórios (Metcalf & Chalk 1950). Existem variações na forma do feixe vascular central na família. Feixe vascular em forma de círculo foi observado por Nascimento *et al.* (1996) em *Bathysa stipulata*. Feixes em forma de arco foram relatados em: *Diodia radula* (Vieira 1986); *P. nuda*, *P. leicarpa* (Vieira *et al.* 1992); *P. tenuinervis*, *P. stenocalix* (Gomes *et al.* 1995); *Palicourea longepedunculata* (Pereira *et al.* 2003); espécies neotropicais de *Rondeletia* (Kocsis *et al.* 2005) e nas espécies estudadas nesse trabalho (tabela 1). O número de feixes acessórios é inconstante. Em *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora* o feixe vascular central é, invariavelmente acompanhado por dois feixes menores, característica também descrita para *P. nuda*, *P. leicarpa* (Vieira *et al.* 1992) e para *P. stenocalix* (Gomes *et al.* 1995) (tabela 1).

Adjacente ao floema do feixe vascular central do pecíolo de *P. trichophora*, foram observadas células parenquimáticas com paredes espessadas. De acordo com Esau (1974), o colênquima, propriamente dito, ocorre somente na região periférica do caule e da folha. A autora recomenda que o termo parênquima colenquimatoso, seja empregado para células parenquimáticas com paredes espessadas associadas aos tecidos vasculares, devido o desenvolvimento ser diferente do colênquima independente. Outras espécies de Rubiaceae também apresentam essa característica: *P. tenuinervis*, *P. stenocalix* (Gomes *et al.* 1995); *Rondeletia odorata*, *R. saxicola*, *R. alaternoides*, *R. portoricensis*, *R. lindeniana*, *R. monantha* e *R. areolata* (Kocsis *et al.* 2005).

A presença ou ausência de esclerênquima ao redor do feixe vascular principal do pecíolo é uma característica de importância taxonômica em nível específico nas Rubiaceae (Kocsis *et al.* 2005). Em *P. hoffmannseggiana* foram observadas camadas de fibras lignificadas envolvendo o feixe, assim como em *P. leiocarpa* (Vieira *et al.* 1992), *Bathysa stipulata* (Nascimento *et al.* 1996) e em algumas espécies de *Rondeletia* (Kocsis *et al.* 2005) (tabela 1).

Wilkson (1979) afirmou que cera epicuticular pode fornecer informações importantes para a separação de taxa e de variedades. As ornamentações da cutícula também podem ajudar na distinção dos grupos de plantas. A cutícula de *P. hoffmannseggiana* é estriada e impregnada por cera lisa, enquanto que em *P. trichophora* a cera forma crostas na face adaxial e na abaxial é lisa. As características da cera epicuticular das espécies estudadas auxiliam no processo de identificação devido à variação observada.

Para Metcalfe & Chalk (1950), as paredes anticlinais das células epidérmicas podem ser retas ou sinuosas. As células da epiderme de ambas as faces foliares das espécies estudadas apresentam paredes anticlinais sinuosas. As células da face adaxial de *P. hoffmannseggiana* caracterizam-se pela presença de papilas, que também foram encontradas nas células da face abaxial de *P. leiocarpa* (Vieira *et al.* 1992), de *P. tenuinervis* e *P. stenocalix* (Gomes *et al.* 1995) e de *P. carthagenesis* (Arias & Parrado 1996). As papilas constituem o tipo mais simples de tricoma, sendo formadas por uma única célula com parede periclinal externa projetada (Metcalfe & Chalk 1979).

Em contraste com outros grupos de Asteridae, as Rubiaceae possuem tricomas relativamente simples e presentes em menor diversidade (Robbrecht 1988). Segundo Metcalfe & Chalk (1950) os tricomas de Rubiaceae podem ser unicelulares, unisseriados ou raramente peltados. Foram observados tricomas unisseriados e

pluricelulares em *P. trichophora*, *P. hoffmannseggiana*, *Diodia radula* (Vieira 1986), *Tocoyena bullata* (Vieira 1986, 1988) e *Bathysa stipulata* (Nascimento *et al.* 1996). Tricomas unicelulares foram descritos por Kocsis *et al.* (2005) em *Rondeletia* e observados na lâmina de *P. hoffmannseggiana* (tabela 2).

A estrutura dos tricomas pode variar amplamente em grupos maiores ou menores de plantas. Ainda assim, essa característica é bastante utilizada com finalidades taxonômicas (Esau 1974). Verdcourt (1958) examinou o indumento externo de espécies Rubiaceae de todas as tribos, e concluiu, que a estrutura do tricoma é um caráter secundário, salvo algumas exceções. Lorence & Dwyer (1988) afirmaram que o tipo, forma e distribuição dos tricomas são características importantes para a separação dos gêneros.

Estômatos do tipo paracítico ocorrem na face abaxial de *P. hoffmannseggiana* e de *P. trichophora*. Embora outros tipos estomáticos possam ocorrer em Rubiaceae, este tipo é o mais comum (Accorsi 1947, 1948) (tabela 2). A posição do estômato em relação às outras células epidérmicas varia dentro da família. Em *Ladenbergia lambertiana*, os estômatos inserem-se abaixo do nível da epiderme e em *Pagamea coriacea* os estômatos geralmente aos pares, localizam-se em pequenas criptas (Accorsi 1948). Nas espécies estudadas os estômatos estão inseridos no mesmo nível das demais células epidérmicas.

A maioria dos membros de Rubiaceae possui folhas dorsiventrais (Metcalf & Chalk 1950) (tabela 2). O número de camadas do parênquima paliçádico é considerado uma característica importante para a taxonomia do grupo (Metcalf & Chalk 1979). As espécies aqui estudadas apresentam uma camada de parênquima paliçádico. Vale lembrar que, na região da nervura central de *P. trichophora* a camada

paliçada sofre uma interrupção, característica que a diferencia de *P. hoffmannseggiana*.

A forma do sistema vascular está relacionada à dimensão das nervuras foliares. Os feixes em arco, arredondados e planos determinam nervuras pouco proeminentes, enquanto que feixes cilíndricos ou semicirculares determinam nervuras proeminentes (Keating 1984). O sistema vascular de *P. trichophora* e de *P. hoffmannseggiana* é composto por um feixe vascular central em forma de arco acompanhado por um feixe acessório. Assim como em outras espécies de Rubiaceae, as espécies estudadas apresentam camadas de fibras lignificadas envolvendo o feixe central (tabela 3).

É comum a ocorrência de cristais de oxalato de cálcio em todos os órgãos das Rubiaceae (Robbrecht 1988). O primeiro estudo detalhado sobre essa característica foi realizado por Solereder (1893), que examinou a presença e a composição dos cristais em 200 gêneros de Rubiaceae. O autor demonstrou que a distribuição de cristais dos tipos drusa, estilóide e areia, não tem relação com a delimitação de tribos e gêneros da família. Por outro lado, a presença de ráfides está limitada a alguns grupos; Hedyotideae, Hamelieae, Knoxieae, Morindeae, Coussareeae, Psychotrieae, Paederieae, Anthospermae, Spermaceae e Rubieae. As folhas das espécies estudadas apresentaram ráfides, estilóides e cristais prismáticos em todas as regiões da folha (tabela 1).

Existem várias hipóteses a respeito da função dos cristais de oxalato de cálcio nas plantas. Estas funções incluem; regulação de cálcio, proteção, desintoxicação, balanço iônico, sustentação, coleta e reflexão de luz. Entretanto não existem evidências que comprovem a maioria dessas suposições. Recentes estudos sugerem que as funções

de regulação de cálcio, proteção e desintoxicação sejam plausíveis (Franceschi & Nakata 2005).

Compostos fenólicos não foram detectados nas folhas de *P. hoffmannseggiana* e *P. trichophora*, apesar dessas substâncias serem comuns em Rubiaceae e a sua presença ser considerada uma característica com valor taxonômico, segundo Robbrecht (1988).

## 5. Referências bibliográficas

- ACCORSI, W.R. Ocorrência das células anexas dos estômatos na família Rubiaceae. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, v.4, p.421-436, 1947.
- ACCORSI, W.R. Características morfológicas, anatômicas e citológicas da epiderme inferior da folha das Rubiaceae. **Lilloa**, v.16, p.5-59, 1948.
- ARIAS, M.E., PARRADO, M.F. Estudio morfoanatômico de hoja y fruto de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Parodiana**, v.9, n.1-2, p.19-24, 1996.
- BARROS, M.A.A. Ocorrência de domácias na família Rubiaceae. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, v.16, p.331-337, 1959.
- BARROSO, G.M., GUIMARÃES, E.F. ICHASO, C.L.F., COSTA, C.G., PEIXOTO, A.L., LIMA H.C. Rubiaceae. In: **Sistemática de Angiospermas do Brasil**, v.3. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1986.
- BARTHLOTT, W., NEINHUS, C., CUTTER, D.F., DITSCH, F., MEUSEL, I., TEISEN, I., WILHELMI I. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.126, p.237-260, 1998.
- BREMER, B. Combined and separate analyses of morphological and molecular data in the plant family Rubiaceae. **Cladistics**, v.12, p.21-40, 1995.
- BREMER, B., JANSEN, R.K. Comparative restriction site mapping of the chloroplast DNA implies new phylogenetic relationships within the Rubiaceae. **American Journal of Botany**, v.78, p.198-213, 1991.
- ESAU, K. **Anatomia de plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 1974.
- FRANCESCHI, V.R., NAKATA, P.A. Calcium oxalate in plants: formation and function. **Annual Review of Plant Biology**, v.56, p.41-71, 2005.

- GOMES, D.M.S., MANTOVANI, A., VIEIRA, R.C. Anatomia foliar de *Psychotria tenuinervis* Muell. Arg. e *Psychotria stenocalix* Muell. Arg. **Arquivos de Biologia e tecnologia**, v.38, n.1, p.15-33, 1995.
- HARE, C.L. On the taxonomic value of the anatomical structure of the vegetative organs of the dicotyledons. 5. The anatomy of the petiole and its taxonomic value. **Proceedings of the Linnean Society of London**, v.155, p.223-229, 1942.
- JENSEN, W.A. **Botanical Histochemistry: principles and practice**. San Francisco: W. H. Freeman, 1962.
- JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940.
- KEATING, R.C. Leaf histology and its contribution to relationships in the Myrtales. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.71, p.801-823, 1984.
- KOCSIS, M., DARÓK, J., BORHIDI, A. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* species. **Plant Systematics and Evolution**, v.248, p.205-218, 2004.
- KRAUSS, J.E., ARDUIN, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Rio de Janeiro: EDUR, 1997.
- LEAF ARCHITECTURE WORKING GROUP. **Manual of leaf architecture: morphological description and categorization of dicotyledonous and net-veined monocotyledonous Angiosperms**. Washington: Smithsonian Institution, 1999.
- LORENCE, D.H., DWYER, J.D. A revision on *Deppea* (Rubiaceae). **Allertonia**, v.24, n.4, p.389-436, 1988.
- MABBERLEY, D.J. **The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997.

- METCALFE, C.R., CHALK, L. **Anatomy of Dicotyledons: leaves, stems and wood in relation to taxonomy with notes on economics uses**. Oxford: Clarendon Press, 1950.
- NASCIMENTO, M.V.O., GOMES, D.M.S., VIEIRA, P.L.D. Anatomia foliar de *Bathysia stipulata* (Vell.) Presl. (Rubiaceae). **Revista Unimar**, v.18, n.2, p.387-401, 1996.
- NEPOKROEFF, M., BREMER, B., SYTSMA, K.J. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. **Systematic Botany**, v.24, n.1, p.5-27, 1999.
- NUNES, E.C.M., MARIATH, J.E.A., OLIVEIRA, P.L. Morfologia e anatomia da folha de espécies da secção III (sensu Ehrendorfer) do gênero *Relbunium* (Rubiaceae - Rubiaceae). **Iheringia**, v.44, p.113-149, 1994.
- O'BRIEN, T.P., FEDER, N., McCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v.59, p.368-73, 1964.
- PEREIRA, Z.V., MEIRA, R.M.S.A., AZEVEDO, A.A. Morfoanatomia de *Palicourea longepedunculata* Gardiner (Rubiaceae). **Revista Árvore**, v.27, n.6, p.759-767, 2003.
- RADFORD, A.E., DICKISON, C.W., MASSEY, G.R., BELL, C.R. **Vascular plant systematics**. New York: Harper and Row, 1974.
- ROBARDS, A.W. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In **Electron microscopy and cytochemistry of plant cells** (HALL J.L. ed.), New York: Elsevier, 1978.
- ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Belgica**, v.1, p.1-271, 1988.



SASS, J.E. **Botanical Microtechnique**. 3.ed. Iowa: State Press, 1951.

SOLEREDER, H. Ein Beitrag zur anatomischen Charakteristik und zur Systematik der Rubiaceen. **Bull. Herb. Bossier**, v.1, p.167-183, 1893.

SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the Dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 1908.

TAYLOR, C.M. Rubiaceae. In: **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo** (MELHEM, T.S., WANDERLEY, M.G.L., MARTINS, S.E., JUNG-MENDAÇOLLI, S.L., SHEPHERD, G.J., KIRIZAWA, M. eds.). São Paulo: Fapesp, 2007.

VERDCOURT, B. Remarks on the classification of Rubiaceae. **Bulletin du Jardin Botanique de l'Etat a Bruxelles**, v.28, p.209-281, 1958.

VIEIRA, R.C. *Diodia radula* (Willd. Et Hoffm.) Cham. Et Schlecht. (Rubiaceae). Anatomia foliar. **Revista Brasileira de Biologia**, v.46, n.3, p.667-674, 1986.

VIEIRA, R.C. *Tocoyena bullata* (Vell.) Mart. (Rubiaceae). Anatomia foliar. **Rodriguésia**, v.64/66, n.38-40, p.33-39, 1986/1988.

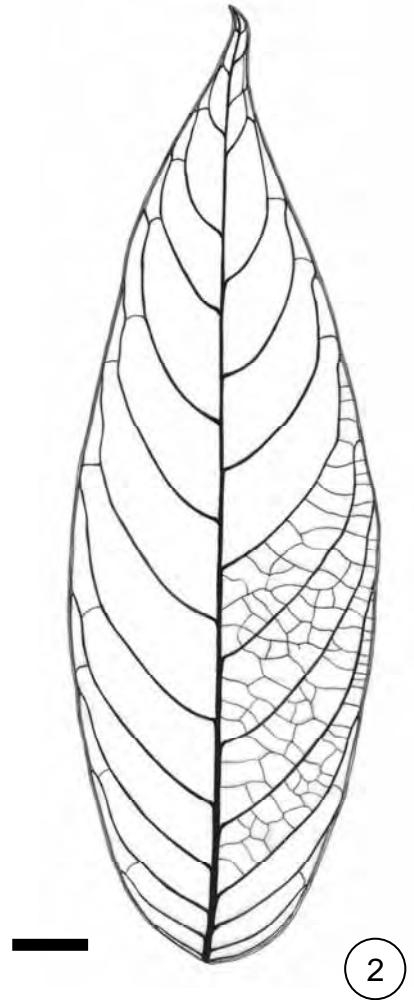
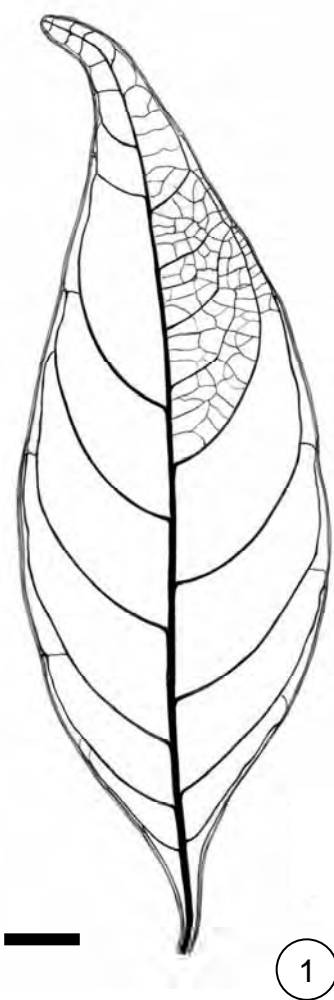
VIEIRA, R.C., GOMES, D.M.S., FERRAZ, C.L.A. Anatomia foliar de *Psychotria nuda* Wawra e *Psychotria leiocarpa* Mart. (Rubiaceae). **Hoehnea**, v.19, n.1/2, p.185-195, 1992.

WILKINSON, H.P. The plant surface (mainly leaf). In: Anatomy of the dicotyledons. (METCALFE, C.R., CHALK, L. eds.), Oxford: New York Clarendon Press p.97-165, 1979.

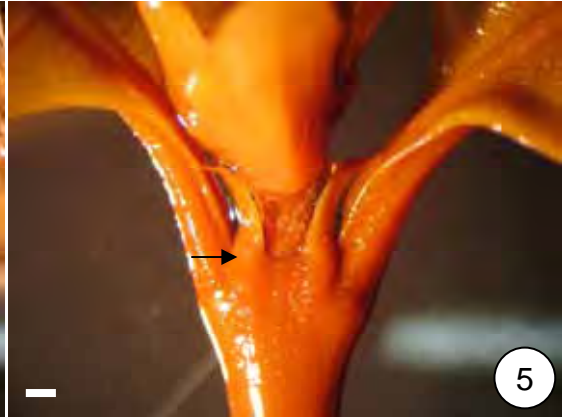
## **Ilustrações**

Figuras 1-2. 1. Padrão geral da venação foliar de *Psychotria hoffmannseggiana*. 2.

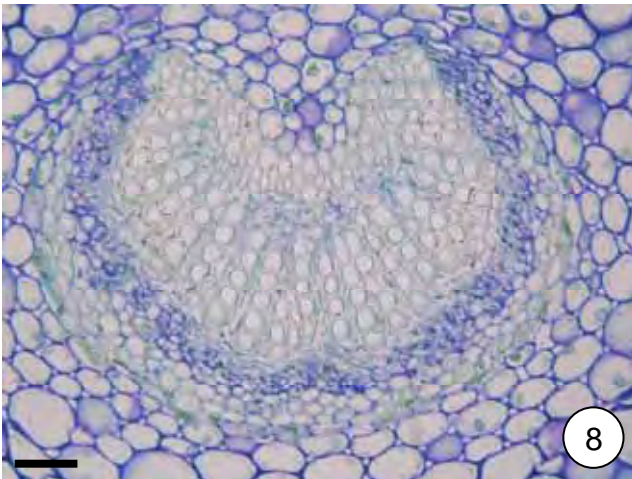
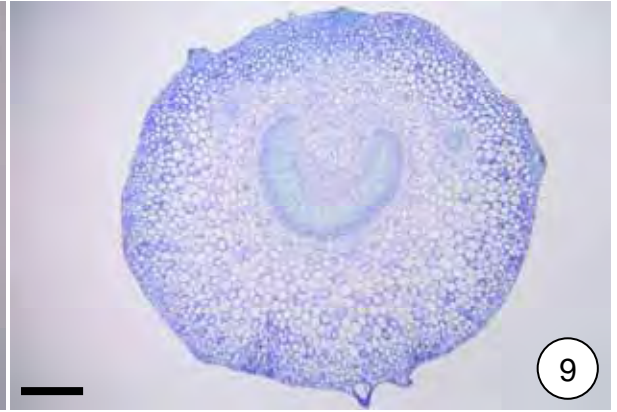
Padrão geral de venação foliar de *Psychotria trichophora*. Barras de escala = 5 mm.



Figuras 3-6. 3-4. *Psychotria trichophora*. 3. Estípula interpeciolar (seta). 4. Região intrapeciolar, mostrando a presença de uma bainha translúcida (seta). 5-6. *Psychotria hoffmannseggiana*. 5. Estípula interpeciolar (seta). 6. Região intrapeciolar, mostrando a ausência de bainha. Barras de escala = 3 mm (1), 1 mm (2-4).

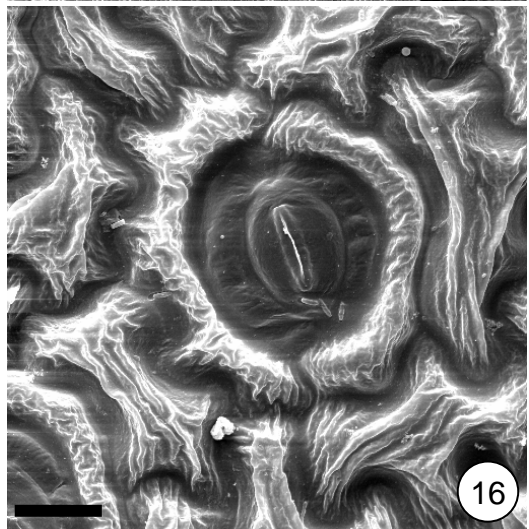
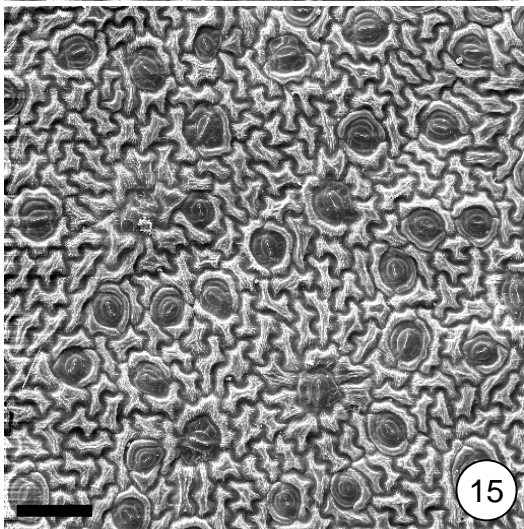
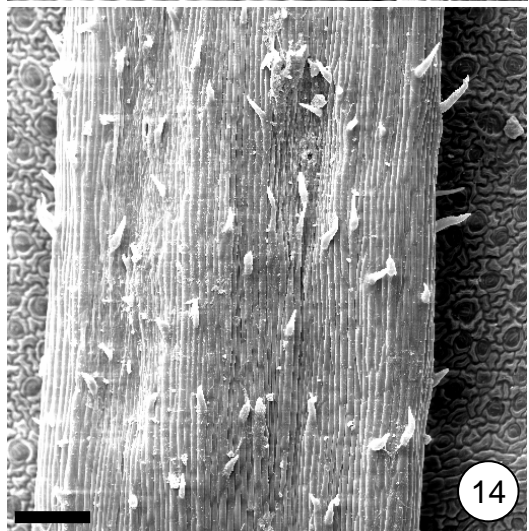
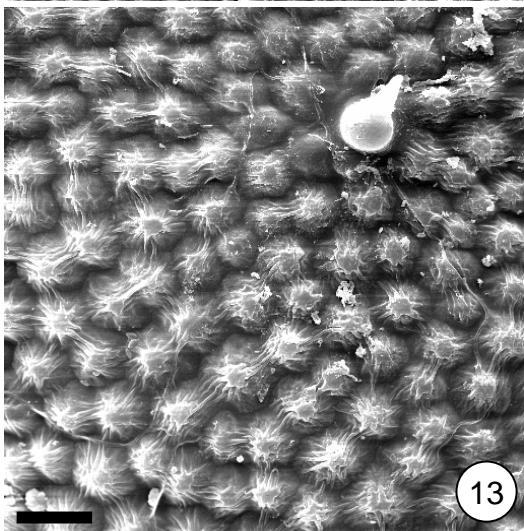
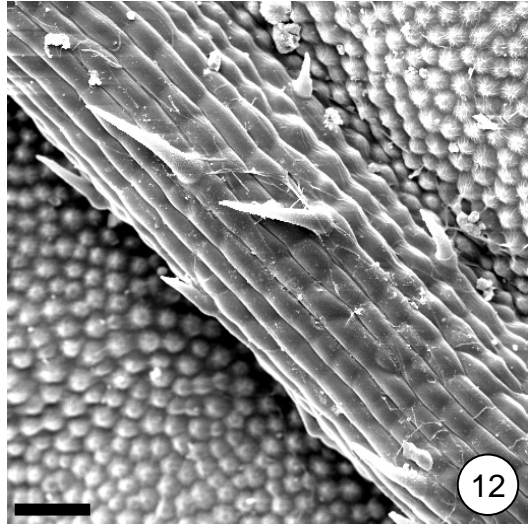
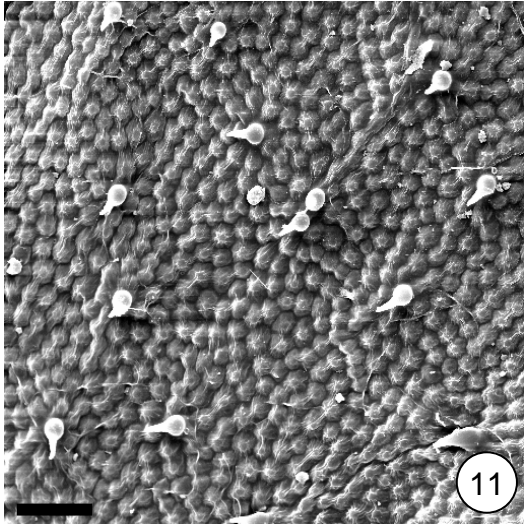


Figuras 7-10. 7-8. *Psychotria hoffmannseggiana* (secções transversais). 7. Pecíolo, mostrando feixes laterais (seta). 8. Feixe vascular central do pecíolo. 9-10. *Psychotria trichophora* (secções transversais). 9. Pecíolo. 10. Feixe vascular central do pecíolo e feixes laterais. Barras de escala = 100µm (7, 9), 25 µm (8, 10).





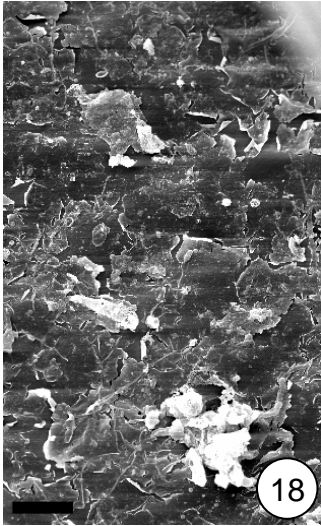
Figuras 11-16. Superfície foliar de *Psychotria hoffmannseggiana*. 11. Face adaxial, mostrando tricomas unicelulares cônicos. 12. Face adaxial, evidenciando a nervura central. 13. Face adaxial, destacando cutícula estriada. 14. Nervura central na face abaxial. 15. Face abaxial. 16. Detalhe do estômato. Barras de escala = 50  $\mu\text{m}$  (14), 25  $\mu\text{m}$  (11, 12, 15), 10  $\mu\text{m}$  (13), 5  $\mu\text{m}$  (16).



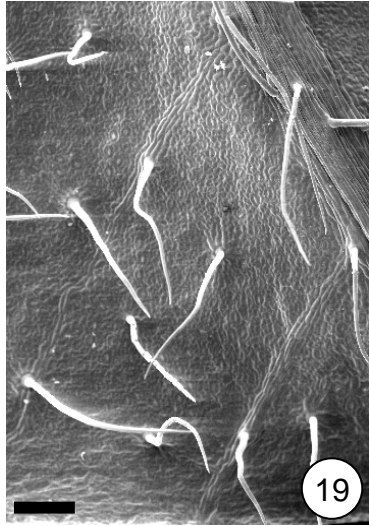
Figuras 17-21. Superfície foliar de *Psychotria trichophora*. 17. Face adaxial, mostrando tricomas pluricelulares. 18. Face adaxial, evidenciando cera epicuticular em crosta. 19. Face abaxial com tricomas pluricelulares. 20. Nervura central na face abaxial com tricomas. 21. Face abaxial, destacando estômatos. Barras de escala = 200  $\mu\text{m}$  (19, 20), 20  $\mu\text{m}$  (17, 18, 21).



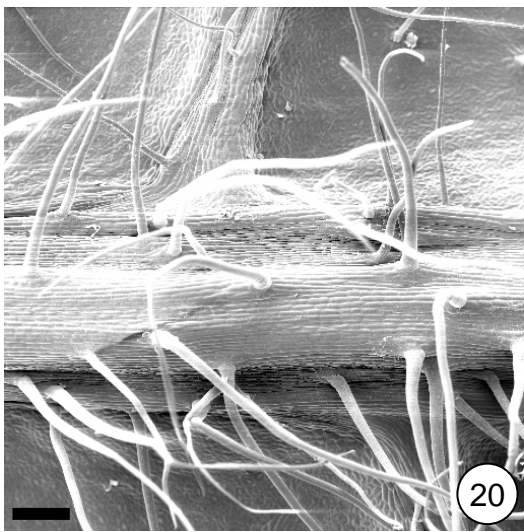
17



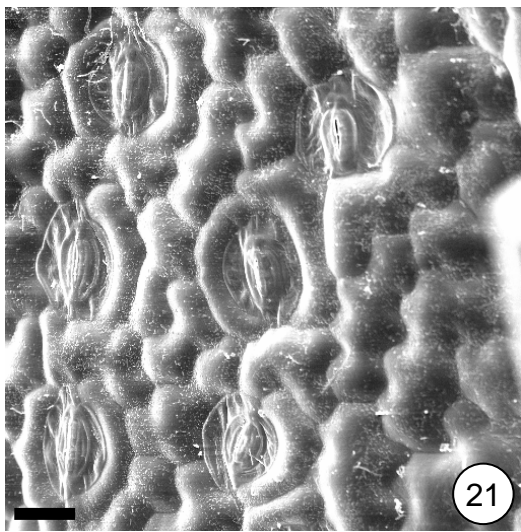
18



19

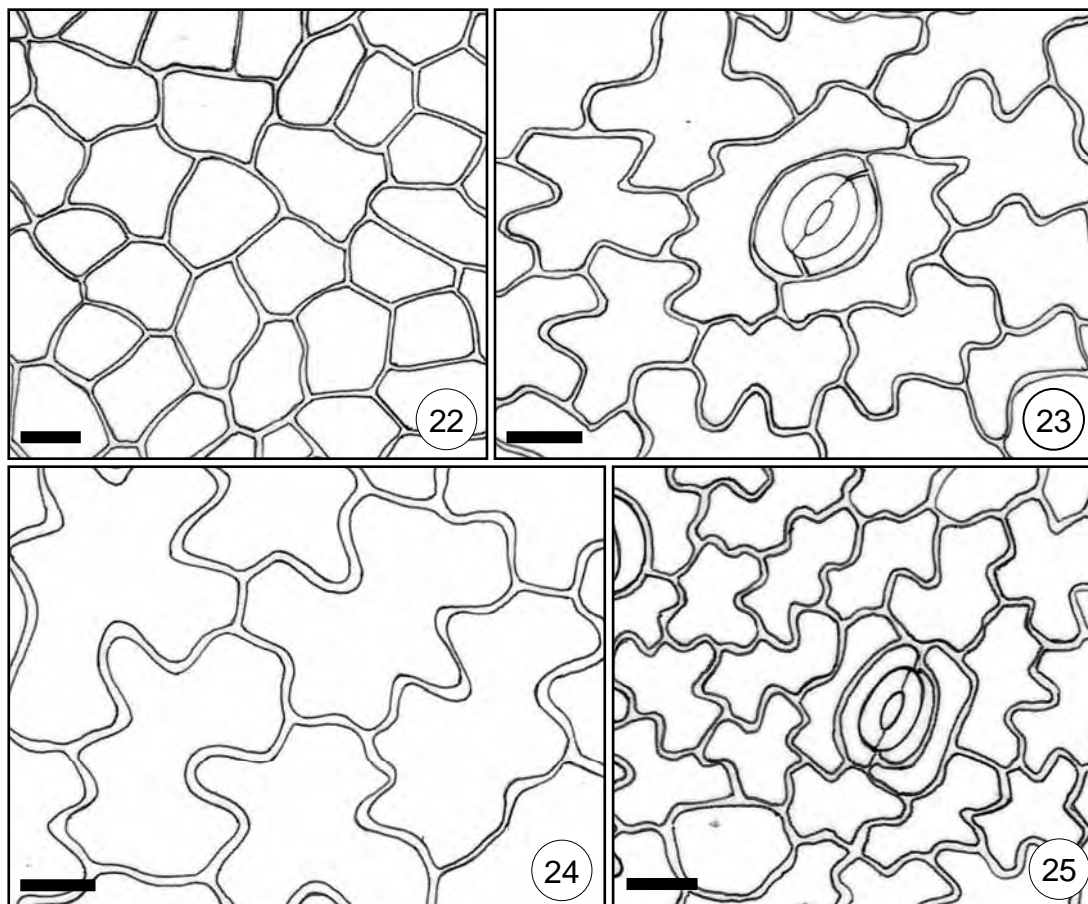


20



21

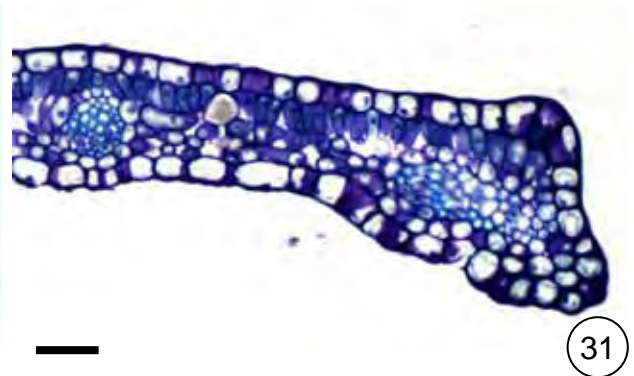
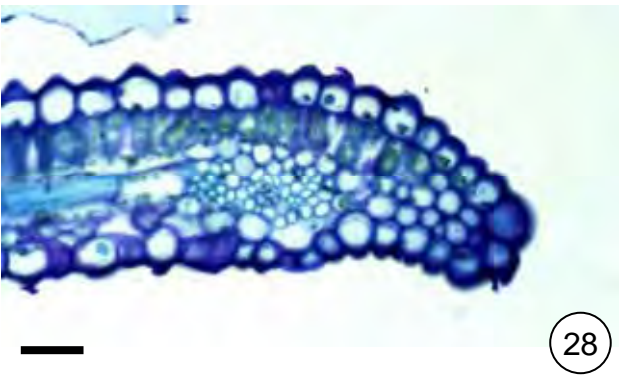
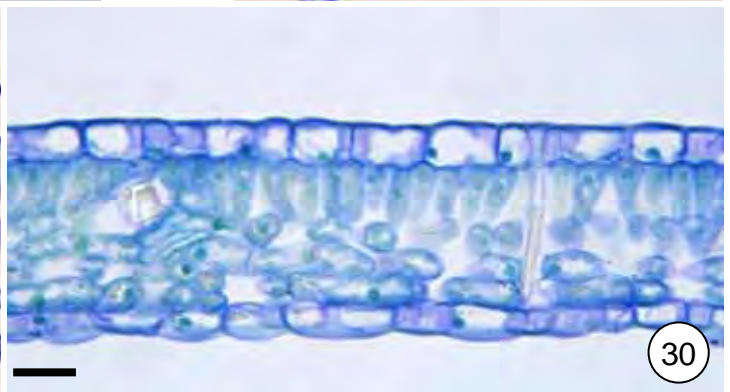
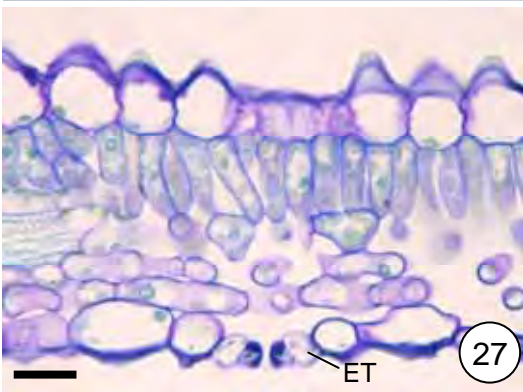
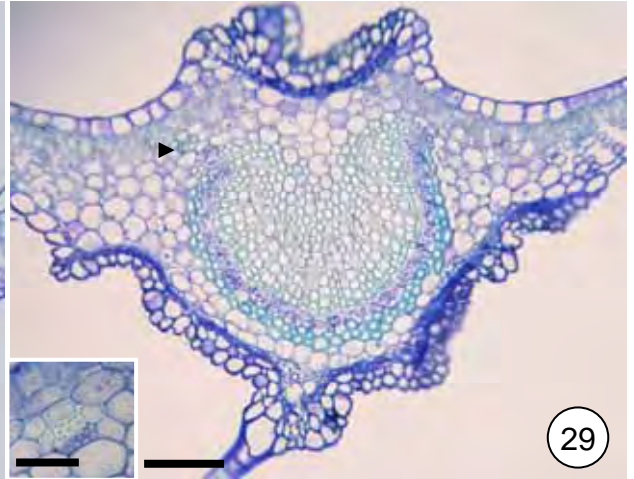
Figuras 22-25. 22-23. *Psychotria hoffmannseggiana*. 22. Epiderme adaxial. 23. Epiderme abaxial, mostrando estômato paracítico. 24-25. *Psychotria trichophora*. 24. Epiderme adaxial. 25. Epiderme abaxial, presença de estômato paracítico. Barras de escala = 100  $\mu\text{m}$  (22-23, 25), 25  $\mu\text{m}$  (24).



Figuras 26-31. 26-28. *Psychotria hoffmannseggiana* (secções transversais). 26. Nervura central (seta aponta feixe acessório). 27. Lâmina foliar. 28. Bordo foliar. 29-31.

*Psychotria trichophora* (secções transversais). 29. Nervura central, em detalhe o feixe acessório (seta e quadrado no canto esquerdo). 30. Lâmina foliar. 31. Bordo foliar.

Barras de escala = 100 $\mu$ m (26, 29), 40  $\mu$ m (28, 31), 25 $\mu$ m (27, 30, e detalhe da figura 28).





**Tabela 1.** Características anatômicas encontradas no pecíolo das espécies estudadas em comparação com outras Rubiaceae. (+ = presença; - = ausência; ? = sem informação na literatura; ab = face abaxial; ad = face adaxial; EC = extremidades curvadas)

Espécies	Forma	Epiderme		Córteç	Sistema vascular			Cristais
		Tricoma	Forma das células		Forma	Feixes acessórios	Bainha de fibras	
<b>RUBIOIDEAE</b>								
<b>Psychotriaceae</b>								
<i>Psychotria hoffmannseggiana</i>	circular	unisseriado pluricelular	isodiamétrica	anelar	arco	2	+	ráfide, estilóide e prismático
<i>Psychotria trichophora</i>	circular	-	isodiamétrica	anelar	arco - EC	2	-	ráfide, estilóide e prismático
<i>Psychotria leiocarpa</i> *3	côncavo(ad)/convexo(ab)	-	?	angular	arco	2	+	-
<i>Psychotria nuda</i> *3	plano(ad)/convexo(ab)	-	?	angular	arco - EC	2	ab	-
<i>Psychotria stenocalix</i> *5	circular	-	?	angular	arco	2	-	ráfide e prismático
<i>Psychotria tenuinervis</i> *5	circular	-	?	angular	arco	-	-	ráfide e prismático
<i>Palicourea longepedunculata</i> *7	circular	unicelular	?	angular	arco	2	-	?
<b>Spermacoceae</b>								
<i>Diodia radula</i> *1	côncavo(ad)/convexo(ab)	unisseriado uni /pluricelular	?	angular	arco	6	-	ráfide e drusa
<b>CINCHONOIDEAE</b>								
<b>Rondeletiaceae</b>								
<i>Bathysa stipulata</i> *6	circular	-	?	angular	circular	6 a 9	+	areia cristalina
<i>Rondeletia odorata</i> *8	semicilíndrico	unisseriado uni /pluricelular	isodiamétrica	-	arco	2	+	areia cristalina
<i>Rondeletia saxicola</i> *8	circular	unisseriado uni /pluricelular	isodiamétrica	-	arco	-	+	areia cristalina
<i>Rondeletia nipensis</i> *8	ovado	unisseriado uni /pluricelular	isodiamétrica	-	arco	2	-	areia cristalina
<i>Rondeletia alaternoides</i> *8	sulcado	-	retangular	-	arco	-	+	areia cristalina
<i>Rondeletia flilsepala</i> *8	semicilíndrico	-	isodiamétrica	-	arco	2	-	areia cristalina
<i>Rondeletia portoricensis</i> *8	irregular	unisseriado uni /pluricelular	isodiamétrica	-	arco	2	+	areia cristalina

<i>Rondeletia lindeniiana</i> *8	ovado	unisseriado uni /pluricelular	isodiamétrica	-	arco	2	+	areia cristalina
<i>Rondeletia monantha</i> *8	semicilíndrico	unisseriado uni /pluricelular	isodiamétrica	-	arco	4	+	areia cristalina
<i>Rondeletia areolata</i> *8	sulcado	unisseriado uni /pluricelular	isodiamétrica	-	arco	2	+	areia cristalina
<i>Rondeletia apiculata</i> *8	circular	unisseriado uni /pluricelular	isodiamétrica	-	arco	2	-	areia cristalina
<b>IXOROIDEAE</b>								
<b>Gardeniinae</b>								
<i>Tocoyena bullata</i> *2	circular	-	?	angular	arco -EC	2/3/4	+	drusa

\*1 Vieira (1986); \*2 Vieira (1986/88); \*3 Vieira et al. (1992); \*5 Gomes et al. (1995); \*6 Nascimento et al. (1996); \*7 Pereira et al. (2003); \*8 Kocsis et al. (2005).

**Tabela 2.** Características anatômicas encontradas na lâmina foliar das espécies estudadas em comparação com outras Rubiaceae. (\* = nível dos estômatos em relação às células epidérmicas; + = presença; - = ausência; ? = sem informação na literatura; ab = face abaxial; ad = face adaxial)

Espécies	Epiderme						Mesofilo		Bordo		Cristais
	Tricoma	Número de camadas	Papila	Estômato			Organização	Composição	Face		
				Tipo	Nível*	Face					
<b>RUBIOIDEAE</b>											
<b>Psychotriaceae</b>											
<i>Psychotria hoffmannseggiana</i>	unicelular cônico/ unisseriado pluricelular	unisseriada	ab	paracítico	mesmo	ab	dorsiventral	parênquima acolorofilado			ráfide, estilóide e prismático
<i>Psychotria trichophora</i>	unisseriado pluricelular	unisseriada	-	paracítico	mesmo	ab	dorsiventral	mesofiliana			ráfide, estilóide e prismático
<i>Psychotria leiocarpa</i> *3	-	unisseriada	ab	paralelocítico	mesmo	ab	dorsiventral	mesofiliana			ráfide, estilóide e prismático
<i>Psychotria nuda</i> *3	-	ocasionalmente bisseriada	ab	paralelocítico	mesmo	ab	dorsiventral	colênquima			ráfide, estilóide e prismático
<i>Psychotria stenocalix</i> *5	-	ocasionalmente bisseriada	ab	paracítico/ paralelocítico	mesmo	ab	dorsiventral	colênquima			ráfide, estilóide e prismático
<i>Psychotria tenuinervis</i> *5	-	ocasionalmente bisseriada	ab	paracítico/ paralelocítico	mesmo	ab	dorsiventral	colênquima			ráfide, estilóide e prismático
<i>Palicourea longepedunculata</i> *7	-	unisseriada	ad/ab	paracítico	mesmo	ab	dorsiventral	Colênquima			ráfide
<b>Spermacoceae</b>											
<i>Diodia radula</i> *1	unisseriado uni/pluricelular	unisseriada	ao redor dos tricomas	paracítico	?	ad/ab	dorsiventral	mesofiliana			drusa
<b>Rubieae</b>											
<i>Relbunium mazocarpum</i> *4	-	unisseriada	ad	paracítico/ paralelocítico	mesmo/ acima	ab	dorsiventral	?			ráfide
<i>Relbunium humile</i> *4	-	uniestratificada	ad	paracítico/ paralelocítico	mesmo/ acima	ab	dorsiventral	?			ráfide
<i>Relbunium catarinense</i> *4	-	uniestratificada	ad	paracítico/ paralelocítico	mesmo	ab	dorsiventral	?			ráfide
<b>CINCHONOIDEAE</b>											
<b>Rondeletieae</b>											
<i>Bathysa stipulata</i> *6	unisseriado pluricelular	unisseriada	-	paracítico/ paralelocítico	mesmo	ab	dorsiventral	parênquima acolorofilado			-

<i>Rondeletia odorata</i> *8	unicelular	unisseriada	-	paracítico/ hemiparacítico	?	ab	dorsiventral	?	areia cristalina
<i>Rondeletia saxicola</i> *8	-	unisseriada	-	anomocítico	?	ab	dorsiventral	?	areia cristalina
<i>Rondeletia nipensis</i> *8	unicelular	unisseriada	-	paracítico/ anisoparacítico	?	ab	dorsiventral	?	areia cristalina
<i>Rondeletia alaternoides</i> *8	-	unisseriada	-	anisoparacítico	?	ab	dorsiventral	?	areia cristalina
<i>Rondeletia filisepala</i> *8	-	unisseriada	-	paracítico/ anisoparacítico	?	ab	dorsiventral	?	areia cristalina
<i>Rondeletia portoricensis</i> *8	unicelular	unisseriada	-	paracítico	?	ab	dorsiventral	?	areia cristalina
<i>Rondeletia lindeniiana</i> *8	unicelular	unisseriada	-	anomocítico/ anisoparacítico/ hemiparacítico	?	ab	dorsiventral	?	areia cristalina
<i>Rondeletia monantha</i> *8	-	unisseriada	-	paracítico/ anisoparacítico	?	ab	dorsiventral	?	areia cristalina
<i>Rondeletia areolata</i> *8	unicelular	unisseriada	-	anomocítico/ hemiparacítico	?	ab	dorsiventral	?	areia cristalina
<i>Rondeletia apiculata</i> *8	unicelular	unisseriada	-	não visível	?	ab	dorsiventral	?	areia cristalina
<b>IXOROIDEAE</b>									
<b>Gardeniinae</b>									
<i>Tocoyena bullata</i> *2	unisseriado uni /pluricelular	unisseriada	-	paracítico	?	ab	dorsiventral	parênquima aclorofilado	drusa

\*1 Vieira (1986); \*2 Vieira (1986/88); \*3 Vieira et al. (1992); \*4 Nunes et al. (1994); \*5 Gomes et al. (1995); \*6 Nascimento et al. (1996); \*7 Pereira et al. (2003); \*8 Kocsis et al. (2005).

**Tabela 3.** Características anatômicas encontradas na nervura central das espécies estudadas em comparação com outras Rubiaceae. (+ = presença; - = ausência; ? = sem informação na literatura; ab = face abaxial; ad = face adaxial).

Espécies	Face adaxial		Projeções	Córtex		Sistema Vascular		
	Forma	Parênquima paliçádico		Colênquima	Células colapsadas	Forma	Feixes acessórios	Bainha de fibras
<b>RUBIOIDEAE</b>								
<b>Psychotriaceae</b>								
<i>Psychotria hoffmannseggiana</i>	côncava	+	+	anelar	+	arco	1	+
<i>Psychotria trichophora</i>	convexa	+	-	anelar	+	arco	1	+
<i>Psychotria leiocarpa</i> *3	convexa	?	-	angular	-	arco	-	+
<i>Psychotria nuda</i> *3	convexa	?	-	angular	-	arco	4	+
<i>Psychotria stenocalix</i> *5	convexa	+	-	angular	-	arco	-	+
<i>Psychotria tenuinervis</i> *5	plana	-	-	angular	-	arco	-	ab
<i>Palicourea longepedunculata</i> *7	convexa	?	-	angular	-	arco	-	ab
<b>Spermacoceae</b>								
<i>Diodia radula</i> *1	côncava	?	-	angular	-	arco	-	-
<b>Rubieae</b>								
<i>Relbunium mazocarpum</i> *4	?	?	?	angular	?	?	?	-
<i>Relbunium humile</i> *4	?	?	?	-	?	?	?	-
<i>Relbunium catarinense</i> *4	?	?	?	angular	?	?	?	-
<b>CINCHONOIDEAE</b>								
<b>Rondeletieae</b>								
<i>Bathysa stipulata</i> *6	plana	?	-	angular	-	círculo	4/5	ab
<i>Rondeletia odorata</i> *8	?	?	?	?	-	arco	?	+
<i>Rondeletia saxicola</i> *8	?	?	?	?	-	arco	?	+
<i>Rondeletia nipensis</i> *8	?	?	?	?	-	arco	?	-
<i>Rondeletia alaternoides</i> *8	?	?	?	?	-	arco	?	+
<i>Rondeletia filisepala</i> *8	?	?	?	?	-	arco	?	+
<i>Rondeletia portoricensis</i> *8	?	?	?	?	-	arco	?	+
<i>Rondeletia lindentiana</i> *8	?	?	?	?	-	arco	?	+
<i>Rondeletia monantha</i> *8	?	?	?	?	-	arco	?	+
<i>Rondeletia areolata</i> *8	?	?	?	?	-	arco	?	+
<i>Rondeletia apiculata</i> *8	?	?	?	?	-	arco	?	-

\*1 Vieira (1986); \*2 Vieira (1986/88); \*3 Vieira et al. (1992); \*5 Gomes et al. (1995); \*6 Nascimento et al. (1996); \*7 Pereira et al. (2003); \*8 Kocsis et al. (2005).

### **CAPÍTULO III**

**Morfologia das plântulas de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. (Rubioideae, Rubiaceae)**

**Resumo:** O presente trabalho teve por objetivo descrever e ilustrar as características morfológicas das plântulas de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. O início da germinação de *Psychotria hoffmannseggiana* ocorreu cerca de oitenta e oito dias após a sementeira, com o surgimento da raiz primária. No oitavo dia após a germinação, com o crescimento da raiz, o ápice, a região pilosa e o hipocótilo apresentaram coloração avermelhada. Aos onze dias, observou-se a emissão de raízes secundárias e o início do alongamento do hipocótilo. Após vinte e um dias, os cotilédones foram liberados do envoltório seminal, que permaneceu parcialmente aderido a um deles até o vigésimo oitavo dia. Os cotilédones são foliáceos, verdes, peciolados, ovados, opostos com venação pinada. Foi observada a presença de estípulas entre os pecíolos dos cotilédones. Os eófilos surgiram por volta do vigésimo sexto dia e no trigésimo nono dia apresentavam-se expandidos. Os eófilos são simples, verdes, peciolados, elípticos, opostos com venação pinada. Sessenta e nove dias após a germinação, ocorreu a emissão do primeiro par de metafilos idênticos aos eófilos. A plântula é do tipo fanerocotiledonar-epígea com cotilédones foliares verdes.



**Abstract:** The objectives of this work were to describe and illustrate the morphological characteristics of seedlings of *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. The initial germination of *Psychotria hoffmannseggiana* had occurred approximately on the eighty-eighth day after sowing, when the primary root did appear. On the eighth day after germination, along with the root growth, the apex, pilose region and hypocotyl exhibited a reddish colour. By the eleventh day, it was observed the emission of secondary roots and the beginning of the hypocotyl elongation. After twenty-one days, the cotyledons were released from the seminal involucre, which kept partly adherent to one of them until the twenty-eighth day. The cotyledons are leaf-like, green, petiolate, oval, opposite with pinnate venation. The presence of stipule in between the cotyledonary petioles was observed. Eophylls appeared on the twenty-sixth day, approximately; and, by the thirty-ninth day, they were expanded. The eophylls are simple, green, petiolate, elliptic, opposite with pinnate venation. Sixty-nine days after germination the first pair of metaphylls was emitted, being identical to the eophylls. The seedling is phanerocotyledonary-epigeal with green leaf-like cotyledons.

## 1. Introdução

As informações provenientes dos primeiros estádios do ciclo de vida de uma espécie são de grande importância para os diferentes ramos da biologia, como a ecologia, agronomia e taxonomia (Carmello-Gerreiro e Paoli 1999).

No contexto ecológico, as plântulas constituem o potencial de perpetuação da espécie. O conhecimento da composição específica das comunidades de plântulas e, da dinâmica de suas populações pode apontar as perspectivas ecológicas de comunidades vegetais (Parra 1984).

O estudo das plântulas possui relevância também no setor agrônomo, produzindo informações que permitam o reconhecimento tanto de plantas úteis quanto de nocivas para as plantações e para o gado (Parra 1984).

As plântulas são estudadas por dois motivos fundamentais. O primeiro deles é a urgente necessidade da identificação das plântulas em certas regiões e habitats. Conseqüentemente as plântulas são descritas e ilustradas, e chaves de identificação são elaboradas, tanto em regiões temperadas quanto em tropicais. Além disso, os caracteres morfológicos podem apresentar significado ecológico. Em segundo lugar, o estudo das plântulas fornece informações adicionais ao conhecimento sobre o ciclo de vida das plantas (Bokdam 1977).

Laboriau et al. (1963) no estudo sobre ciclos biológicos de plantas típicas de cerrado, ressaltaram a falta de um catálogo sistematizado de plântulas para as regiões tropicais.

Para Rizzini (1965), a morfologia da plântula precisa ser pesquisada visando a melhor compreensão dos processos de germinação e do crescimento das plantas durante a regeneração natural da vegetação e recuperação de áreas degradadas.

Robbrecht (1988) afirmou que pouco se sabe sobre a germinação e morfologia das plântulas de Rubiaceae, e que essas informações podem ser de grande valor para a taxonomia de Rubiaceae.

Rubiaceae engloba cerca de 637 gêneros e aproximadamente 10.700 espécies, classificadas em quatro subfamílias (Cinchonoideae, Ixoroideae, Antirheoideae e Rubioideae) e 44 tribos, essencialmente tropicais (Robbrecht 1988). Segundo Mabberley (1997), a família ocupa o quarto lugar em diversidade entre as Angiospermas, ficando atrás apenas de Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae.

*Psychotria* L. é o gênero maior da família, representado mundialmente por cerca de 1.000 espécies (Taylor 2005). É considerado taxonomicamente complexo devido ao seu tamanho e também a ausência de caracteres morfológicos disponíveis para a definição dos grupos (Nepokroeff et al. 1999).

Nesse trabalho, acompanhou-se o desenvolvimento pós-seminal de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. Ex Roem & Schult.) Müll. Arg., espécie arbustiva encontrada no cerrado do Estado de São Paulo, com o intuito de conhecer os primeiros estádios do desenvolvimento das plântulas, auxiliando o reconhecimento da espécie no campo e fornecendo informações que poderão ser úteis na seleção de espécies para a recuperação de áreas degradadas.

## **2. Material e Métodos**

Para estudos do desenvolvimento pós-seminal, sementes de *Psychotria hoffmannseggiana* (Willd. Ex Roem & Schult.) Müll. Arg. foram coletadas de 10 indivíduos localizados nas áreas de cerrado da Reserva Biológica de Mogi Guaçu, localizada no município de Mogi Guaçu, São Paulo, sob a responsabilidade do Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. Uma amostra de 100 sementes foi colocada para germinar em caixas do tipo ger-box, sobre folhas de

papel filtro umedecidas com água destilada, sendo mantidas em germinador a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ , sob iluminação branca contínua (1000 lux, luz do dia). Foram efetuadas observações diárias, com a finalidade de registrar o início da germinação (determinado pela emergência da raiz primária), o desenvolvimento das plântulas até a formação dos primeiros eófilos. Algumas plântulas em diferentes estádios do desenvolvimento foram fixadas em FAA 50 (Johansen 1940) e conservadas em álcool etílico a 70%.

Para a descrição das fases iniciais do desenvolvimento das plântulas foram confeccionados desenhos com o auxílio de câmara clara acoplada ao microscópio estereoscópico. Para todas as ilustrações, foram adicionadas escalas nas condições ópticas adequadas.

A terminologia adotada para a descrição das plântulas foi a mesma empregada nos trabalhos de Miquel (1987), Duke (1965, 1969) e Leaf Architecture Working Group (1999).

### **3. Resultados**

A germinação é epígea e a plântula é fanerocotiledonar com cotilédones foliares verdes (=epígea-foliácea).

O início da germinação ocorreu cerca de oitenta e oito dias após a sementeira, com o surgimento da raiz primária de coloração branca (figuras 1-2). Por volta do oitavo dia após a germinação, com o crescimento da raiz, o ápice, a região pilosa e o hipocótilo apresentaram coloração avermelhada (figura 3). Aos onze dias, observou-se a emissão de raízes secundárias e o início do alongamento do hipocótilo (figura 4). Após vinte e um dias, os cotilédones foram liberados do envoltório seminal, que permaneceu parcialmente aderido a um deles até o vigésimo oitavo dia (figuras 5-6). Os cotilédones são foliáceos, verdes, peciolados, ovados, opostos e apresentam venação pinada, do tipo broquidródomo (figuras 5-7). Foi observada a presença de

estípulas fundidas na base e com o ápice bífido, entre os pecíolos dos cotilédones (figura 8). Os eofilos surgiram por volta do vigésimo sexto dia (figura 5) e no trigésimo nono dia apresentavam-se expandidos (figuras 8-9). Os eofilos são simples, verdes, peciolados, elípticos, opostos, com venação idêntica a dos cotilédones (figura 9). Sessenta e nove dias após a germinação, ocorreu a emissão do primeiro par de metafilos idênticos aos eofilos (figura 8).

#### **4. Discussão**

O termo plântula permanece até o momento sem uma definição precisa. Por esse motivo, é utilizado com diferentes significados por vários autores.

Para Mensbruge (1966), o termo plântula inclui desde o desenvolvimento do embrião após a germinação até o aparecimento das primeiras folhas.

Hess (1975) considerou plântula, os estádios iniciais da germinação até o aparecimento do sistema fotossintetizante. Entretanto este autor não determinou quais as estruturas formadoras desse sistema.

Para Alexandre (1977), plântula é o resultado da germinação da semente enquanto for dependente das reservas seminais e não apresentar estruturas fotossintetizantes.

Segundo Ferri et al. (1981), plântula é o embrião vegetal que começa a desenvolver-se com a germinação da semente formando uma planta recém nascida. Esta definição não estabelece até que estágio do desenvolvimento, um indivíduo jovem pode ser considerado uma plântula.

Parra (1984) considerou plântula a fase compreendida entre a germinação da semente até o aparecimento do primeiro nomófilo semelhante à folha da planta adulta. Oliveira e Beltrati (1993) demonstraram que em *Inga fagifolia* existe uma sucessão de eofilos transicionais que precedem o metafilo, que só aparece depois de

aproximadamente um ano, quando a planta já apresenta porte considerável. Desse modo, a definição de plântula proposta por Parra (1984) apresenta falhas, já que permite a interpretação de que esteja incluída no conceito, a fase que se formam os eofilos sucessivos até o aparecimento do primeiro metafilo.

Neste trabalho, considerou-se plântula a fase compreendida entre a emissão da raiz primária até a completa expansão do primeiro par de eofilos.

A escolha dos caracteres de classificação gera certa discordância entre os autores. Os primeiros sistemas de classificação foram elaborados para plântulas de regiões temperadas, o que os tornam inadequados para descrever a diversidade morfológica das plântulas de espécies tropicais.

Em 1825, De Candolle fez uma distinção primária com relação ao tipo de cotilédones, classificando-os de foliares ou de reserva.

As primeiras classificações de plântulas foram baseadas em um único critério distintivo: o comprimento do hipocótilo. Guillaumin (1910), definiu dois tipos de plântulas: epígea, quando o hipocótilo é desenvolvido e hipógea, quando possui hipocótilo reduzido. Etimologicamente, hipógea significa semente enterrada: o hipocótilo tem tamanho reduzido, implicando que os cotilédones permaneçam sob o solo e a elevação da plúmula ocorra pelo crescimento do epicótilo e epígea significa semente acima da superfície do solo: o hipocótilo alonga-se, havendo elevação dos cotilédones (Beltrati e Paoli 2003).

Duke (1965) utilizou um novo critério de classificação, a exposição dos cotilédones. As plântulas são denominadas criptocotiledonares quando após a germinação, os cotilédones permanecem encerrados no interior do envoltório da semente e, fanerocotiledonares, quando os cotilédones emergem do envoltório.

Ng (1978) estabeleceu quatro classes de plântulas a partir da combinação das definições tradicionais de Duke (1965): epígea (fanerocotiledonar-epígea), semi-hipógea (fanerocotiledonar-hipógea), hipógea (criptocotiledonar-hipógea) e durio (criptocotiledonar-epígea).

Vogel (1980) propôs uma classificação baseada na morfologia da semente, nas fases de repouso, no desenvolvimento e na filotaxia. O autor considerou alguns casos especiais que não se enquadravam nas classificações anteriores como: plântulas sem cotilédones, plântulas parasitas, viviparidade e plântulas com um só cotilédone emergente. Entretanto essa classificação é pouco viável em trabalhos de campo, já que necessita de observações de longa duração e estudos anatômicos da semente.

Posteriormente, Miquel (1987) utilizou na elaboração de uma nova classificação três características facilmente observadas em campo: exposição dos cotilédones, desenvolvimento do hipocótilo e natureza dos cotilédones (foliares ou carnosos), resultando em cinco tipos morfológicos de plântula: epígea-foliácea (fanerocotiledonar-epígea-cotilédones foliáceos), epígea-carnosa (fanerocotiledonar-epígea-cotilédones carnosos), hipógea (criptocotiledonar-hipógea) e durio (criptocotiledonar-epígea). Atualmente, a classificação proposta pelo autor é considerada a mais completa, por levar em conta tanto as características morfológicas, quanto as funcionais. De acordo com essa classificação, a plântula de *P. hoffmannseggiana* é epígea-foliácea.

As plântulas fanerocotiledonar-epígeas com cotilédones foliáceos geralmente desenvolvem-se a partir de sementes pequenas, e predominam em locais abertos nos trópicos e em regiões temperadas (Duke, 1965; Rizzini, 1965; Vogel, 1980). As plântulas desse tipo tendem a apresentar dois períodos de repouso. O primeiro, no qual os cotilédones permanecem inclusos na testa da semente, e o segundo depois da

expansão dos cotilédones, antes do crescimento do epicótilo; os eofilos são alternos e semelhantes aos metafilos (Vogel, 1980).

Embora as características da raiz não sejam freqüentemente utilizadas na identificação das plântulas, constituem um diagnóstico de valor (Oliveira 1993). A partir do oitavo dia após a germinação, a raiz e o hipocótilo da plântula de *P. hoffmannseggiana* tornaram-se avermelhados.

Durante o crescimento da plântula de *P. hoffmannseggiana*, o hipocótilo alongou-se, elevando assim os cotilédones ainda envoltos no envoltório da semente. Para Oliveira (1993) este é um caráter associado à germinação epígea.

Os cotilédones na fase de embrião apresentam forma e número definidos nas espécies e são usualmente chamados de folhas ou lobos da semente. São caracteres hereditários estáveis e muito úteis nas diagnoses de estudos taxonômicos (Oliveira 1993). Em *P. hoffmannseggiana* os cotilédones são foliáceos (fotossintetizantes), segundo Oliveira (1993), existem ainda outros dois tipos, os armazenadores e os haustoriais.

Os cotilédones foliáceos raramente inserem-se em níveis diferentes do hipocótilo, as dicotiledôneas epígeas geralmente apresentam lâminas opostas (Oliveira 1993), como ocorre em *P. hoffmannseggiana*.

Foi observada a presença de estípulas verdadeiras na base dos cotilédones da espécie estudada, o que parece ser regra somente para as Rubiaceae, porém existem alguns relatos em algumas espécies de Caesalpiniodeae e Mimosoideae (Oliveira 1993). Em *P. hoffmannseggiana* os eofilos e metafilos apresentam estípulas interpeciolares. Robbrecht (1988) considera a presença de estípulas uma das principais características vegetativas que distinguem as Rubiaceae das demais Asteridae.

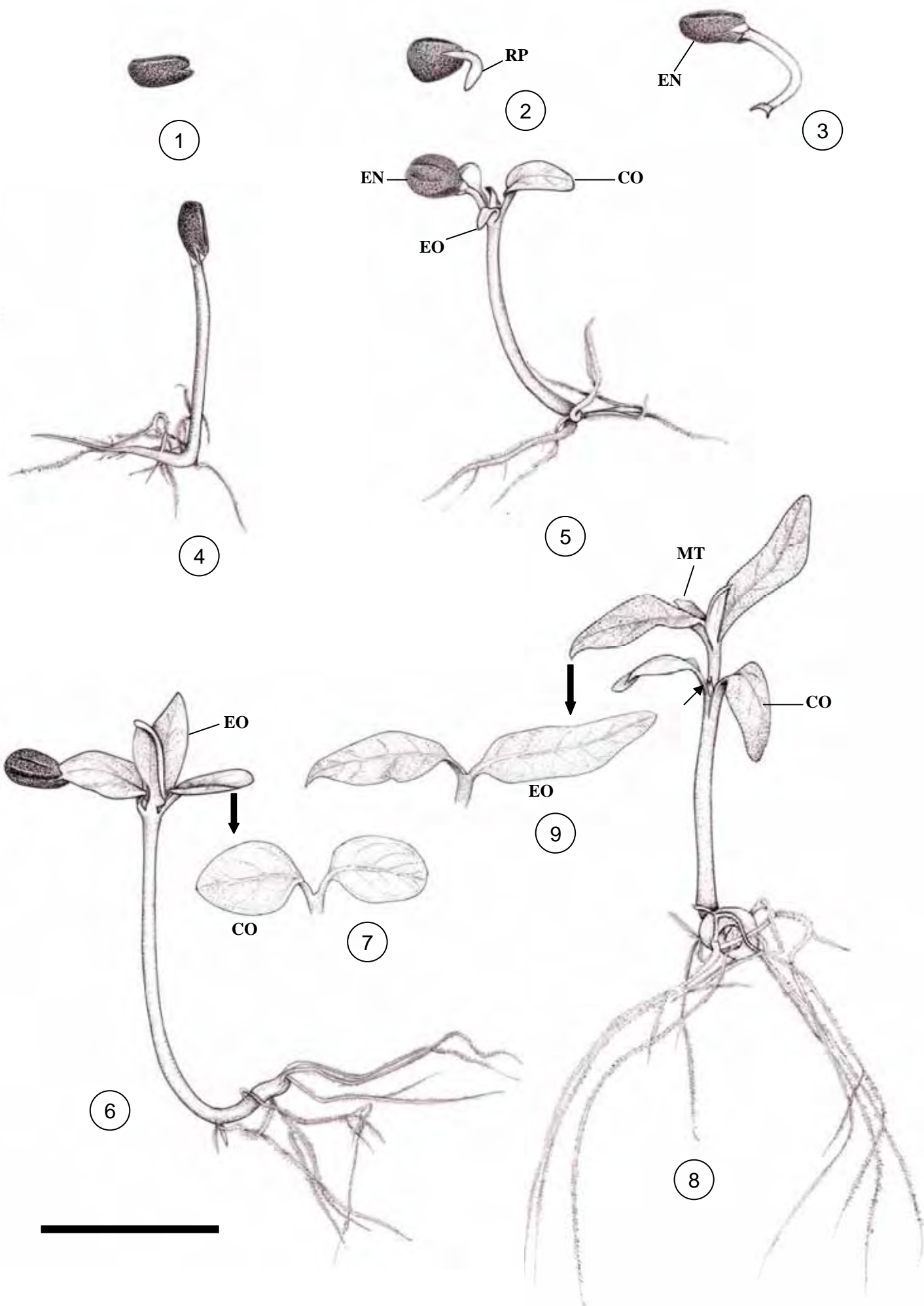


De la Mensbruge (1966) estudou a plântula de treze espécies de Rubiaceae e concluiu que a germinação é sempre epígea-fanerocotiledonar. Os cotilédones são foliáceos e o primeiro par de estípulas é muito semelhante ao da planta adulta. As características encontradas na plântula de *P. hoffmannseggiana*, corroboram essas afirmações.

O desenvolvimento das plântulas de 15 gêneros de Rubiaceae foi acompanhado por Robbrecht (1988), que destacou a veracidade das observações de De la Mensbruge (1966).

Com relação à utilização da espécie em estudos de recuperação de áreas degradadas, tendo em vista a demora para o início da germinação, sugere-se a utilização de mudas já formadas em viveiros experimentais.

Figuras 1-9. 1-7. Desenvolvimento da plântula de *Psychotria hoffmannseggiana*. 1. Abertura do envoltório da semente. 2. Emergência da raiz primária aos oitenta e oito dias após a semeadura. 3. Plântula no oitavo dia após a germinação. 4. Início do alongamento do hipocótilo. 5. Expansão dos cotilédones. 6. Surgimento dos eofilos. 7. Detalhe dos cotilédones, mostrando a venação pinada. 8. Planta jovem após o aparecimento dos metafilos, mostrando a presença de estípula (seta) na base dos cotilédones. 9. Detalhe dos eofilos expandidos, destacando a venação pinada. (CO: cotilédone, EN: envoltório da semente, EO: eofilos, MT: metafilos, RP: raiz primária). Barra de escala = 10 mm.



## 5. Referências bibliográficas

- ALEXANDRE, D.Y. Essai de définition morphologique de la plantule. ORSTOM: Multigraphie, 1977.
- BELTRATI, C.M., PAOLI, A.A.S. Semente. In: APEZZATO-DA-GLÓRIA, B., CARMELLO-GERREIRO, S.M. (Eds). **Anatomia Vegetal**. Viçosa: UFV, 2003. p.399-424.
- BOKDAM, J. Seedlings morphology of some African Sapotaceae and its taxonomical significance. **Meded. Landbouwhogeschool Wageningen**, v.77, p.1-84, 1977.
- CARMELO-GUERREIRO, S.M., PAOLI, A.A.S. Morfologia e desenvolvimento pós-seminal de *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl., *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem. e *Astrnium graveolens* (Jacq.) Anacardiaceae. **Naturalia**, v.24, p.127-138, 1999.
- DE CANDOLLE, A.P. **Mémoires sur la famille dès Legumineuses**. Paris A. Belin, 1825 apud GUNN, C.R. Seeds of Leguminosae. In: POLHILL, R.M., RAVEN, P.H. (Eds.). **Advances in legume systematics**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p.913-25.
- DE LA MENSBRUGE, G. La germination et les plantules des essences arborées de la forêt dense humide de la Côte d' Ivoire. **Centre Techn. Forest Tropic**, v.26, p.112, 1966.
- DUKE, J.A. keys fo the identification of the seedlings of some proeminent wood species in eight forest types in Puerto Rico. **Annals of the Missouri Botanical Gardens**, v.52, n.3, p.314-50, 1965.
- DUKE, J.A. On tropical seedlings. I. Seeds, seedlings, systems and systematics. **Annals of Missouri Botanical Gardens**, v.56, n.2, p.125-161, 1969.

FERRI, M.G., MENEZES, N.L., MONTEIRO, W.R. **Glossário ilustrado de Botânica**.  
São Paulo: Nobel, 1981. 197p.

GUILLAUMIN, A. L'étude des germinations appliquées à la classification des genres et à la phylogénie des groupes. **Rev. Gén. Bot.**, v.22, p.449-468, 1910.

HESS, D. Plant physiology: molecular biochemical and physiological fundamentals of metabolism and development. New York: Springer-verlag, 1975. p.333.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940.

LEAF ARCHITECTURE WORKING GROUP. **Manual of leaf architecture: morphological description and categorization of dicotyledonous and net-veined monocotyledonous Angiosperms**. Washington: Smithsonian Institution, 1999.

LABORAU, L., VÁLIO, I.F.M., LABORAU, M.L.S., HANDRO, W. Nota sobre a germinação de sementes de plantas do cerrado em condições naturais. **Revista Brasileira de Biologia**, v.23, n.3, p.227-237, 1963.

MABBERLEY, D.J. **The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants**.  
Cambridge: Cambridge University Press, 1997.

MENSBRUGE, G. DE LA. La germination et les Plantules de la Forêt Dense Humide de la Côte d'Ivoire. **CTFT**, n.26, 1966.

MIQUEL, S. Morphologie fonctionnelle de plantule d'espèces forestières du Gabon. **Bull. Mus. Natn. Hist. Paris**, v.9, n.1, p.101-121, 1987.

NEPOKROEFF, M., BREMER, B., SYTSMA, K.J. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. **Systematic Botany**, v.24, n.1, p.5-27, 1999.

- NG, F.S.P. Strategies of establishment in Malayan Forest Trees. In: TOMLISON, P.B., ZIMMERMANN, M.H. (Eds). **Tropical trees as living systems**. Cambridge: University Press, 1978. p.406-437.
- OLIVEIRA, D.M.T., BELTRATI, C.M. Aspectos anatômicos dos frutos e sementes em desenvolvimento de *Inga fagifolia* (Fabaceae: Mimosoideae). **Revista Brasileira Biologia**, v.53, p.625-636, 1993.
- OLIVEIRA, E.C. Morfologia de Plântulas. In: AGUIAR, I.B. PIÑA-RODRIGUES, F.C.M., FIGLIOLIA, M.B. (Eds.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 1993. p.175-213.
- PARRA, P. Estudio de la morfologia externa de plantulas de *Calliandra gracilis*, *Mimosa albida*, *Mimosa arenosa*, *Mimosa camporum* y *Mimosa tenuiflora*. **Re. Fac. Agron. Maracay**, v.13, n.1-4, p.311-350, 1984.
- RIZZINI, C.T. Experimental studies on seedling development of Cerrado wood plants. **Annals Missouri Botanical Garden**, v.52, p.410-426, 1965.
- ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Belgica**, v.1, p.1-271, 1988.
- VOGEL, E.F. **Seedlings of dicotyledons**. Wagening: Pudoc, 1980.

## 5. Considerações finais

O desenvolvimento do pericarpo da semente de *Psychotria hoffmannseggiana* e *Psychotria trichophora* é semelhante. As características morfoanatômicas do ovário, óvulo, pericarpo e semente condizem com as citadas pela literatura para Rubiaceae.

Em relação à classificação dos frutos de *P. hoffmannseggiana* e de *P. trichophora*, a análise ontogenética demonstra que o tecido coriáceo que envolve o pirênio é composto pelo endocarpo mais as camadas do mesocarpo interno, é pertinente afirmar que até o momento não existe uma definição na literatura adequada para o tipo de fruto das espécies estudadas. Visando a simplificação da classificação dos frutos e não a criação de mais subtipos, julga-se apropriado a ampliação da definição do tipo drupóide, adicionando ao conceito a lignificação de parte do mesocarpo, como considerado nesse trabalho.

O padrão de desenvolvimento da semente das espécies estudadas difere das demais Rubiaceae, e é considerado incomum na literatura pertinente. Durante as fases iniciais do desenvolvimento da semente, o tegumento apresenta uma atividade meristemática acentuada, enquanto o endosperma permanece quiescente. Com a formação do endosperma, a testa é parcialmente consumida.

As folhas de *P. hoffmannseggiana* e de *P. trichophora* apresentam características similares às descritas para Rubiaceae. Algumas possuem valor taxonômico para a distinção das espécies estudadas como: presença de epiderme papilosa, tipo de tricoma, composição do bordo, e formato da face adaxial da nervura central.

Tendo em vista a demora para o início da germinação de *P. hoffmannseggiana*, sugere-se a utilização de mudas já formadas, em estudos de

recuperação de áreas degradadas. O tipo de germinação epígea-fanerocotiledonar descrito para *P. hoffmannseggiana*, corresponde ao mais comum em Rubiaceae.