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

**MORFOANATOMIA DOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS E DA PLÂNTULA DE
EPIPHYLLUM PHYLLANTHUS (L.) HAW. (CACTACEAE)**

ODAIR JOSÉ GARCIA DE ALMEIDA

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

Fevereiro - 2009

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

**MORFOANATOMIA DOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS E DA PLÂNTULA DE
EPIPHYLLUM PHYLLANTHUS (L.) HAW. (CACTACEAE)**

ODAIR JOSÉ GARCIA DE ALMEIDA

Orientadora: Profa. Dra. Adelita Aparecida Sartori Paoli

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

Fevereiro - 2009

581.4 Almeida, Odair José Garcia
A447m Morfoanatomia dos órgãos reprodutivos e da plântula de
Epiphyllum phyllanthus (L.) Haw. (Cactaceae) / Odair José
Garcia Almeida. – Rio Claro : [s.n.], 2009
101 f. : il., tabs, figs. Fots.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Adelita Aparecida Sartori Paoli

1. Anatomia vegetal. 2. Epífita. 3. Embrião. 4. Hipanto.
5. Fruto. 6. Sementes. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI – Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

Ao

Meu irmão,

*Nivaldo Aparecido de Almeida (**in memoriam**)*

Por sua vida...

À

Minha Vó Hermelinda,

Por sua fé...

*Meus pais Tarcílio (*in memoriam*) e Margarida,*

Pela minha vida e seus exemplos de vida...

Minhas irmãs Marilene e Fátima e ao meu irmão Luiz

Carlos,

Por seu apoio e incentivo constantes...

Minha noiva Alessandra,

Por todo seu amor e dedicação...

Minhas sobrinhas Sabrina e Emily,

Pela esperança...

Por nem um momento sequer, eu senti a ausência de vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e ao destino pela sucessão de acontecimentos em minha vida, que resultou nessa dissertação de mestrado.

À Profa. Adelita Aparecida Sartori Paoli por sua valiosa orientação, por sua compreensão, principalmente pelas dificuldades que tive no início deste mestrado e, sobretudo por sua confiança. Muito obrigado!

Ao Prof. Luiz Antonio de Souza, por ter me apresentado à morfologia vegetal, por seu companheirismo, por sua capacidade em transmitir conhecimentos que vai muito além da botânica. Pelo seu incentivo na minha breve carreira de anatomista. Muito obrigado por tudo!

Ao Prof. Ismar Sebastião Moscheta, por sua boa vontade, paciência e prontidão em atender tudo o que lhe foi pedido.

Ao Prof. Erivelto Goulart, pela leitura e revisão do trabalho final e pelo companheirismo.

Aos professores do departamento de botânica Vera Lucia Scatena; Gustavo Habermann; Massanori Takaki; Marco Antonio de Assis; aos funcionários Célia Maria Hebling de Moraes; Ari Roberto Pesce; Valnice Tralva Rampin, aos funcionários do SAEPE (Odair, Roberto e Aurélio) e às funcionárias da seção de Pós-Graduação (Eloísa e Rose), que sempre foram muito atenciosos em tudo o que precisei.

Ao Prof. Júlio Antonio Lombardi, pela confirmação da espécie botânica e toda a ajuda que sempre esteve pronto a oferecer.

Ao Prof. Reinaldo Monteiro, que me acolheu em seus trabalhos me proporcionando muito aprendizado, principalmente nas saídas de campo... por me fazer entender a importância de se manter o bom humor, no campo, mesmo sob um ataque de abelhas! Muito obrigado!

*Aos colegas do laboratório de anatomia vegetal Orlando, Alessandra Coan, Aline, Rita, assim como colegas da pós André Bianconi, André Guaraldo, Aloysio, Dalila, Henrique, Carolina, Paulo Cleto, Rafael Emed (*in memoriam*) e todos os demais que ajudaram com técnicas, bibliografias, conhecimento e companheirismo.*

À Luiz Felipe Mania pela convivência durante o tempo que estive em Rio Claro e por toda sua ajuda com este trabalho.

À Fábio Vicentin Diniz, pela convivência, pelo real companheirismo, pela ajuda mútua com os trabalhos um do outro e pela amizade que tivemos a oportunidade de criar.

Ao Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá e aos funcionários da área de Botânica, Nelson, Silvia, Rose, Isabel e ao “Seo” Júlio do horto didático, por terem cedido espaço, material e equipamentos, todas as vezes que necessitei usá-los.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa de mestrado concedida (processo 132803/2007).

Aos pesquisadores que gentilmente enviaram os trabalhos quando solicitado: Dr. Miroslav Ovečka (Universidade Pública de Navarra, Espanha), Dr. Hans Juergen Ensikat (Univerdidade de Bonn, Alemanha), Dr. Hugo Cota-Sanchez (Universidade de Saskatchewan, Canadá), Dra. Teresa Terrazas Salgado (Universidade Autônoma do México), Dra. Marleis Sazima (UNICAMP), Doutoranda Emilia Arruda (USP) e a Bob Jewest (DVD Project, CSSA, Cactus and Succulent Journal).

À minha família e a minha noiva... Não existem palavras ou ações, que eu possa fazer uso para expressar ou mensurar o quão grande é minha gratidão, admiração e quão importantes todos são para mim.

*Meu pai Tarcílio Garcia de Almeida (**in memoriam**), embora toda sua simplicidade de vida, sempre me fez acreditar que o estudo é o melhor caminho e sempre incentivava isso. É a minha referência em honestidade, disposição para o trabalho e de que não se precisa de muito, para ser feliz nesta vida, apesar de todas as dificuldades existentes. Esteja onde estiver... Muito obrigado!*

Minha mãe Margarida dos Santos de Almeida, sempre foi uma figura muito presente em minha vida com sua simplicidade e inteligência... sempre me apoiou e me incentivou. É fonte de inspiração e de superação para mim. Sempre estará em minha mente e em meu coração. Obrigado, Mãe, por tudo!

Minhas irmãs Mari e Fátima, meu cunhado Antonio Carlos e meu Irmão Luiz Carlos. Vocês são exemplos de pessoas que batalham, que estudam... que vão à luta, não

importa se vençam ou se percam, mas tentam. Sempre me incentivaram a seguir o caminho, do qual eu julgava certo, me ajudaram a superar as dificuldades que surgiram. Se hoje tenho um horizonte a seguir, devo muito a vocês. Obrigado!

A minha noiva Alessandra P. Lonardoni, obrigado, por seu companheirismo, por seu apoio, pela ajuda com tudo que lhe foi pedido. Mas, sobretudo pelo Amor, que nos mantém ligados mesmo a longas distâncias, que nos faz planejar o futuro sem arrependimento do passado e com orgulho do presente. Muito obrigado por fazer parte da minha vida. Eu te amo!

Enfim a todos os que contribuíram para realização deste trabalho muito obrigado!

Encerro este agradecimento com as palavras de uma senhora de muita idade e muito valor, minha Vó Hermelinda.

“Não existe coisa ruim na vida, quando se é uma pessoa boa!”

*“... vale a pena levar uma vida difícil, quando se tem um
objetivo grandioso.”*

Phillip Pullman

SUMÁRIO

Descrição	Página
1. RESUMO.....	10
2. ABSTRACT.....	11
3. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
Literatura citada.....	15
4. CAPÍTULO I. Morfoanatomia da flor de <i>Epiphyllum phyllanthus</i>	
(L.) Haw. (Cactaceae).....	19
Resumo.....	20
Abstract.....	20
Introdução.....	21
Material e métodos.....	22
Resultados.....	23
Discussão.....	26
Literatura citada.....	29
Ilustrações.....	34
5. CAPÍTULO II. Morfoanatomia e desenvolvimento do pericarpo e	
semente de <i>Epiphyllum phyllanthus</i> (L.) Haw. (Cactaceae).....	45
Resumo.....	46
Abstract.....	46
Introdução.....	47
Material e métodos.....	48
Resultados.....	49
Discussão.....	54
Referências bibliográficas.....	57
Tabela.....	62
Ilustrações.....	64
6. CAPÍTULO III. Morfoanatomia da plântula de <i>Epiphyllum</i>	
<i>phyllanthus</i> (L.) Haw. (Cactaceae).....	73
Resumo.....	74
Abstract.....	74
Introdução.....	75
Material e métodos.....	76
Resultados.....	78

Discussão.....	81
Referências bibliográficas.....	85
Tabela.....	91
Ilustrações.....	93

1. RESUMO

Cactaceae distribui-se pelo continente americano, do sul e oeste do Canadá até o sul da Patagônia na Argentina e Chile. A família está inserida em Caryophyllales e possui cerca de 1.500 espécies. *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. é epífita obrigatória muito difundida na América do Sul, sendo a única espécie brasileira nativa de *Epiphyllum* Haw. A biologia reprodutiva em Cactaceae foi estudada em menos de 10% das espécies que a constituem e, esta limitada quantidade de dados, impede melhor entendimento dos mecanismos reprodutivos na família. Objetivou-se a realização de estudo morfológico e anatômico dos órgãos reprodutivos e da plântula de *E. phyllanthus*, através de: (i) análise morfoanatômica da flor; (ii) morfoanatomia e ontogenia do pericarpo e da semente e (iii) morfoanatomia da plântula. A flor é séssil, epígina com hipanto desenvolvido. Todos os verticilos florais apresentam epiderme unisseriada, glabra e estomatífera. O gineceu é sincárpico, com 9-10 carpelos, plúrioovulado, de placentação parietal. O ovário possui feixes vasculares invertidos. A flor apresenta região nectarífera na face interna do hipanto. O óvulo é circinótrofo, bitegmentado, crassinucelado, de funículo longo. O hipanto é de natureza receptacular. O fruto é do tipo cactídeo de coloração róseo-roxo brilhante, superfície lisa e acumula concentração elevada de amido no pericarpo e na polpa, quando maduro. As sementes são campilótopas, pretas e de formato ovóide. A superfície externa ventral exibe relevo diferenciado, a região hilo-micropilar, de coloração esbranquiçada, onde ocorre arilo. O embrião é curvo com reserva lipoprotéica. Perisperma e endosperma persistem na semente madura, sem substâncias de reserva. A plântula é fanerocotiledonar e apresenta germinação epígea. Durante a germinação há hidratação e expansão de mucilagem na semente. A raiz principal, tetrarca, apresenta crescimento determinado. O hipocótilo possui estrutura de transição entre raiz e caule, por todo seu comprimento. Os cotilédones verdes e fotossintetizantes permanecem durante todo o desenvolvimento da plântula. As informações estruturais obtidas neste trabalho, associadas às moleculares, poderão ser úteis para estudos de filogenia e taxonomia da família. A combinação dessas informações poderá auxiliar no estabelecimento de uma classificação prática e útil da família, incorporando relações evolucionárias e suas hierarquias.

Palavras-chave: Arilo. Epífita. Estrutura de Transição. Flor. Fruto. Hipanto. Mucilagem. Nectário. Região Hilo-Micropilar. Semente.

2. ABSTRACT

The Cactaceae family is widely distributed in the American continents, from the south and west of Canada to the south of Patagonia (Argentina and Chile). It is included in Caryophyllales and has approximately 1,500 species. *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. exhibits an obligatory epiphytic habit and is widespread in South America. Additionally, it is the only *Epiphyllum* Haw. species that is indigenous to Brazil. Studies concerning the reproductive biology of Cactaceae have been conducted in no more than 10 percent of the taxa, and such a limited amount of data precludes the suitable comprehension of the reproductive mechanisms in the family. The present work was aimed at providing a morphoanatomical description of the reproductive organs and seedlings of *Epiphyllum phyllanthus* by means of (i) flower morphoanatomical analysis; (ii) morphoanatomical and ontogenic studies of the pericarp and seed, and (iii) morphoanatomical analysis of seedling in developing. It was observed that the sessile and epigynous flower exhibit a well-developed hypanthium. All the flower whorls has uniseriate epidermis. The syncarpous and pluriovulate gynoecium exhibit 9-10 carpels and parietal placentation. The ovary has inverted bundles and the flower showed the nectariferous region on the inner surface of the hypanthium. The ovule is circinotropous, bitegmic, crassinucelate, and has a long funiculus. The hypanthium exhibit receptacular origin. The bright pinkish-purplish “cactidio-type” fruit has a smooth surface and, when it is ripe, exhibits a high concentration of starch in the pericarp and pulp. The seed is campylotropous, black and ovoid. Its ventral outer surface presents a differentiated relief that is the whitish hilum-micropylar region, in which the aril occurs. The curved embryo contains lipoprotein reserves. Perisperm and endosperm persist in the mature seed without reserve substances. The phanerocotyledonary seedling is epigeal and there is formation of mucilage in the seed during the germination phase. The tetrarch taproot has determinate growth. The hypocotyl presents a transition structure from root to stem throughout its length. The green and photosynthetic cotyledons persist throughout the seedling development. The structural data derived from this work in conjunction with molecular data will be able to enrich future studies on the phylogeny and taxonomy of cactaceous species. Moreover, the combination of such data may be useful for establishing of a practical and useful classification of the family Cactaceae, incorporating evolutionary relationships and their hierarchies.

Key words: Aril. Epiphytic. Flower. Fruit. Hilum-Micropylar Region. Hypanthium. Mucilage. Nectary. Seed. Transition Structure.

3. INTRODUÇÃO GERAL

Cactaceae distribui-se por todo o continente americano, do sul e oeste do Canadá até o sul da Patagônia na Argentina e Chile (Kiesling 1988; Rizzini 1987). O gênero epifítico *Rhipsalis* foi disperso naturalmente por pássaros para a África Tropical, Madagascar, Sri Lanka e sul da Índia (Thorne 1973; Wallace & Gibson 2002).

A família está inserida em Caryophyllales *sensu* APG II (*Angiosperm Phylogeny Group* 2003), com cerca de 1500 espécies e mais ou menos 100 gêneros (Judd *et al.* 2002; Souza & Lorenzi 2005). Encontra-se subdividida em três subfamílias: Pereskioideae, Opuntioideae e Cactoideae. Aproximadamente 130 espécies de cactáceas epífitas foram encontradas em florestas neotropicais e tropicais (Wallace & Gibson 2002). No Brasil foram catalogados, aproximadamente, 50 gêneros e 200 espécies de Cactaceae (Rizzini 1987; Souza & Lorenzi 2005).

As espécies de Cactaceae apresentam plantas de caule suculento, segmentado em cladódios, ausência de folhas e, formação de aréolas, onde podem surgir espinhos ou flores, com exceção de *Pereskia*. As flores, normalmente, são solitárias grandes e vistosas, bissexuadas ou, raramente unissexuadas, actinomorfas ou ligeiramente zigomorfas, monoclamídeas com prefloração imbricada, estames numerosos, anteras rimosas, disco nectarífero freqüente; ovário ínfero (raramente súpero, como em *Pereskia*), normalmente envolvido por hipanto, formado pelo receptáculo e parte do ramo vegetativo (Cronquist, 1981).

De acordo com Eggli (1984) o complexo estomático predominante em Cactaceae é o paralelocítico, encontrado em todos os representantes estudados, da subfamília *Cactoideae*. Em *Pereskioideae* e *Opuntioideae* também foram registrados estômatos paralelocíticos nas folhas, das espécies que as possuam, mas nos caules de algumas espécies, foram encontrados complexos estomáticos diferentes, denominados opuntiídes.

Estudos estruturais de órgãos reprodutivos em Cactaceae são restritos. Os principais trabalhos de desenvolvimento floral são os de Boke (1963, 1966 e 1968) com *Pereskia*; Leins & Schwitalla (1988) que estudaram a placentação em Cactaceae; Strittmatter *et al.* (2002) que estudaram o sistema de reprodução e a embriologia em *Conseolea spinosissima* (Mill.) Lemaire e os estudos sobre anatomia floral de Opuntioideae Terrazas *et al.* (2008).

Com relação ao fruto (pericarpo) e sementes devem ser relatados os trabalhos de Corner (1976) que registrou caracteres anatômicos de sementes; de Roth (1977) que apresentou análise do fruto, especialmente, a ontogênese do pericarpo, a partir de ovário

ínfero; de Bregman & Bouman (1983) que estudaram a germinação da semente em 89 gêneros; de Barroso *et al.* (1999) que descreveram morfológicamente o fruto e a semente, com finalidade taxonômica; de Rosa & Souza (2003) que analisaram o desenvolvimento do fruto (pericarpo e semente) em *Pereskia aculeata* (Mill); e de Arias & Terrazas (2004) que elaboraram estudo sobre variação morfológica de sementes em *Pachycereus*.

O fruto das espécies de Cactaceae é bastante complexo, pois várias peças florais participam da sua formação. A polpa pode originar-se do receptáculo, da própria parede do ovário, dos funículos e de tricomas. No exterior do receptáculo podem ser encontradas brácteas e aréolas, que são de natureza axial (Roth 1977; Barroso *et al.* 1999). Na literatura, são citados vários tipos de frutos como: baga, cápsula carnosa, acrosarcum, melonídio e cactídio.

A viviparidade é o processo em que as sementes germinam dentro do fruto com subsequente desenvolvimento do embrião, antes das sementes serem dispersas da planta mãe, sendo um fenômeno pouco comum em Angiospermas (Farnsworth 2000). É registrado para menos do que 100 famílias, representando menos de 0,1% das Angiospermas (Elmqvist & Cox 1996). Em Cactaceae a ocorrência de viviparidade foi relatado por Conde (1975), Lombardi (1993), Cota-Sánchez (2004), Cota-Sánchez *et al.* (2007) e Cota-Sánchez & Abreu (2007).

No que refere-se à plântula, a bibliografia é também escassa, destacando os trabalhos de Ganong (1898) e De Fraine (1910) que realizaram estudos em vários gêneros; Wiggins & Focht (1967), Freeman (1969) e Hamilton (1970) que analisaram espécies de *Opuntia*; Bregman & Bouman (1983) que investigaram a germinação de sementes de vários gêneros; Salles (1987) que estudou a plântula de *Cephalocereus fluminensis* (Miq.) Britton & Rose; e Loza-Cornejo *et al.* (2003) que analisaram plântulas de *Stenocereus queretaroensis* (Weber.) Buxb.

Segundo Britton & Rose (1963) a espécie-tipo de *Epiphyllum* foi nomeada *Cactus phyllanthus* por Linnaeus (Sp. Pl. 469. 1753), pois foi suposto que as flores surgiam das folhas, uma designação incorreta porque as flores nascem no caule como em todas as cactáceas.

São sinônimas de *Epiphyllum phyllanthus*: *Phyllocactus phyllanthus* e *Phyllocereus phyllanthus*, sendo que, os três gêneros descritos com base em uma única espécie tipo: *E. phyllanthus* (Britton & Rose 1963).

Epiphyllum Haw. apresenta distribuição ampla na América do Sul, estendendo-se com *E. phyllanthus* (L.) Haw. até o Paraguai e sul do Brasil (Kimmach 1964; Bauer &

Waechter 2006). O gênero possui cerca de 15 espécies (Barthlott & Hunt 1993; Bauer & Waechter 2006). *Epiphyllum phyllanthus* é holoepífita obrigatória e arborícola, conhecida vulgarmente como flor-de-baile (Britton & Rose 1963), rainha-da-noite (Joly 1998) e cacto-orquídea (Judd *et al.* 2002). Apresenta ramos (filocládios) aplanados, às vezes triangulados na base, de coloração verde-escuro a verde-claro e margem crenada, grandes flores laterais, noturnas de coloração alva, frutos ovóides a oblongos roxo-róseo e sementes obovadas pretas com 3 a 4mm (Bauer & Waechter 2006).

A importância ecológica do epifitismo nas comunidades florestais consiste, basicamente, na manutenção da diversidade biológica e no equilíbrio interativo: as espécies epifíticas proporcionam recursos alimentares e microambientais especializados para a fauna do dossel, constituída por grande quantidade de organismos voadores e arborícolas (Waechter 1992).

A importância medicinal, econômico-ornamental e ecológica de espécies nativas, bem como o risco de sua extinção, motiva os mais diversos estudos com plantas, visando à preservação. Contudo, qualquer estudo de preservação exige informações básicas sobre órgãos reprodutivos, principalmente o conhecimento morfoanatômico.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi conhecer a morfologia e a anatomia dos órgãos reprodutivos e da plântula de *Epiphyllum phyllanthus*, através de estudos relativos a: (i) análise morfoanatômica da flor; (ii) morfoanatomia e ontogenia do pericarpo e da semente e (iii) morfoanatomia da plântula, visando fornecer informações para o conhecimento da espécie e da família, além de revelar dados que poderão ser utilizados para futuros estudos taxonômicos e/ou ecológicos.

A combinação de dados morfológicos e moleculares poderá servir para fornecer melhor estimativa da filogenia de Cactaceae e auxiliar taxonomistas na produção de uma classificação que incorpore relações evolucionárias e suas hierarquias, enquanto se estabelece uma classificação prática e útil (Wallace & Gibson 2002).

Literatura citada

- Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society** 141:399-436.
- Arias, S. & Terrazas, T. 2004. Seed morphology and variation in the genus *Pachycereus* (Cactaceae). **Journal of Plant Research** 117:277-289.
- Barroso, G.M.; Morim, M.P.; Peixoto, A. L. & Ichaso, C. L. F. 1999. **Frutos e sementes – morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa.
- Barthlott, W. & Hunt, D. R. 1993. Cactaceae. Pp. 161-197. In: Kubitzki, K; Rohwer, J. G. & Bittrich, V. (eds.). The families and genera of vascular plants. v. 2. Berlin, Springer-Verlag.
- Bauer, D. & Waechter, J. L. 2006. Sinopse taxonômica de Cactaceae epifíticas no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 20:(1) 225-239.
- Boke, N. H. 1963. Anatomy and development of the flower and fruit of *Pereskia pititache*. **American Journal of Botany** 50:843-858.
- Boke, N. H. 1966. Ontogeny and structure of the flower and fruit of *Pereskia aculeata*. **American Journal of Botany** 53:534-542.
- Boke, N. H. 1968. Structure and development of the flower and fruit of *Pereskia diaz-romeroana*. **American Journal of Botany** 55:1254-1260.
- Bregman, R. & Bouman, F. 1983. Seed germination in Cactaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 83:357-374.
- Britton, N. L. & Rose, J. N. 1963. **The Cactaceae. Descriptions and illustrations of plants of the Cactus family**. v. IV. New York, Dover Publications, Inc.
- Conde, L. F. 1975. Vivipary in *Epiphyllum*. **Cactus and Succulent Journal** 47:38-39.
- Corner, E. J. H. 1976. **The seeds of dicotyledons**. v. I. Cambridge, Cambridge University Press.

- Cota-Sánchez, J. H. 2004. Vivipary in the Cactaceae: its taxonomic occurrence and biological significance. **Flora** 199:481-490.
- Cota-Sánchez, J. H.; Reyes-Olivas, A. & Sánchez-Soto, B. 2007. Vivipary en coastal cacti: A potencial reproductive strategy in halophytic environments. **American Journal of Botany** 95(9):1577-1581.
- Cota-Sánchez, J.H. & Abreu, D.D. 2007. Vivipary and offspring survival in the epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). **Journal of Experimental Botany** 58(14):3865-3873.
- Cronquist, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York, Columbia University Press.
- De Fraine, E. 1910. The seedling structure of certain Cactaceae. **Annals of Botany** 24:125-175.
- Eggl, U. 1984. Stomatal types of Cactaceae. **Plant Systematics and Evolution** 146:197-214.
- Elmqvist, T. & Cox, P. A. (1996). The evolution of vivipary in flowering plants. **Oikos** 77:3-9.
- Farnsworth, E. (2000). The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** 31:107-138.
- Freeman, T. 1969. The developmental anatomy of *Opuntia basilaris*. I. Embryo, root, and transition zone. **American Journal of Botany** 56(9):1067-1074.
- Ganong, W. F. 1898. Contributions to a knowledge of the morphology and ecology of the Cactaceae: II. The comparative morphology of the embryos and seedlings. **Annals of Botany** 12(48):423-474.
- Hamilton, M. W. 1970. Seedling development of *Opuntia bradtiana* (Cactaceae). **American Journal of Botany** 57:599-603.
- Joly, A. B. 1998. **Botânica – introdução à taxonomia vegetal**. 12^a ed. São Paulo, Companhia Editora Nacional.

- Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A. & Stevens, P. F. 2002. **Plant systematics – a phylogenetic approach**. 2nd ed. Sunderland - Massachusetts, Sinauer Associates.
- Kiesling, R. 1988. Cactaceae. Pp. 218-243. In: Correa, M.N. (ed.) **Flora Patagónica 5, *Dicotyledoneas dialipétalas* (Oxalidaceae a Cornaceae)**. Buenos Aires, Coleccion Científica Del INTA 8.
- Kimnach, M. 1964. *Epiphyllum phyllanthus*. **Cactus and Succulent Journal** 36: 105-115.
- Leins, P. & Schwitalla, S. 1988. Placentation in Cactaceae. Pp 57-68. In: Leins, P.; Tucker, S. C. & Endress, P. K. (eds.). **Aspects of floral development**. Berlin, Stuttgart.
- Lombardi, J. A. 1993. Vivipary in *Rhipsalis pilocarpa* Löfgren (Cactaceae). **Ciência e Cultura**. 45(6):407.
- Loza-Cornejo, S.; Terrazas, T.; López-Mata, L. & Trejo, C. 2003. Características morfo-anatómicas y metabolismo fotossintético em plântulas de *Stenocereus queretaroensis* (Cacataceae): Su significado adaptativo. **Interciencia** 28(2):83-89.
- Rizzini, C. T. 1987. Cactáceas: os segredos da sobrevivência. **Ciência Hoje** 5(30):30-40.
- Rosa, S. M. & Souza, L. A. 2003. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Acta Scientiarum, Biological Science** 25:415-428.
- Roth, I. 1977. **Fruits of angiosperms**. Berlim, Gebrüder Borntrager.
- Salles, H. G. 1987. Expressão Morfológica de sementes e plântulas *Cephalocereus fluminensis* (MIQ) Britton e Rose (Cactaceae). **Revista Brasileira de Sementes** 9:73-81.
- Souza, V.C. & Lorenzi, H. 2005. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII**. Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- Strittmatter, L. I.; Negrón-Ortiz, V. & Hickey, R. J. 2002. Subdioecy in *Consolea spinosissima* (Cactaceae): breeding system and embryological studies. **American Journal of Botany** 89(9):1373-1387.

- Terrazas, T.; Fuentes-Pérez, M.; Arias, S. & Kiesling, R. 2008. Diversidad em la anatomía floral de Opuntioideae. Pp. 480-481. In: Loiola, M. I. B.; Baseia, I. G. & Lichston, J. E. (orgs.). **Atualidades, desafios e perspectivas da Botânica no Brasil: Anais do 59^a Congresso Nacional de Botânica**. Natal, Imagem Gráfica.
- Thorne, R. 1973. Floristic relationship between tropical Africa and tropical America. Pp. 27-47. In: Meggers, B.J.; Ayensu, E.S. & Duckworth, W.D. (ed.) **Tropical forest ecosystems in Africa and South America: a comparative review**. Washington, DC, Smithsonian Institute Press,
- Waechter, J. L. 1992. **O epifitismo vascular na planície costeira do Rio Grande do Sul**. 161p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- Wallace, R. S. & Gibson, C. 2002. Evolution and Systematics. Pp. 1-21. In: Nobel, P. S. (ed.). **Cacti biology and uses**. Berkeley, CA, University of California Press,
- Wiggins, I. L. & Focht, D. 1967. Seeds and seedlings of *Opuntia echinos* J. T. Howell var. gigantean Dawson. **Cactus and Succulent Journal** 39:26-30.

4. Capítulo I

Morfoanatomia da flor de *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae)¹

¹ Segundo normas da *Revista Mexicana de Biodiversidad*

Resumo. *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. tem distribuição ampla na América do Sul e ocorre em florestas úmidas como epífita. A estrutura da flor dessa espécie foi objetivo desse trabalho. Flores e botões florais foram coletados em Maringá, PR, Brasil, fixados, processados e analisados ao microscópio de luz e em microscopia eletrônica de varredura (MEV). A flor é sésil, epígina com hipanto desenvolvido. Todos os verticilos florais apresentam epiderme unisseriada. Cavidades secretoras, contendo mucilagem e cristais de oxalato de cálcio, ocorrem em todo o tecido parenquimático da flor. O androceu possui muitos estames, com antera biteca, tetrasporangiada e rimosa. A parede da antera jovem é formada por epiderme, endotécio, uma camada mediana e tapete secretor binucleado, eventualmente uninucleado. O gineceu é sincárpico, com 9-10 carpelos, pluriovulado, de placentação parietal. O ovário apresenta feixes invertidos. O estilete possui 9-10 feixes vasculares colaterais. Apresenta região nectarífera na face interna do hipanto. O estigma é 9-10 lobado, com epiderme secretora. O óvulo é circinótroto, bitegumentado, crassinucelado e com funículo longo. O hipanto é de natureza receptacular, com base na presença de bractéolas e feixes vasculares invertidos. Os resultados aqui relatados poderão ser utilizados em estudos taxonômicos e/ou ecológicos.

Palavras-chave: Antera, Gineceu, Hipanto, Óvulo Circinótroto, Nectário, Perigônio

Abstract. *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. is widely distributed over South America, occurring in humid forests as an epiphyte. The analysis of the flower structure in this species was the aim of this study. Flowers and flower buds were harvested in Maringá, Paraná State, Brazil, fixed, processed, and analyzed under light microscope and scanning electron microscope (SEM). The flower is sessile and epigynous with developed hypanthium. All flower whorls had uniseriate. Secretory cavities containing mucilage and calcium crystals occur all over the flower parenchymatous tissue. The androecium has many stamens with rimose, tetrasporangiate and bithecal anther. The wall of the young anther is formed of epidermis, endothecium, a median layer, and binucleate secretory tapetum, eventually uninucleate. The gynoecium is syncarpous and pluriovulate, presenting 9-10 carpels and parietal placentation. The ovary has inverted bundles. The style presents 9-10 collateral vascular bundles and a nectariferous region in the inner surface of the hypanthium. The stigma has 9-10 lobes and secretory epidermis. The ovule is circinotropous, bitegmatic, crassinucelate, and has long funiculus. The hypanthium is of receptacular nature since it presents bracteoles and inverted vascular bundles. The obtained results are also useful for taxonomical and/or ecological studies.

Key words: Anther, Cactaceae, Gynoecium, Hypanthium, Ovule, Nectary

Introdução

Cactaceae distribui-se pelo continente americano, do sul e oeste do Canadá até o sul da Patagônia na Argentina e Chile (Kiesling, 1982; Rizzini, 1987). A família está inserida em Caryophyllales *sensu* APG II (*Angiosperm Phylogeny Group* 2003), com cerca de 1.500 espécies e mais ou menos 100 gêneros (Judd *et al.*, 2002; Souza e Lorenzi, 2005). Compreende três subfamílias: Pereskioideae, Opuntioideae e Cactoideae, distintas pelos caracteres estruturais. Aproximadamente 130 espécies de cactáceas epífitas foram encontradas em florestas neotropicais e tropicais (Barthlott e Hunt, 1993; Wallace e Gibson, 2002).

As flores são normalmente laterais e solitárias formadas nas aréolas dos ramos caulinares, freqüentemente grandes e vistosas. São polinizadas por morcegos, beija-flores mariposas e abelhas. As tépalas são numerosas, mais ou menos brilhantes, arranjadas em espiral, petalóides e sepalóides não são nitidamente diferenciadas, mas todas são unidas na base com o hipanto (Cronquist, 1981).

A importância medicinal, econômico-ornamental e ecológica de espécies nativas, bem como o risco de sua extinção, motiva os mais diversos estudos com plantas, visando à preservação. Contudo, qualquer estudo de preservação exige informações básicas sobre órgãos reprodutivos, principalmente o conhecimento morfoanatômico.

A literatura é restrita para trabalhos morfoanatômicos da flor de espécies brasileiras. São citados trabalhos de Rudall e Sajo (1999) para *Xyris sp.* (Xyridaceae), Souza *et al.* (2001) para *Trichilia sp.* (Meliaceae), Souza *et al.* (2004) para *Metrodorea nigra* St. Hill. (Rutaceae) e Rosa e Scatena (2007) para Paepalonthoideae. Em Cactaceae, de maneira geral, os dados anatômicos são ainda mais escassos, destacando trabalhos de Boke (1963, 1966 e 1968) com *Pereskia sp.* e o de Terrazas *et al.* (2008) sobre a diversidade anatômica nas flores de Opuntioideae.

A origem e a organização do ovário ínfero é uma característica importante do ponto de vista filogenético (Dickison, 2000). Smith e Smith (1942) e Roth (1977) apresentaram três teorias a respeito da origem do ovário ínfero nas Angiospermas. Na primeira, o ovário ínfero foi originado de uma fusão progressiva das peças florais (sépalas, pétalas e estames) e do ovário. Na segunda, o ovário teria sido “mergulhado” em tecidos do receptáculo. Na terceira, o ovário teve uma origem mista, ou seja, receptacular na parte baixa e floral na mais alta.

Até a década de 60 não havia consenso quanto a origem e posição do ovário em Cactaceae. Após estudos detalhados em *Pereskia*, gênero considerado primitivo, ocorreu mudança na concepção sobre a interpretação do ovário ínfero nas cactáceas, ficando evidente a derivação de ovário súpero e a placentação parietal ser derivada da axilar (Roth, 1977).

Epiphyllum Haw. conta com 13 espécies, ocorrentes principalmente na América Central e no Brasil ocorre apenas uma (Taylor e Zappi, 2004). *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. conhecida como rainha-da-noite (Joly, 1998), cacto-orquídea (Judd *et al.*, 2002), apresenta ampla distribuição na América do Sul, estendendo-se até o Paraguai e sul do Brasil (Kimmach, 1964; Bauer e Waechter, 2006). No Brasil é muito comum ocorrer em formações florestais do Planalto Central e na parte oriental do país, em várias formações vegetacionais, incluindo Mata Atlântica, Caatinga, mata de planalto, mata ciliar e cerrado (Taylor e Zappi 2004). É holopífita obrigatória, com ramos aplanados de margem crenada, às vezes trígonos na base (Zappi *et al.*, 2007).

Considerando-se a escassez de estudos estruturais da flor de Cactaceae, o presente trabalho objetivou a análise morfoanatômica da flor de *E. phyllanthus*. As informações aqui obtidas poderão ser utilizadas no entendimento da origem e desenvolvimento do ovário ínfero e no auxílio de estudos taxonômicos e ecológicos das cactáceas.

Material e métodos

Flores e botões florais de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Fig.1) foram coletados no Parque do Ingá (fragmento de Mata Atlântica) e seu entorno, em Maringá, PR, Brasil. Ramos férteis foram herborizados e depositados no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM) e no Herbário Rioclarense (HRCB), sob registros 12.673 HUEM, 48.936 HRCB e 48.937 HRCB.

A análise morfológica da flor foi feita em material botânico fresco e/ou fixado em FAA 50, com auxílio de microscópio estereoscópico Leica®. As ilustrações das flores e dos botões foram realizadas com desenhos e fotomicrografias (câmera digital).

Para o estudo anatômico, flores e botões florais foram fixados em FAA 50 (Johansen, 1940) e armazenadas em etanol 70%. As amostras foram desidratadas em série etílica, infiltradas em historresina (Gerrits, 1991), seccionadas transversal e longitudinalmente em micrótomo de rotação, coradas com azul de toluidina a 0,05%, pH 4,7 (O'Brien *et al.*, 1965) e montadas em resina sintética – Entellan®.

Testes microquímicos foram realizados em secções executadas à mão livre, de material fresco e fixado, e submetidas aos seguintes reagentes/corantes: Lugol para detecção

de amido; cloreto férrico, acrescido de carbonato de cálcio, para substâncias fenólicas (Johansen, 1940); ácido acético concentrado para cristais de carbonato de cálcio; ácido clorídrico 10% para cristais de oxalato de cálcio (Souza *et al.*, 2005); azul de metileno para mucilagem (Costa, 1972; Souza *et al.*, 2005); vermelho de rutênio, para polissacarídeos diversos e pectinas (Jensen, 1962); vermelho neutro, para tecido secretor e, reagente de Fehling para detectar açúcares redutores (Sass, 1951).

A ilustração anatômica foi feita mediante fotomicrografias obtidas através de captura de imagem em fotomicroscópio Leica®, utilizando o programa Leica® IM50, versão cinco.

A análise da superfície da flor e dos botões florais foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) Zeiss®, DSM 940A, equipado com captura de imagem, no laboratório do núcleo de apoio à pesquisa em microscopia eletrônica aplicada à pesquisa agropecuária (NAP/MEPA) da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP). Para tanto as amostras foram fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965) e FAA50. Para criofratura, as amostras foram fixadas em solução de Karnovsky, sendo utilizado como crioprotetor, glicerina 33% (12 horas de embebição) e, fraturadas imersas em nitrogênio líquido.

Deve ser salientado que nesta espécie, no ovário ínfero, não existe delimitação precisa entre os tecidos do hipanto e ovário, por estarem unidos. Assim, essas regiões na flor de *E. phyllanthus* foram denominadas, considerando-se a localização topográfica (Fig. 10, 12).

Resultados

Morfologia da flor. A flor é séssil, cíclica, actinomorfa, hermafrodita, de antese noturna, com odor adocicado, epígina com longo hipanto tubuloso com bractéolas, que estão presentes também no ovário. O perigônio apresenta tépalas lanceoladas, que se dispõem em dois verticilos (Fig. 2, 4, 10), um sepalóide amarelo-esverdeado claro e outro petalóide, de coloração amarelo-claro a branco. O androceu possui muitos estames (Fig. 2, 4, 5, 11), dialistêmones, com alturas diferentes, os filetes são brancos e as anteras rimosas castanho-claras. O gineceu apresenta ovário imerso nos tecidos do hipanto (Fig. 3, 12). O estilete é amarelo-claro, tão longo quanto o hipanto e o estigma é branco com 9-10 lobos (Fig. 4, 5, 53).

Anatomia da flor. O botão floral (Fig. 6-9), no início do desenvolvimento, encontra-se quase totalmente envolvido por bractéolas de contorno triangular, com epiderme unisseriada, glabra e anfiestomática com estômatos paralelocíticos. O mesofilo parenquimático das bractéolas é

homogêneo, possui cavidades secretoras e vários feixes vasculares colaterais de pequeno porte. Com o desenvolvimento, as bractéolas vão se distanciando umas das outras devido ao crescimento do hipanto e do ovário (Fig. 6-10). As bractéolas (Fig. 13, 16), ao longo do hipanto tubuloso, são maiores que as ocorrentes na região do ovário, mas são estruturalmente semelhantes, diferindo no tamanho das células parenquimáticas do mesofilo (menores na face abaxial) e no número maior de feixes colaterais.

Estrutura do hipanto. Na porção infra-ovariana, o hipanto possui contorno circular com reentrâncias formando pequenas arestas (Fig. 54). A epiderme é unisseriada, glabra e estomatífera. O córtex parenquimático possui cavidades secretoras lisígenas amplas, com conteúdo mucilaginoso e traços vasculares de diferentes calibres, derivados do cilindro vascular, que vão em direção às bractéolas. O cilindro central é formado por feixes vasculares colaterais dispostos ao redor da medula que é parenquimática e apresenta cavidades secretoras (Fig. 19, 54). Nos feixes ocorre câmbio.

O hipanto, na região supra-ovariana, tem contorno cilíndrico com arestas na parte externa (Fig. 59), epiderme externa glabra e estomatífera de células diminutas e de contorno tabular (Fig. 30). Apresenta tecido parenquimático pluriestratificado com cavidades secretoras e feixes colaterais com xilema de orientação variável. No local onde se inicia a separação com o estilete é possível observar duas regiões distintas: uma externa com células parenquimáticas amplas e, outra interna, mais compacta, onde ocorrem nectários (face interna do hipanto) (Fig. 29, 58). Próximo ao perigônio, o hipanto não possui nectários e apresenta lobos ou arestas, tanto na face interna como na externa; os lobos da face interna têm menor dimensão, mas ocorrem em maior número sendo os locais de inserção dos filetes. A epiderme interna é glabra com alguns estômatos, o parênquima é homogêneo e, junto à epiderme, onde há um acúmulo de mucilagem por lise de células e formação de canais secretores, que organizam-se em pequenas “ilhas” ao longo de toda circunferência do hipanto. Esse acúmulo de mucilagem exerce pressão na epiderme interna que pode romper em alguns locais extravasando o conteúdo (Fig. 30, 60).

A região nectarífera estende-se da porção supra-ovariana até a região mediana do hipanto (Fig. 53, 58). Apresenta células secretoras pequenas de citoplasma denso, com núcleos grandes e muitos feixes vasculares adjacentes com uma quantidade de floema bem maior que a de xilema. A epiderme interna é formada por tricomas secretores de paredes espessadas e ricos em açúcares redutores (Fig. 29).

Estrutura do perigônio. O perigônio sepalóide apresenta formato e estrutura semelhantes às bractéolas, porém as tépalas sepalóides são maiores e possuem mais estômatos na face

abaxial. O mesofilo é homogêneo com cavidades secretoras e vários feixes vasculares colaterais. O parênquima é mais compacto que o das bractéolas (Fig. 14, 17). O perigônio petalóide difere do sepalóide por apresentar células epidérmicas maiores e de paredes mais finas, mesofilo com número menor de estratos celulares e quantidade de estômatos menor na face abaxial. (Fig. 15, 18). O perigônio sepalóide e petalóide também apresenta estômatos paralelocíticos.

Estrutura do androceu. O estame possui filete formado por epiderme unisseriada, com células amplas de formato cubóide a levemente cilíndricas, tecido parenquimático com cavidades secretoras e um feixe central concêntrico anficrival (Fig. 39). A região do conectivo é formada por tecido parenquimático e um feixe vascular, em que o floema envolve quase completamente o xilema (Fig. 40, 43). A antera é biteca (Fig. 40, 43), tetrasporangiada e rimosa (Fig. 37). A parede da antera jovem é formada por epiderme, endotécio, uma camada mediana e tapete secretor binucleado, eventualmente uninucleado (Fig. 42-44). Na antera madura, as células epidérmicas são mais ou menos papilosas com conteúdo fenólico e o endotécio possui espessamento secundário na forma de faixas, nas paredes anticlinais e periclinal externa (Fig. 40). Com a deiscência (Fig. 38) permanecem na antera, além do endotécio, células epidérmicas volumosas contendo substâncias fenólicas (Fig. 41).

Estrutura do gineceu. O estigma é lobado e em cada lobo a epiderme é secretora com tricomas uni e bicelulares, seguida de tecido parenquimático com cavidades secretoras e um feixe vascular (Fig. 35-36). O estilete de contorno circular é constituído de epiderme unisseriada, glabra e estomatífera. Possui 1-2 camadas de tecido colenquimático e parênquima relativamente frouxo, com cavidades secretoras, 9-10 feixes colaterais e tecido transmissor central (Fig. 33-34). O estilete possui pequena fenda no centro e, logo acima do ovário, há lacunas contendo mucilagem, provenientes da ruptura de cavidades secretoras (Fig. 57). Na região basal, o estilete encontra-se unido ao hipanto (Fig. 53-58) e a epiderme difere por apresentar células papilosas ricas em açúcares redutores, semelhantes aos tricomas da epiderme interna do hipanto, nessa mesma região (Fig. 29, 31, 32). O tecido transmissor é formado por tecido epidérmico e subepidérmico, com células de citoplasma denso. Na região basal, o tecido transmissor adentra a cavidade ovariana, revestindo a parte superior (Fig. 49-50).

O ovário com bractéolas lanceoladas (Fig. 9, 10, 12) é ínfero, sincárpico, com 9-10 carpelos de contorno cilíndrico e com reentrâncias superficiais. Contém muitos óvulos de placentação parietal, que recobrem toda a superfície interna. O ovário é revestido pela epiderme, sendo a externa unisseriada (Fig. 20, 21) glabra com estômatos paralelocíticos (Fig.

27-28). O mesofilo é composto por células parenquimáticas de tamanho e formato variado com muitos grãos de amido (24-26), idióblastos com cristais de oxalato de cálcio (Fig. 25) e muitas cavidades secretoras lisígenas que fundem-se formando canais de mucilagem (Fig. 46). No mesofilo são visíveis duas regiões: uma externa, com parênquima clorofiliano, número maior de estratos de células de lume amplo, mais ou menos isodiamétricas e, uma interna, com células parenquimáticas aclorofiladas (Fig. 3), que se tornam gradativamente mais alongadas a medida que se aproximam da epiderme interna, onde ocorrem alguns idióblastos de conteúdo fenólico (Fig. 20). Os feixes vasculares de calibre menor ocorrem na região mais interna do mesofilo, com elementos vasculares de orientação diversa, sendo alguns, invertidos, com xilema voltado para a face externa. Feixes de calibre maior ocorrem na região mediana do mesofilo (Fig. 21-23, 49). A epiderme interna também é unisseriada com esparsos tricomas (Fig. 20, 47).

O óvulo é circinótrofo (Fig 45, 47), bitegumentado, crassinucelado e com longo funículo formado por células parenquimáticas (Fig. 47) e um único feixe vascular. O tegumento externo apresenta número variável de estratos celulares, ocorrendo número maior de camadas na região apical. A epiderme possui tricomas unicelulares, longos e de extremidade arredondada na região voltada à micrópila, ao longo do funículo (Fig. 47). O tegumento interno possui três estratos de células de tamanho menor, quando comparadas com aquelas do tegumento externo. A micrópila é limitada apenas pelo tegumento interno, na qual as células são mais amplas (Fig. 47, 48). O nucelo é constituído de células de paredes finas e bastante vacuolizadas, com evidências de divisão nas células mais superficiais (Fig. 48).

Discussão

A flor de *Epiphyllum phyllanthus* é bastante incomum dentre as Angiospermas, mas não difere muito do que já foi descrito para Cactaceae. Pelas características presentes na flor de *E. phyllanthus* como hipanto prolongado, coloração alva do perigônio, antese noturna com liberação de aroma adocicado e uma região nectarífera na superfície interna inferior do hipanto, presume-se que o principal agente polinizador dessa espécie sejam esfingídeos, pois para alcançar o néctar no fundo do hipanto, o polinizador precisa ter um longo aparelho bucal, como o das mariposas noturnas. Embora haja um grande número de espécies de Cactaceae com antese noturna, são poucos os trabalhos que tratam de biologia floral, sobretudo de polinização. Silva e Sazima (1995) relataram esfingofilia para *Cereus peruvianus* Miller, espécie que possui flor com atributos para visita de mariposas, semelhantes aos da flor de *E. phyllanthus*.

É notável a presença de cavidades mucilaginosas em todo o tecido parenquimático da flor, que vão aumentando de tamanho por processos lisígenos, durante o desenvolvimento da flor. A presença de cavidades mucilaginosas é uma característica comum citada em Cactaceae. A mucilagem pode desempenhar várias funções para a planta como reserva de açúcar, proteção, além de contribuir para economia de água (Trachtenberg e Mayer, 1981 a,b; Erdelská e Ovečka, 2004).

A grande quantidade de amido encontrado nos tecidos da flor, assim como demais substâncias sintetizadas pela planta, são necessárias para o desenvolvimento floral e, após a fecundação, para o desenvolvimento dos frutos e das sementes. Erdelská e Ovečka (2004) constataram que no caso da flor não ser fertilizada, grande parte desses nutrientes são reciclados pela planta mãe, mediante realocação das substâncias via floema, durante a senescência floral. Em híbridos de *Epiphyllum* analisados por Erdelská e Ovečka (2004) cerca de 42% da massa seca da flor pode ser reutilizado pela planta mãe, sendo considerado parte da estratégia de vida em Cactaceae, para sobreviver em ambientes xéricos.

Os cristais de oxalato de cálcio encontrados em idioblastos e nas cavidades secretoras dos tecidos da flor de *E. phyllanthus* são comuns em outras espécies da família, especialmente nos órgãos vegetativos (Metcalf e Chalk, 1979). Harti *et al.* (2007) estudaram 251 espécies e subespécies de Cactaceae com o objetivo de identificar possíveis relações entre dados cristalográficos e a ordem sistemática dentro de Cactaceae. A grande variedade encontrada, de formatos e tamanhos de cristais, não revelou padrão definido de distribuição entre os diferentes táxons da família.

As características embriológicas de *E. phyllanthus* são semelhantes às de outras espécies de Cactaceae, conforme registro de Johri *et al.* (1992). A antera jovem de *Epiphyllum phyllanthus* possui uma camada mediana, que foi verificado nos tipos de desenvolvimento da antera descritos por Davis (1966), denominados por dicotiledôneo e monocotiledôneo. Na espécie estudada, a antera parece apresentar desenvolvimento tipo monocotiledôneo, mas somente a ontogênese do desenvolvimento da antera pode confirmar essa suposição. Com relação ao saco embrionário *E. phyllanthus* deve enquadrar-se no tipo *Polygonum*, mas da mesma forma é necessário um estudo ontogenético do desenvolvimento embriológico para essa constatação. Strittmatter *et al.* (2002) descreveram o tipo *Polygonum* para *Consolea spinosissima* (Mill) Lemaire (Cactaceae), uma ocorrência comum a 81% das Angiospermas estudadas (Mariath *et al.*, 2006).

Em *E. phyllanthus*, durante a maturação das anteras, células epidérmicas tornam-se papilosas e com conteúdo fenólico, e permanecem até a deiscência com células ainda mais

volumosas, fato incomum, pois segundo Mariath *et al.* (2006) na maioria das Angiospermas durante a maturidade, as células epidérmicas sofrem colapso, compressão, distensão ou ruptura. Após a deiscência, por fendas longitudinais, a superfície interna do saco polínico fica exposta, enquanto a superfície externa, constituída de epiderme, aproxima-se a ponto de quase tocar na epiderme da outra teca.

O gineceu de *E. phyllanthus* possui ovário sincárpico unilocular, com as paredes carpelares perfeitamente fundidas aos tecidos do hipanto o que torna difícil definir o número de carpelos nesta espécie. Entretanto, foi estabelecido para esta planta, o número de 9-10 carpelos, com base no número de feixes que ocorrem na região apical do ovário, no número de feixes do estilete e, no número de lobos do estigma. Procedimento semelhante foi adotado por Saunders (1939), Boke (1964) e Roth (1977) para espécies de Cactaceae.

O óvulo é circinótrofo de curvatura acentuada. Na literatura o tipo de óvulo descrito para Cactaceae varia, sendo relatado circinótrofo por Strittmatter *et al.* (2002) e Paoli (2006), anátrofo a mais ou menos campilótrofo por Corner (1976), campilótrofo por Maheshwari (1971), anfítrofo por Rosa e Souza (2003), anátrofo, hemianátrofo, campilótrofo ou circinótrofo por Johri *et al.* (1992). Em *Consolea spinosissima*, o óvulo é circinótrofo, mas na maturidade assume uma falsa posição anátrofa, contudo ele continua completamente envolvido pelo funículo, sendo chamado de tegumento funicular (Strittmatter *et al.*, 2002).

No óvulo de *E. phyllanthus* foi evidenciado a presença de um funículo comprido e tricomas longos, de origem funicular e placentária, unicelulares de ápice arredondado e que estendem-se até a micrópila. Esses tricomas devem funcionar como obturador no processo de fecundação. Rosa e Souza (2003) também observaram pêlos no óvulo de *Pereskia aculeata* (Mill.), porém o funículo nesta espécie apresenta-se muito reduzido, ao contrário de *E. phyllanthus*. Normalmente na maioria das famílias de Angiospermas, o obturador forma-se no funículo, mas pode ter origem placentária como em *Nelumbo*, estilar em *Thymelaeaceae* e, ocasionalmente, tanto placentária quanto funicular, ocorrente também em *Aizoaceae* (Johri *et al.*, 1992).

A região da placenta normalmente é suprida por feixes vasculares ventrais ou adaxiais nas Angiospermas. Em Cactaceae não há feixes vasculares carpelares ventrais distintos, mas sim, um retículo complexo de feixes que se forma para suprir a região placentária (Roth, 1977). Na espécie estudada essa região tem vascularização semelhante, onde ocorrem feixes vasculares com orientação variável de xilema em relação ao floema, inclusive feixes totalmente invertidos.

Com referência à vascularização floral de *E. phyllanthus* foram considerados dois tipos de sistemas, um ascendente e outro recorrente, ambos com ramificações. O primeiro tipo, responsável pela vascularização de toda flor, é formado por feixes colaterais. O tipo recorrente, observado na porção mais interna do hipanto/ovário apresentou feixes vasculares invertidos de menor calibre, com o xilema primário voltado para a epiderme externa.

Na literatura há registros de outros estudos sobre a origem axial do hipanto como de Smith e Smith (1942) que baseados na vascularização floral, consideraram a natureza axial para o ovário inferior de *Darbya* (Santacaceae), embora essa interpretação tenha sido contestada pelos anatomistas da época. Por outro lado, Douglas (1944), em seu trabalho de revisão da natureza do ovário ínfero, relatou a aceitação de morfologistas da origem axial do hipanto, antes de 1940. Rosa e Souza (2003) também descreveram a presença de bractéolas verdes e aréolas portadoras de acúleos e pêlos em *Pereskia aculeata* como indicativos da sua natureza axial, baseados em Roth (1977).

O hipanto de *E. phyllanthus*, deve ser de natureza axial ou receptacular, considerando a presença de feixes invertidos e bractéolas em sua superfície, suposição baseada em Roth (1977) que relatou a formação de apêndices, como folhas e brácteas escamosas, e a presença de feixes invertidos nos ovários/frutos de Cactaceae, como caracteres que indicam a origem axial do hipanto nesta família.

Literatura citada

- Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Botanical Journal of the Linnean Society 141:399-436.
- Barthlott, W. e D. R. Hunt. 1993. Cactaceae. In The families and genera of vascular plants, v. 2, K. Kubitzki, J. G. Rohwer, and V. Bittrich (eds.). Springer-Verlag, Berlin. p. 161-197.
- Bauer, D. e J. L. Waechter. 2006. Sinopse taxonômica de Cactaceae epifíticas no Rio Grande do Sul, Brasil. Acta Botanica Brasilica 20(1):225-239.
- Boke, N. H. 1963. Anatomy and development of the flower and fruit of *Pereskia pititache*. American Journal of Botany 50:843-858.
- Boke, N. H. 1964. The cactus gynoeceium: a new interpretation. American Journal of Botany 51:598-610.

- Boke, N. H. 1966. Ontogeny and structure of the flower and fruit of *Pereskia aculeata*. American Journal of Botany 53:534-542.
- Boke, N. H. 1968. Structure and development of the flower and fruit of *Pereskia diaz-romeroana*. American Journal of Botany 55:1254-1260.
- Corner, E. J. H. 1976. The seeds of dicotyledons. Cambridge University Press, London. 1:311p; 2:552 p.
- Costa, A. F. 1972. Farmacognosia: farmacognosia experimental. V. III. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa. 512 p.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York. 1262 p.
- Davis, G. L. 1966. Systematic embryology of the angiosperms. Wiley, New York. 528p.
- Dickison, W. C. 2000. Integrative plant anatomy. Academic Press, San Diego. 533 p.
- Douglas, G. E. 1944. The inferior ovary. The Botanical Review. 10(3):125-186.
- Erdelská, O. e M. Ovečka. 2004. Senescence of unfertilized flowers in *Epiphyllum* hybrids. Biologia Plantarum. 48(3):381-388.
- Gerrits, P. O. 1991. The application of glycol methacrylate in histotechnology; some fundamental principles. Department of Anatomy and Embriology State University Groningen, Netherlands. 80 p.
- Harti, W. P., H. Klapper, B. Barbier, H. Ensikat, R. Dronskowski, P. Müller, G. Ostendorp, A. Tye, R. Bauer e W. Barthlott. 2007. Diversity of calcium oxalate crystals in Cactaceae. Canadian Journal of Botany 85:501-507.
- Jensen, W. A. 1962. Botanical histochemistry: principle and practice. W. H. Freeman, San Francisco. 408p.
- Johansen, D. A. 1940. Plant microtechnique. McGraw Hill Books, New York. 523 p.
- Johri, B. M., K. B. Ambegaokar e P. S. Srivastava. 1992. Comparative embryology of angiosperms. v. 1. Springer-Verlag. Berlin – Heidelberg. p. 232-236.

- Joly, A. B. 1998. Botânica – introdução à taxonomia vegetal. 12^a ed. Companhia Editora Nacional, São Paulo. 777 p.
- Judd, W. S., C. S. Campbell, E. A. Kellogg e P. F. Stevens. 2002. Plant systematics – a phylogenetic approach. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 464 p.
- Karnovsky, M. J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137-138.
- Kiesling, R. 1988. Cactaceae. *In* Flora Patagónica 5, Dicotiledoneas dialipétalas (Oxalidaceae a Cornaceae), M. N. Correa (ed.). Coleccion Científica Del INTA 8, Buenos Aires, Argentina. p. 218-243.
- Kimnach, M. 1964. *Epiphyllum phyllanthus*. *Cactus and Succulent Journal* 36:105-115.
- Maheshwari, P. 1971. An introduction to the embryology of angiosperms. Tata McGraw-Hill Publishing Company, New Delhi. 453 p.
- Mariath, J. E. A., R. P. Santos e N. S. Bittencourt Jr. 2006. Flor. *In* Anatomia vegetal, B. Appezzato-Da-Glória e S. M. Carmello-Guerreiro. (eds.). 2^a ed. Editora Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. p. 329-373.
- Metcalf, C. R. E L. Chalk. 1979. Anatomy of the dycotiledons. v. 1. Claredom Press, Oxford. 725 p.
- O'Brien, T. P.; N. Feder e M. E. Maccully. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *O Protoplasma* 59:368-373.
- Paoli, A. A. S. 2006. Semente. *In* Anatomia do fruto e da semente, Souza, L.A. (org). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa. p. 125-163.
- Rizzini, C.T. 1987. Cactáceas: os segredos da sobrevivência. *Ciência Hoje* 5(30):30-40.
- Rosa, M. M. e V. L. Scatena. 2007. Floral anatomy of Paepalanthoideae (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures. *Annals of Botany* 99:131-139.
- Rosa, S. M. e L. A. Souza. 2003. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Acta Scientiarum**,. Biological Sciences. 25(2):415-428.

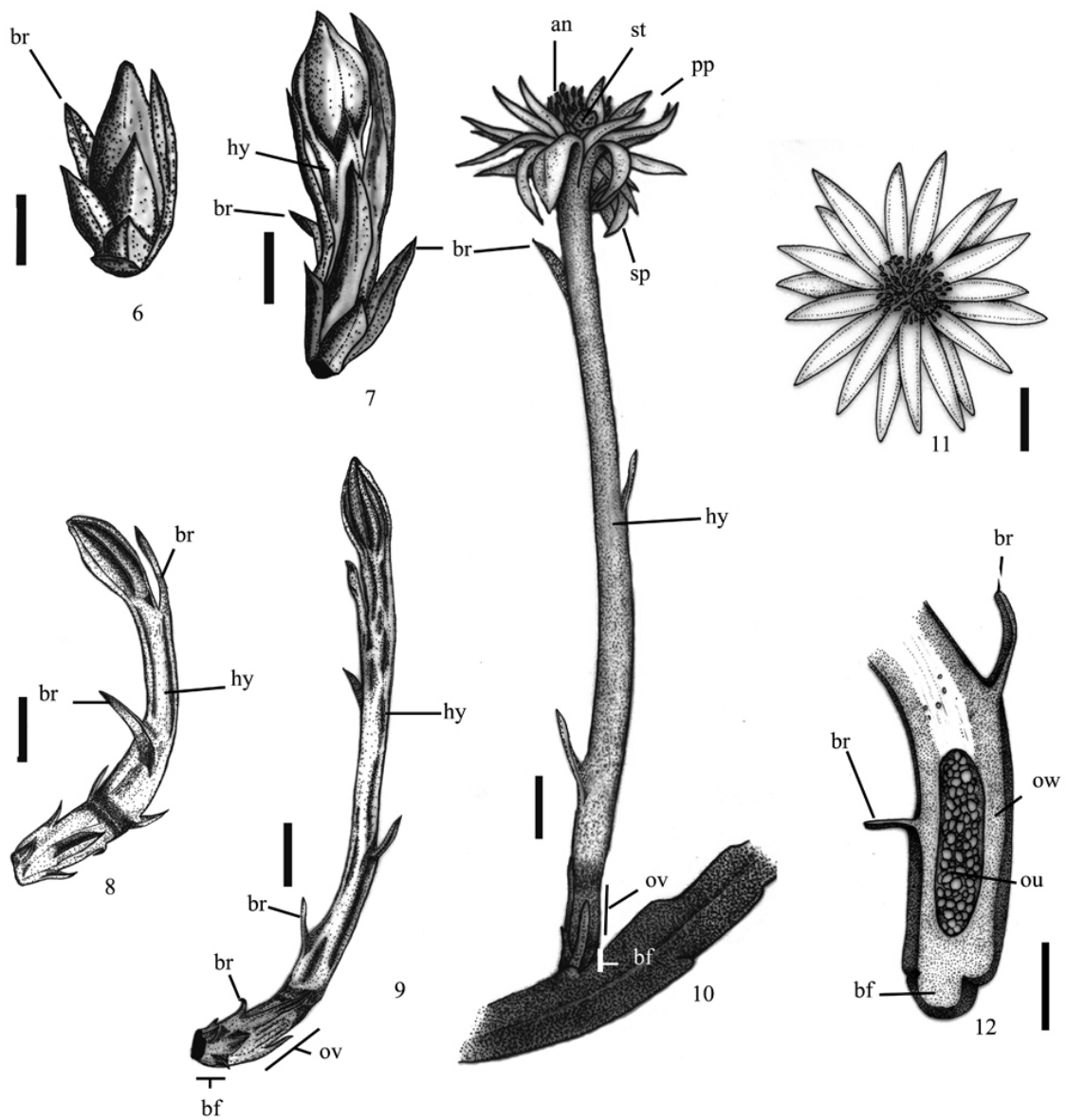
- Roth, I, 1977. **Fruits of angiosperms**. Gebrüder Borntrager, Berlin. 675 p.
- Rudall, P. J. e Sajo, M. G. Systematic position of *Xyris*: flower and seed anatomy. *International Journal of Plant Science* 160(4):795-808.
- Sass, J. E. 1951. *Botanical microtechnique*. 2nd ed. Iowa State University Press, Ames. 228p.
- Saunders, E. R. 1939. *Floral morphology a new outlook*. v. 2. W. Heffer & Sons LTD. Cambridge. 609 p.
- Smith, F. H. e E. C. Smith. 1942. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *American Journal of Botany* 29:464–471.
- Silva, W. S. e M. Sazima. 1995. Hawkmoth pollination in *Cereus peruvianus*, a columnar cactus from southeastern Brazil. *Flora* 190:339-343.
- Souza, L. A., S. M. Rosa, I. S. Moscheta, K. S. M. Mourão, R. A. Rodella, D. C. Rocha e M. I. G. A. Lolis. 2005. *Morfologia e anatomia vegetal técnicas e práticas*. Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa. 192p.
- Souza, L. A., I. S. Moscheta, K. S. M. Mourão e S. M. Rosa. 2004. Morphology and anatomy of the flower and anthesis of *Metrodorea nigra* St. Hill. (Rutaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47(1):107-112.
- Souza, L. A., I. S. Moscheta, K. S. M. Mourão e A. Silvério. 2001. Morphology and anatomy of the flowers of *Trichilia catigua* A. Juss., *T. elegans* A. Juss. and *T. pallida* Sw. (Meliaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 44(4):383-394.
- Souza, V.C. e H. Lorenzi. 2005. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII*. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 640 p.
- Strittmatter, L. I., V. Negrón-Ortiz e R. J. Hickey. 2002. Subdioecy in *Consolea spinosissima* (Cactaceae): breeding system and embryological studies. *American Journal of Botany* 89(9):1373-1387.
- Taylor, N. e D. Zappi. 2004. *Cacti of Eastern Brazil*. Royal Botanic Gardens Kew, England. p.190-192.

- Terrazas, T., M. Fuentes-Pérez, S. Arias e R. Kiesling. 2008. Diversidad em La Anatomía Floral de Opuntioideae. *In* Atualidades, desafios e perspectivas da Botânica no Brasil: Anais do 59^a Congresso Nacional de Botânica, M. I. B. Loiola, I. G. Baseia, e J. E. Lichston (orgs.). Imagem Gráfica, Natal. p. 480-481.
- Trachtenberg, S. e A. M. Mayer. 1981a. A stereological analysis of the succulent tissue of *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. I. Development of mucilage cells. – *Journal of Experimental Botany* 32:1091-1103.
- Trachtenberg, S. e A. M. Mayer. 1981b. A stereological analysis of the succulent tissue of *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. II. Ultrastructural analysis of the mucilage cells. *Journal of Experimental Botany* 32:1105-1113.
- Wallace, R. S. e C. Gibson. 2002. Evolution and systematics. *In* Cacti biology and uses, P. S. Nobel (ed.). University of California Press, Berkeley, CA. p. 1-21.
- Zappi, D., L. Y. S. Aona e N. Taylor. 2007. Cactaceae. *In* Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo, T. S. Melhem, M. G. L. Wanderley, S. E. Martins, S. L. Jung-Mendaçolli, G. J. Shepherd e M. Kirizawa (eds.). Instituto de Botânica, São Paulo. p. 163-193.

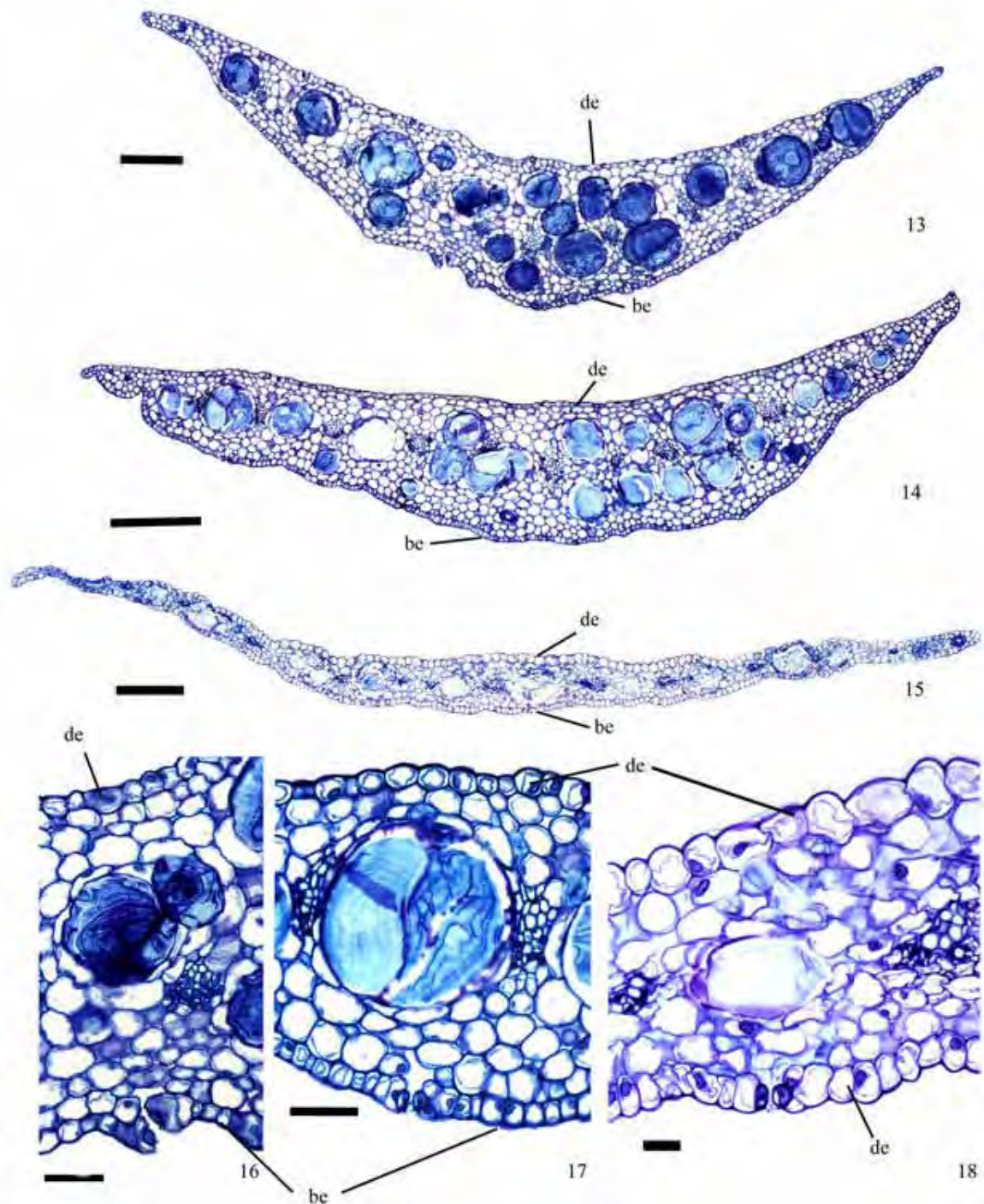
ILUSTRAÇÕES



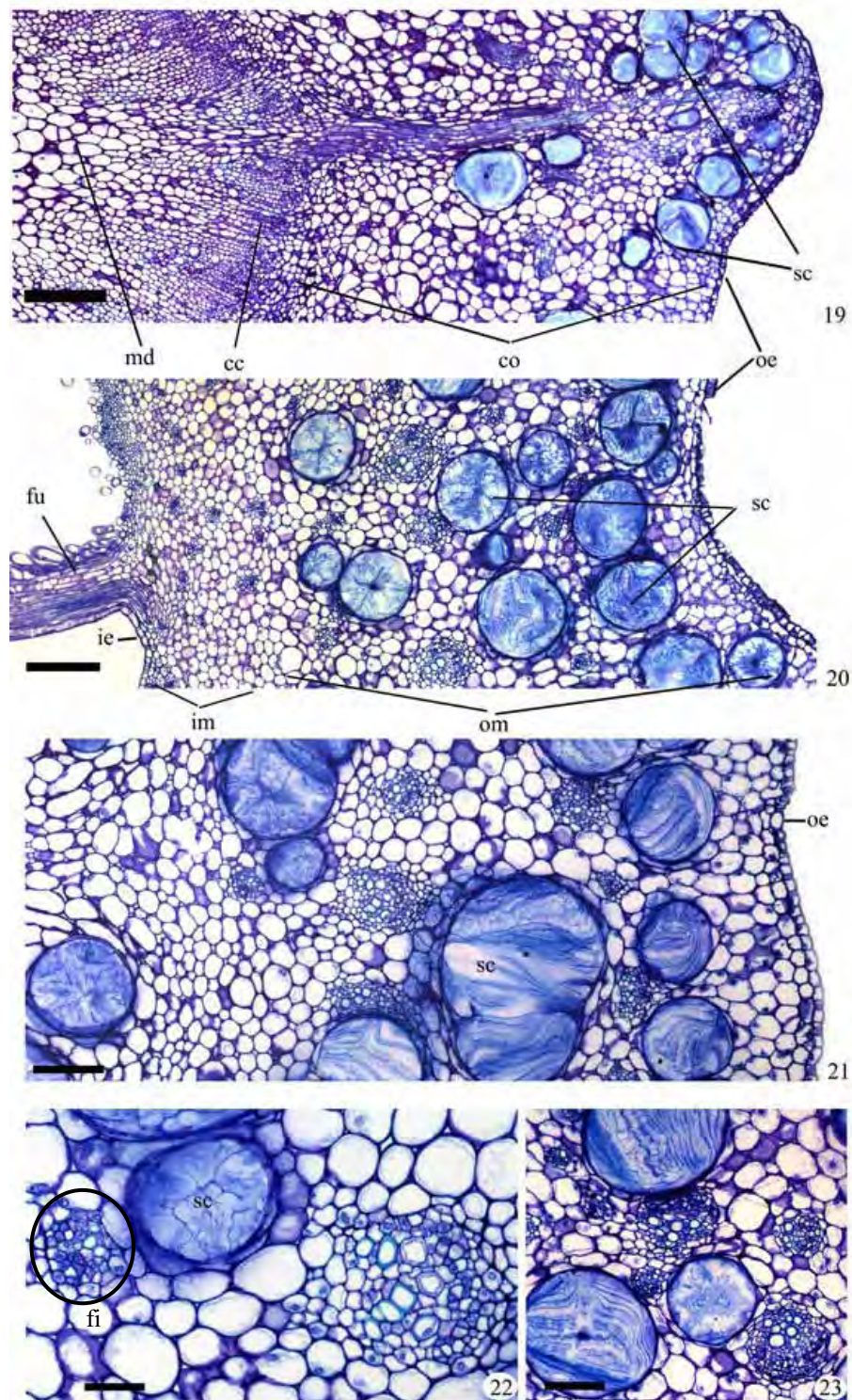
Figuras 1 a 5. Aspecto geral da planta e da flor de *Epiphyllum phyllanthus*. (L.) Haw. 1. Planta mostrando hábito epifítico, sobre tronco de *Ceasalpinia peltophoroides*. 2. Vista frontal da flor em antese. 3. Ovário em corte transversal de flor em antese. 4. MEV da flor em pré-antese em corte longitudinal. 5. Anteras e estigma. (an = anteras; br = bractéola; fu = funículo; hy = hipanto; ou = óvulo; im = mesofilo interno; om = mesofilo externo; pp = perigônio petalóide; sp = perigônio sepalóide; st = estigma; sy = estilete). Barras = 2 cm (1 e 2); 1cm (3); 500 μ m (4); 2mm (5).



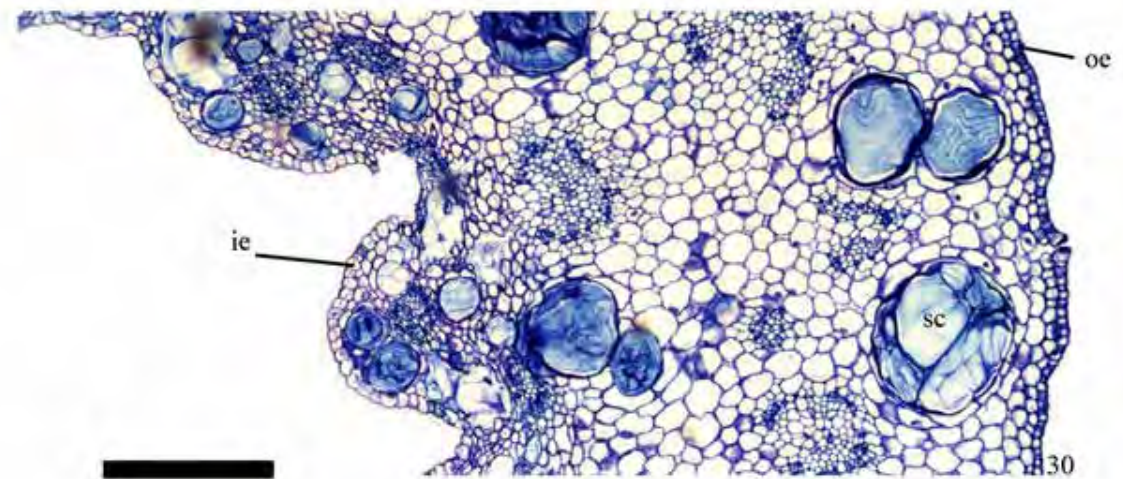
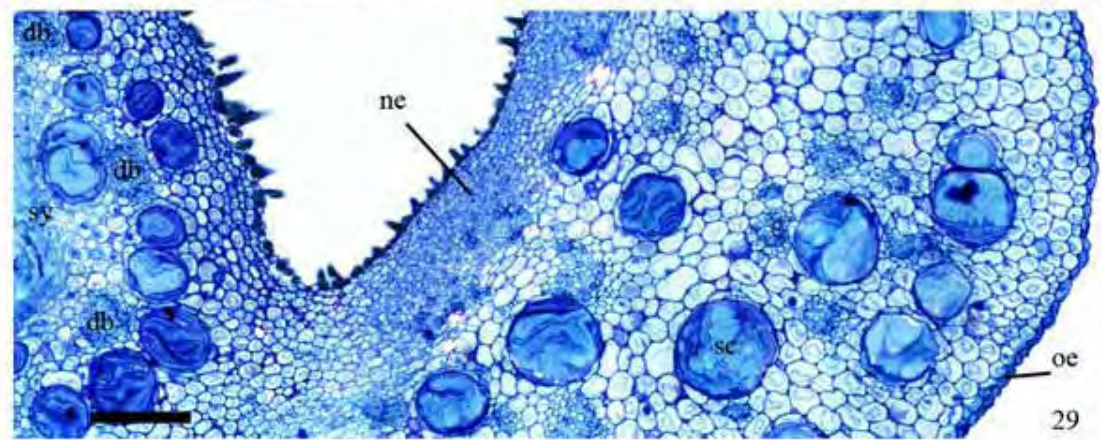
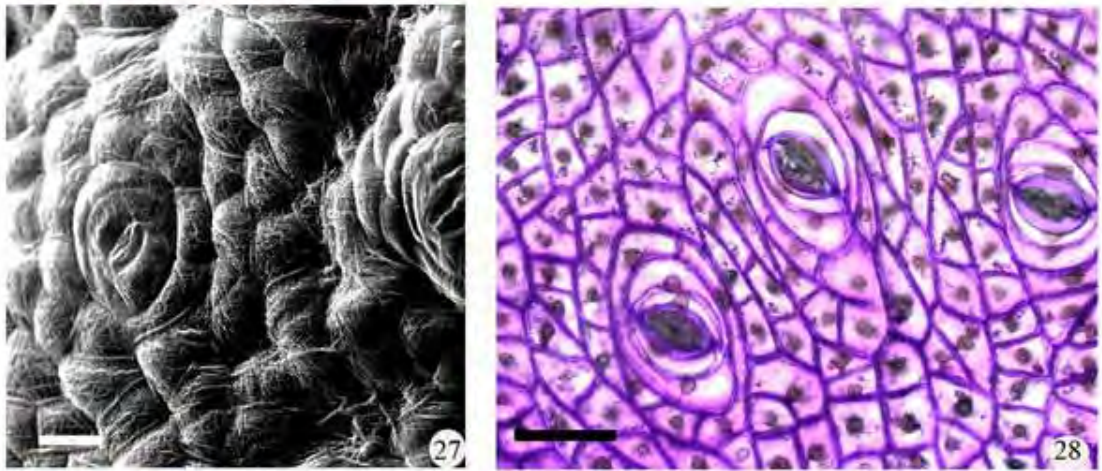
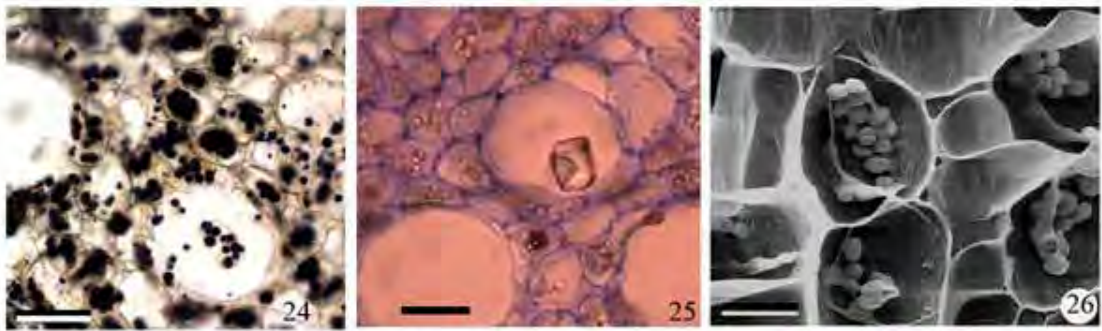
Figuras 6 a 12. Flor de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 6 a 9. Botões florais. 10. Flor em vista lateral. 11. Flor em vista frontal. 12. Região basal da flor em corte longitudinal. (an = antera; bf = região basal da flor -hipanto; br = bractéola; hy = hipanto; ov = ovário; ou = óvulos; ow = parede ovariana; pp = perigônio petalóide; sp = perigônio sepalóide; st = estigma). Barras = 2mm (6); 3mm (7); 10 mm (8, 9, 10 e 11); 5mm (12).



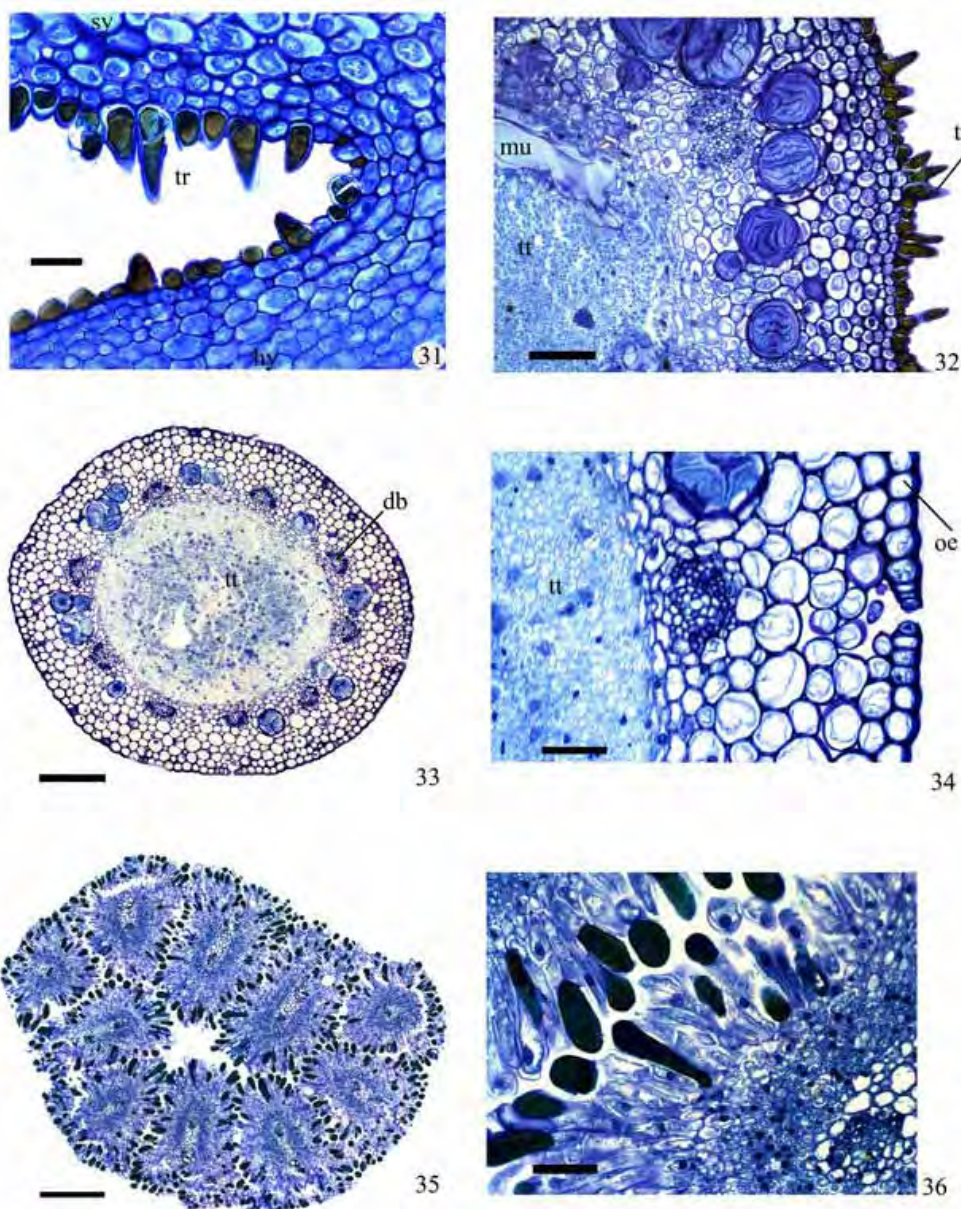
Figuras 13 a 18. Bractéola e perigônio de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em secções transversais. 13. Bractéola. 14. Perigônio sepaloide. 15. Perigônio petaloide. 16 a 18. Pormenores da bractéola, perigônio sepaloide, perigônio petaloide, respectivamente. (be = epiderme da face abaxial; de = epiderme da face adaxial). Barras = 300 μ m (13 e 14), 500 μ m (15), 60 μ m (16 e 17), 30 μ m (18).



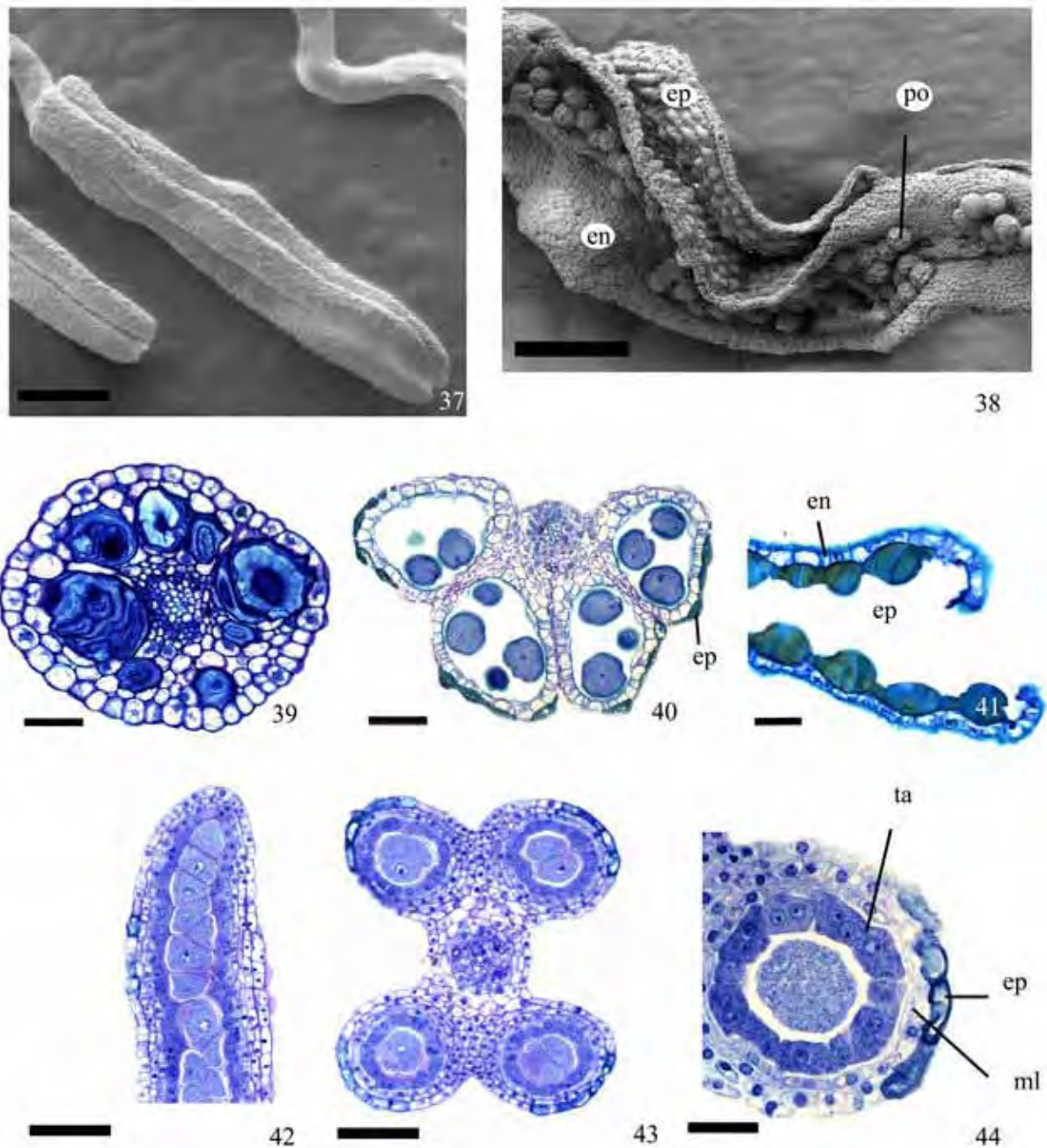
Figuras 19 a 23. Flor de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em secções transversais. 19. Região basal da flor -hipanto. 20. Ovário. 21. Ápice do ovário. 22 e 23. Detalhe de feixe vascular invertido e de feixes vasculares com orientação diversa do xilema, em relação ao floema. (cc = cilindro central; co = córtex; fi = feixe invertido; fu = funículo; md = medula; ie = epiderme interna; im = mesofilo, região interna; oe = epiderme externa; om = mesofilo, região externa; sc = cavidade secretora). Barras = 300µm (19), 150µm (20), 100 µm (21), 30 µm (22 e 23).



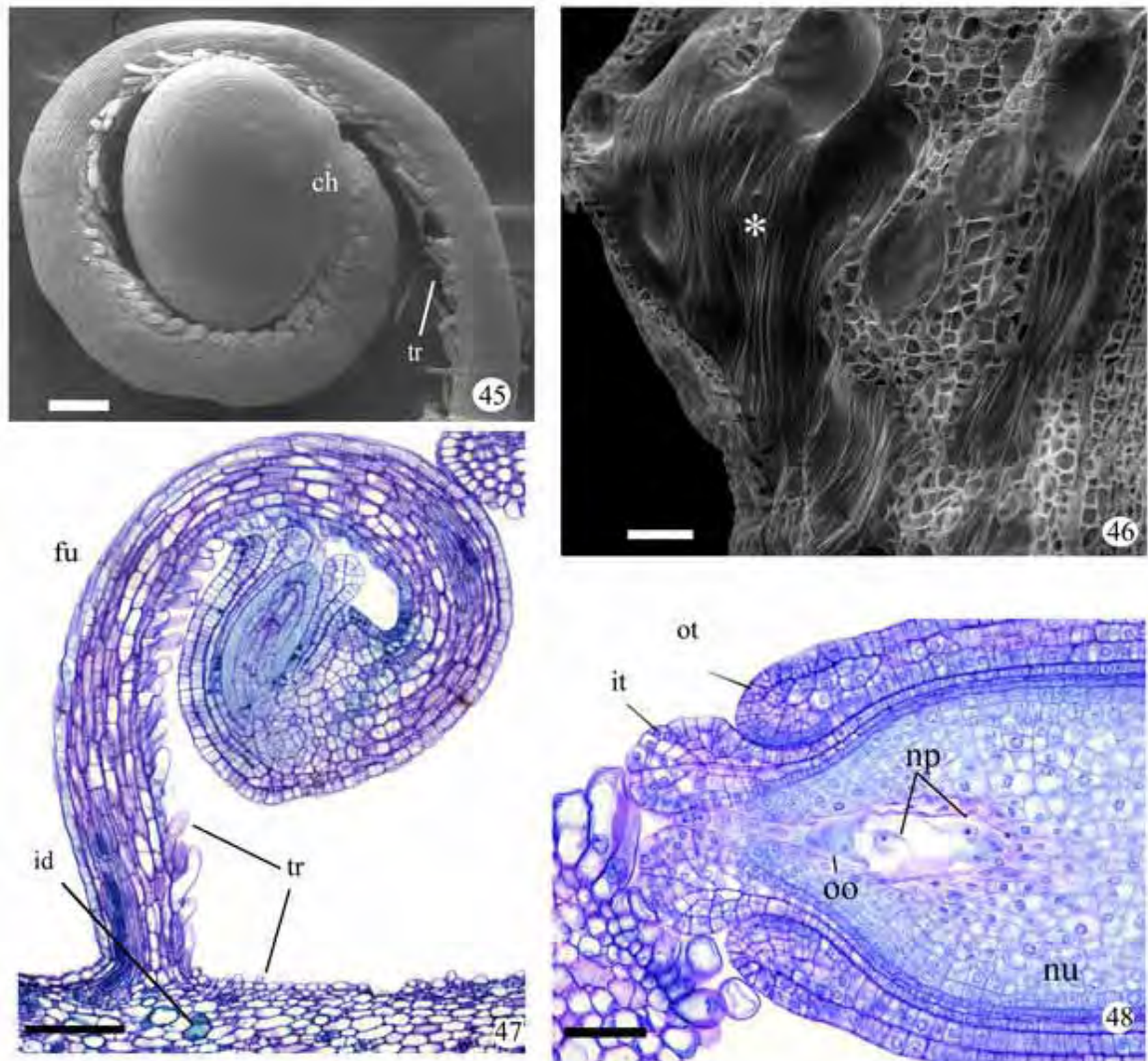
Figuras 24 a 30. Ovário e hipanto de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 24 e 25. Mesofilo do ovário em secções transversais, com amido e cristal. 26. Mesofilo ovariano com amido (MEV). 27. Superfície externa do ovário (MEV). 28. Secção paradérmica da epiderme externa do ovário. 29 e 30. Secções transversais. 29. Hipanto, região inferior, local de separação com estilete, notar a região nectarífera. 30. Ápice do hipanto. (db = feixes dorsais; ie = epiderme interna; ne = região nectarífera; oe = epiderme externa; sc = cavidade secretora; sy = estilete). Barras = 60 μ m (24 e 25), 5 μ m (26), 20 μ m (27), 60 μ m (28), 150 μ m (29 e 30).



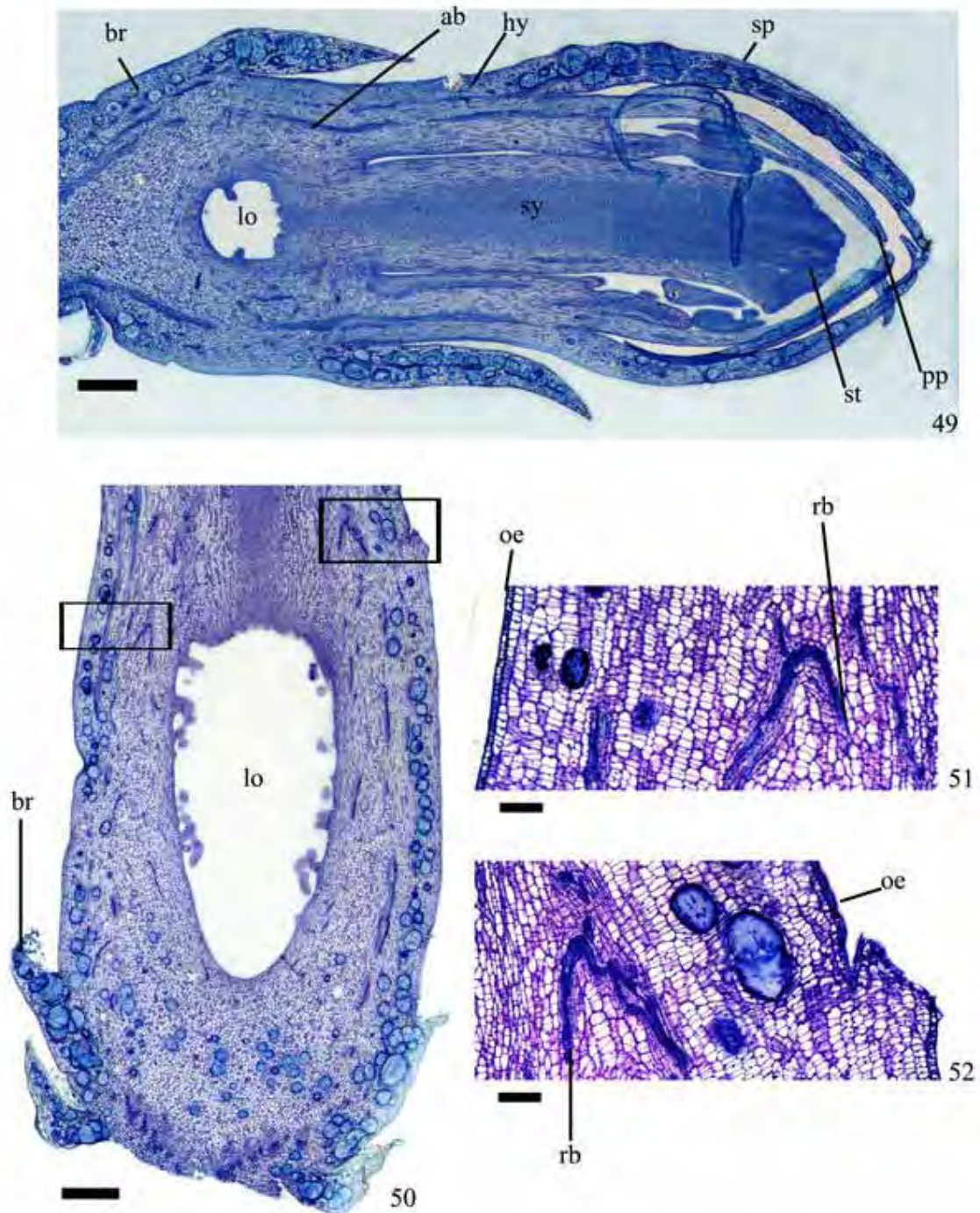
Figuras 31 a 36. Estilete e estigma de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em secções transversais. 31. Estilete, região basal, local de separação com o hipanto, com tricomas secretores. 32. Estilete, região basal. 33-34. Vista geral do estilete, região apical e pormenor. 35-36. Estigma e pormenor de lobos (db = feixes vasculares dorsais; hy = hipanto; mu = mucilagem; oe = epiderme externa; sy = estilete; tr = tricoma; tt = tecido transmissor). Barras = 60 μ m (31, 32 e 34), 100 μ m (33), 300 μ m (35), 50 μ m (36).



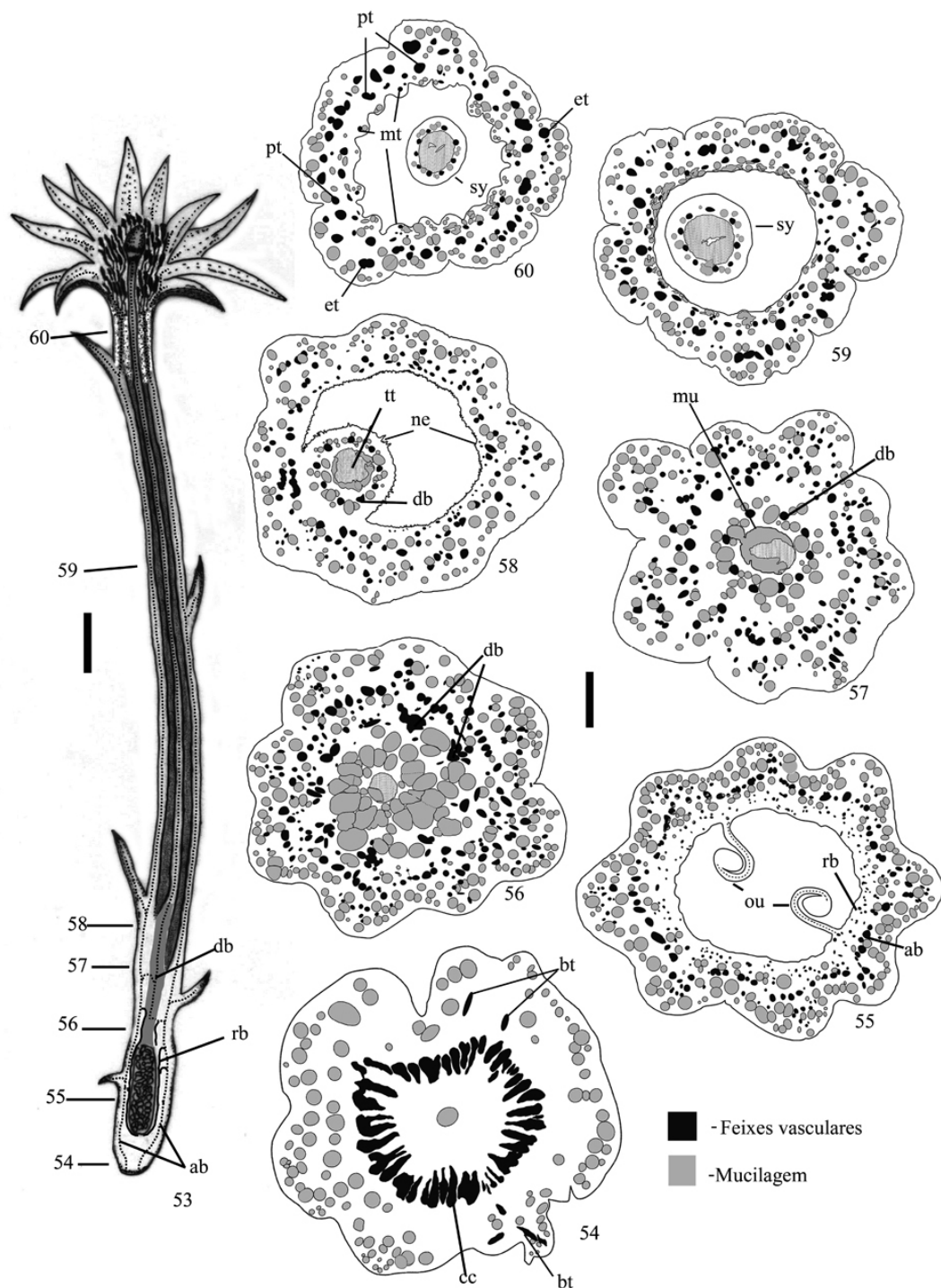
Figuras 37 a 44. Estame da flor de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em pré-antese e em antese. 37. Vista geral de estame (MEV). 38. Estame com grãos de pólen, após abertura da fenda longitudinal (MEV). 39 a 41. Secções transversais. 39. Filete. 40. Antera madura. 41. Parte da antera deiscente. 42. Pormenor de parte da teca de antera jovem em secção longitudinal. 43 e 44. Antera jovem e detalhe de parte da teca, em secção transversal. (ep = epiderme; en = endotécio; ml = camada média; po = pólen; ta = tapete). Barras = 100 μm (37, 38 e 41), 60 μm (39 a 40), 75 μm (42 e 43), 30 μm (44).



Figuras 45 a 48. Óvulo e ovário de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 45. MEV do óvulo em vista lateral. 46. MEV do mesofilo do ovário; notar cavidades secretoras formando canais (*). 47. Óvulo circinótropo, em secção longitudinal. 48. Detalhe do óvulo, em secção longitudinal. (ch = calaza; fu = funículo; id = idioblasto fenólico; it = tegumento interno; np = núcleos polares; nu = nucelo; oo = oosfera; ot = tegumento externo; tr = tricoma). Barras = 80 μ m (45), 100 μ m (46 e 47), 50 μ m (48).



Figuras 49 a 52. Botões florais em secções longitudinais de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 49. Vista lateral de botão floral muito jovem. 50. Região inferior de botão floral. 51 e 52. Pormenores da região logo acima do lóculo, lado esquerdo e direito, respectivamente, evidenciando feixes vasculares recorrentes. (ab = feixe vascular ascendente; br = bractéola; hy = hipanto; lo = lóculo; oe = epiderme externa; pp = perigônio petalóide; rb = feixe vascular recorrente; sp = perigônio sepalóide; st = estigma; sy = estilete). Barras = 150 μ m (49 e 50), 60 μ m (51 e 52).



Figuras 53 a 60. Diagramas de secções da flor de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em antese. 53. Secção longitudinal do flor. 54 a 60. Secções transversais. 54. Base da flor (hipanto). 55. Ovário. 56 e 57. Região supra-ovariana do hipanto. 58. Região onde o estilete começa a destacar-se. 59. Região mediana do hipanto. 60. Ápice do hipanto. (ab = feixes vasculares do sistema ascendente; bt = traço da bractéola; cc = cilindro central; db = feixes vasculares dorsais; et = traço do perigônio sepalóide; mt = traço do estame; mu = mucilagem; ne = nectário; ou = ovúlo; pt = traço do perigônio petalóide; rb = feixes vasculares do sistema recorrente; sy = estilete; tt = tecido transmissor). Barras = 10 mm (53) 1mm (54 a 60).

5. Capítulo II

Morfoanatomia e desenvolvimento do pericarpo e semente de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae)¹

¹ Segundo normas da revista *Acta Botanica Brasilica*

RESUMO - (Morfoanatomia e desenvolvimento do pericarpo e semente de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae)). *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. é uma espécie holopífita obrigatória, ocorrente em florestas tropicais. Objetivou-se a realização de estudo morfoanatômico e ontogenético do pericarpo e semente de *E. phyllanthus*. Flores e frutos em vários estádios de desenvolvimento foram coletados em Maringá (PR) e Rio Claro (SP), Brasil. O fruto é do tipo cactídio de coloração róseo-roxo brilhante e superfície lisa. Após a fecundação o ovário passa por uma fase de intensa atividade meristemática e de crescimento celular. O fruto maduro acumula concentração elevada de amido no pericarpo e na polpa. O precoce desenvolvimento da semente, bem como as características do fruto (retenção de água e mucilagem), podem propiciar um micro-ambiente favorável para a ocorrência de viviparidade. O óvulo é circinótroto, bitegumentado, crassinucelado, de funículo longo e endosperma nuclear. As sementes são campilótropas, pretas, de formato ovóides. A superfície externa ventral exibe relevo diferenciado, a região hilo-micropilar, que é de coloração esbranquiçada, onde ocorre arilo. O embrião é curvo com reserva lipoprotéica. Perisperma e endosperma persistem na semente madura, sem substâncias de reserva.

Palavras-chave: Anatomia, Arilo, Fruto, Região Hilo-Micropilar

ABSTRACT - (Morphoanatomy and development on the pericarp and seed of *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae)). *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. is an obligate holophyte species, occurring in tropical forests. The aim of this work was to carry out a morphoanatomic and ontogenetic study on the pericarp and seed of *E. phyllanthus*. Flowers and fruits in several development stages were harvested in Maringá, Paraná State, and Rio Claro, São Paulo State, Brazil. The fruit is “cactidio-type”, presenting bright pinkish-purple coloration and smooth surface. After fecundation, the ovary undergoes a phase of intense meristematic activity and cell growth. The mature fruit accumulates high amide levels in the pericarp and pulp. The early seed development, as well as the fruit characteristics (retention of water and mucilage), may provide a microenvironment favorable for viviparity. The ovule is circinotropous, bitegmatic, crassinucelate, with long funiculus and nuclear endosperm. The seeds are campylotropous, black and ovoid. The ventral part of their outer surface presents a differentiated relief: the hilum-micropylar region of whitish coloration with the aril. The embryo is curved with lipoprotein reserve. Perisperm and the endosperm persist in mature seeds and do not have reserve substances.

Key words: Anatomy, Aril, Fruit, Hilum-Micropylar Region

Introdução

Cactaceae *sensu* APG II (*Angiosperm Phylogeny Group* 2003), está inserida em Caryophyllales. *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. é uma espécie holopífita obrigatória e arborícola, conhecida vulgarmente como flor-de-baile (Britton & Rose 1963) e rainha-da-noite (Joly 1998). Apresenta ramos (filocládios) aplanados, às vezes triangulados na base, de coloração verde-escuro a verde-claro e margem crenada, grandes flores laterais, noturnas de coloração alva, frutos ovóides a oblongos roxo-róseo e sementes obovadas pretas com 3 a 4 mm (Bauer & Waechter 2006). O gênero apresenta ampla distribuição na América do Sul e possui cerca de 15 espécies (Barthlott & Hunt 1993; Bauer & Waechter 2006).

Estudos estruturais sobre frutos e sementes de Cactaceae são restritos, podendo ser mencionados os de Corner (1976) que registrou caracteres anatômicos de sementes; de Roth (1977) que apresentou análise do fruto, especialmente, a ontogênese do pericarpo, a partir de ovário ínfero; de Bregman & Bouman (1983) que estudaram a germinação da semente em 89 gêneros; de Barroso *et al.* (1999) que descreveram morfológicamente o fruto e a semente, com finalidade taxonômica; de Rosa & Souza (2003) que analisaram o desenvolvimento do fruto (pericarpo e semente) de *Pereskia aculeata* (Mill); e de Arias & Terrazas (2004) que elaboraram estudo sobre variação morfológica de sementes em *Pachycereus*.

O fruto das espécies de Cactaceae é complexo, pois várias peças florais podem participar da sua formação. A polpa pode originar-se do receptáculo, da própria parede do ovário, dos funículos e tricomas. No exterior do receptáculo podem ser encontradas brácteas e aréolas, que são de natureza axial (Roth 1977; Barroso *et al.* 1999). A classificação do fruto de Cactaceae varia na literatura, sendo considerado: baga, cápsula carnosa, acrosarcum, melonídio ou cactídio.

Viviparidade é um processo em que as sementes germinam dentro do fruto com subsequente desenvolvimento do embrião, antes das sementes serem dispersas da planta mãe, sendo um fenômeno pouco comum em Angiospermas (Farnsworth 2000). Foi registrado em menos de 100 famílias, representando menos de 0,1% das Angiospermas (Elmqvist & Cox, 1996). Em Cactaceae, a ocorrência de viviparidade foi relatada por Lombardi (1993), Cota-Sánchez (2004), Cota-Sánchez *et al.* (2007) e especificamente em *E. phyllanthus* por Conde (1975) e Cota-Sánchez & Abreu (2007).

A biologia reprodutiva em Cactaceae foi estudada em menos de 10% dos táxons e, esta limitada quantidade de dados, impede melhor entendimento dos mecanismos reprodutivos na família (Cota-Sánchez 2007). Assim, este trabalho teve como objetivo o estudo morfoanatômico e ontogenético do pericarpo e semente de *E. phyllanthus*,

contribuindo com informações sobre sua biologia reprodutiva. Além disso, as informações estruturais, associadas às moleculares, poderão ser utilizados para estudos de filogenia e taxonomia da família. É oportuno ressaltar, ainda, que a combinação dessas informações poderá, de acordo com Wallace & Gibson (2002), auxiliar no estabelecimento de uma classificação prática e útil da família, incorporando relações evolucionárias e suas hierarquias.

Material e métodos

Flores e frutos em vários estádios de desenvolvimento de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. foram coletados no Parque do Ingá (fragmento de Mata Atlântica) e seu entorno, em Maringá (PR), Brasil e no *campus* da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” de Rio Claro (SP), Brasil. Ramos férteis foram herborizados e depositados no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM) e no Herbário Rioclarense (HRCB), sob registros 12.673 HUEM, 48.936 HRCB e 48.937 HRCB.

A análise morfológica do fruto e da semente foi efetuada em material botânico fresco e/ou fixado em FAA 50 (Johansen 1940), com auxílio de microscópio estereoscópico Leica®. As ilustrações foram obtidas através de desenhos e fotomicrografias (câmera digital). Foram medidos com auxílio de paquímetro (cm) e pesados (g) em balança de precisão 30 frutos maduros e 150 sementes de *E. phyllanthus*.

Para o estudo anatômico, frutos e sementes, em vários estádios de desenvolvimento, foram fixados em FAA 50 e armazenados em etanol 70%. As amostras foram desidratadas em série etílica, infiltradas em historresina (Gerrits 1991), seccionadas transversal e longitudinalmente em micrótomo de rotação, coradas com azul de toluidina a 0,05%, pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1964) e montadas em resina sintética – Entellan®.

Secções a mão livre, de material a fresco e fixado, foram submetidas aos seguintes reagentes/corantes, para testes histoquímicos: Lugol para detecção de amido; cloreto férrico, acrescido de carbonato de cálcio, para verificar a ocorrência de substâncias fenólicas, Sudan IV, para localização de substâncias lipídicas (Johansen 1940); floroglucinol acrescido de ácido clorídrico, para evidenciar paredes lignificadas (Sass 1951); azul de metileno para evidenciar mucilagem (Costa 1972; Souza *et al.* 2005); vermelho de rutênio, para identificar polissacarídeos diversos e pectinas (Jensen 1962) e azul mercúrio de bromofenol, para a verificação de proteínas (Mazia *et al.* 1953).

A ilustração anatômica foi obtida através de captura de imagem em fotomicroscópio Leica®, utilizando o programa Leica IM50, versão cinco.

A análise da superfície do fruto e da semente foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) Zeiss®, DSM 940A, equipado com captura de imagem, no laboratório do núcleo de apoio à pesquisa em microscopia eletrônica aplicada à pesquisa agropecuária (NAP/MEPA) da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP), sendo as amostras fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky 1965) e FAA50.

Para a descrição dos resultados foram utilizadas as terminologias de Buxbaum (1955), Engleman (1960), Corner (1976), Roth (1977) e Barroso *et al.* (1999). Para a definição das camadas do pericarpo foi adotado o conceito de Roth (1977), *stricto sensu*, onde a epiderme externa do ovário originou o exocarpo, o mesofilo ovariano o mesocarpo e a epiderme interna o endocarpo. Para descrição da semente, a região entre o hilo e a micrópila foi tratada como região hilo-micropilar (RHM), conforme as denominações de Buxbaum (1955) e Engleman (1960). A classificação do embrião baseou-se em Martin (1946).

Deve ser salientado que nesta espécie, no ovário ínfero, não existe delimitação precisa entre os tecidos do hipanto e ovário, por estarem unidos. Assim, essas regiões na flor e no fruto de *E. phyllanthus* foram denominadas, considerando-se a localização topográfica.

Resultados

Morfologia do fruto. O fruto é derivado de flor monoclina, actinomorfa, epígina, unilocular, com 9-10 carpelos. Após a fecundação, o perigônio e grande parte do hipanto senescem e destacam-se (Fig. 2-4), permanecendo a parte inferior da flor, resultando num fruto de natureza carpelar e receptacular/axial. As bractéolas foliáceas, que na flor ocupam parte considerável da superfície externa (Fig. 1, 2, 6, 7), no fruto maduro são pequenas e atrofiadas.

O fruto jovem mantém-se verde e com bractéolas. O fruto maduro é do tipo cactídeo; de formato ovóide-oblongo, coloração róseo-roxo brilhante; superfície lisa, exceto onde ocorrem as bractéolas. O fruto possui oito lobos, mais ou menos pronunciados. As dimensões dos frutos foram: comprimento médio de 7,88 cm (mín. 6,73 e máx. de 9,11 cm), largura média de 2,36 cm (mín. 1,7 e máx. de 2,8 cm) e peso médio de 18,84 g (mín. 13,03 e máx. de 26,44 g) (Fig. 4-5, 9-14).

Anatomia e desenvolvimento do pericarpo. O ovário, revestido por epiderme unisseriada, glabra e estomatífera, possui mesofilo composto por células parenquimáticas de tamanho e formato variados com cavidades secretoras lisígenas contendo mucilagem. É possível distinguir, no mesofilo, duas regiões (Fig. 8) : uma externa, com parênquima clorofiliano, com número maior de estratos de células de lume amplo, mais ou menos isodiamétricas e, outra interna, com células parenquimáticas aclorofiladas, que tornam-se, gradativamente, mais

alongadas sob a epiderme interna, onde ocorrem idioblastos de conteúdo fenólico. Em todo o mesofilo há presença de grãos de amido. A epiderme interna do ovário é unisseriada com esparsos tricomas. Apenas na região acima da cavidade ovariana é possível observar diferenciação de feixes dorsais (em número de nove ou dez) que vascularizam o estilete e o estigma.

Após a fecundação tem início uma intensa atividade meristemática em quase todas as células do ovário, inclusive nas epidermes (externa e interna). As divisões celulares ocorrem ao longo de todo o fruto, mas as divisões anticlinais são mais frequentes e intensas na região central, onde desenvolvem-se as sementes e a polpa do fruto. Na base e ápice do fruto, as divisões ocorrem em variados planos e, as células resultantes têm dimensões menores. Assim, o fruto adquire formato de ovóide a oblongo (Fig. 12, 13, 15, 16).

No exocarpo ocorrem apenas divisões anticlinais. Durante o desenvolvimento do fruto o exocarpo permanece unisseriado, variando um pouco no tamanho e formato das células, mas sempre com células menores que as das camadas adjacentes ao mesocarpo (Fig. 25-28). Os complexos estomáticos são paralelocíticos (Fig. 21) e as células epidérmicas comuns, em secção paradérmica, apresentam tamanho e formato variados, com parede celular reta e com depósito de ceras epicuticulares (Fig. 22-24).

O mesocarpo (tecido carpelar e receptacular/axial) é parenquimático e permanece com duas regiões distintas: uma externa clorofilada e, outra interna, com células aclorofiladas onde ocorrem feixes vasculares colaterais de pequenos calibres e feixes recorrentes. Entre as duas regiões encontram-se feixes vasculares colaterais de grande porte, que circundam todo o mesofilo (Fig. 25-28).

A epiderme interna do ovário é comprimida durante o desenvolvimento do fruto, pelo crescimento das sementes e dos funículos. Na região placentária, as células epidérmicas aumentam de tamanho, juntamente com as células do funículo e, algumas tornam-se idioblastos fenólicos e mucilaginosos (Fig. 16, 20, 25-28).

Na região basal do fruto jovem, o exocarpo apresenta células epidérmicas pouco maiores, que na região central, predominantemente, maiores na largura que no comprimento. O mesocarpo é parenquimático, com muitas cavidades secretoras, feixes vasculares de grandes calibres estão dispostos lado a lado formando um cilindro central, com formação de câmbio vascular (Fig. 18).

Na região apical do fruto (Fig. 17, 19), o exocarpo apresenta células de tamanho e formato variados. O mesocarpo possui células menores que as da base e do meio, com muitas cavidades secretoras e feixes vasculares de vários calibres com orientação diversa do xilema.

Na porção interna do mesocarpo destacam-se nove ou dez feixes vasculares dorsais. As cavidades secretoras juntam-se formando uma faixa mucilaginosa, na região apical extrema do fruto, envolvendo algumas camadas de células parenquimáticas e um aglomerado de restos celulares provenientes do tecido transmissor e de tubos polínicos.

Quando cessa o período curto de divisão celular, as células do pericarpo iniciam o processo de crescimento. O exocarpo continua unisseriado, sendo que as células alongam-se e, algumas diferenciam-se em esparsos idioblastos fenólicos. O mesocarpo continua com duas regiões parenquimáticas distintas durante todo desenvolvimento: na região externa, as células sempre são maiores, com quantidade maior de cavidades secretoras e muitos feixes vasculares; na região interna, o tecido é mais compacto, as células permanecem menores, mais alongadas e sofrem compressão, devido ao desenvolvimento das sementes e da polpa. Há poucas cavidades secretoras e a quantidade de idioblastos fenólicos aumenta nas camadas próximas ao endocarpo. Feixes vasculares colaterais de calibre maior continuam na região mediana do pericarpo. A quantidade de elementos floemáticos é maior que a dos xilemáticos, tanto nos feixes maiores como nos menores (Fig. 20, 26, 28).

A região interna do pericarpo em contato com a testa da semente tem suas células comprimidas e rompidas. Na região placentária, as células da placenta e do funículo tornam-se amplas, células secretoras de mucilagem formam cavidades e, a quantidade de idioblastos fenólicos aumenta (Fig. 26).

No fruto desenvolvido próximo à maturação, as células parenquimáticas do pericarpo chegam ao seu tamanho máximo com paredes muito finas (Fig. 28), o tecido torna-se frouxo tanto na região externa como na interna. Fendas são formadas devido ao afrouxamento do tecido e o rompimento de algumas células parenquimáticas. Essas fendas são preenchidas por mucilagem e podem atravessar todo o mesocarpo.

Na maturidade do fruto, a polpa é composta por uma massa mucilaginosa de coloração branca (Fig. 12), proveniente do rompimento das cavidades e células secretoras, restos celulares e feixes vasculares, originados dos tecidos funiculares (Fig. 13, 14).

Durante todo o desenvolvimento do fruto há muita secreção de mucilagem, que acumula-se nas cavidades que vão unindo-se e formando grandes canais de origem lisígena envolvendo toda a semente (Fig. 13, 14, 25).

O amido observado no mesofilo ovariano, durante o desenvolvimento do fruto, acumula-se em maior quantidade nas camadas internas do mesocarpo, endocarpo e funículo, persistindo também no fruto maduro.

Morfologia da semente. O ovário possui 224 óvulos ou rudimentos seminais em média (mín. 189 e max. 268) e o fruto maduro 189 sementes em média (mín. 153 e max. 233). As sementes apresentam comprimento médio de 4,12 (mín. 3,70 e máx. 4,90 mm), largura média de 2,51 mm (mín. 2,20 e máx. 2,80 mm) e peso médio de 0,007 g/semente (média de 0,0739 por 10 sementes). As sementes maduras são campilótropas, pretas, de formato ovóide. A superfície externa é ornamentada (Fig. 45-50); na parte ventral da semente existe uma área com relevo diferenciado: a região hilo-micropilar (RHM) de coloração esbranquiçada, onde é possível observar o arilo. O hilo é muito discreto e a micrópila não é visível. Apresenta restos do endosperma e do perisperma no centro de curvatura do embrião (Fig. 40, 51). O embrião que preenche quase totalmente a semente apresenta eixo embrionário curvo, onde estão inseridos dois cotilédones justapostos e convexos, sendo o interno menor (Fig. 40, 51).

Anatomia e desenvolvimento da semente. A placentação é parietal e, logo no início da formação do óvulo (flor em pré-antese) é possível evidenciar dois tegumentos e um funículo consideravelmente longo. O primórdio ovular apresenta curvatura de mais ou menos 90° em relação à superfície interna do ovário. Com o desenvolvimento o funículo cresce muito, por divisões anticlinais, resultando em um óvulo de acentuada curvatura, circinótrofo, crassinucelado e bitegumentado, vascularizado por um feixe que percorre o funículo até a calaza (Fig. 29-31).

Logo no início do desenvolvimento do óvulo, os dois tegumentos já diferenciam-se. O tegumento interno apresenta três estratos de células de tamanho menor, quando comparadas com as do tegumento externo e, delimita sozinho a micrópila. O tegumento externo por sua vez, é assimétrico; o crescimento é mais rápido na região dorsal, ou seja, nos pontos mais afastados do centro de curvatura do óvulo. Apresenta número variável de camadas celulares, na região ventral. Nessa região, o amadurecimento das células é mais lento e o número de camadas é maior, produzindo uma aparente fusão com o tecido funicular na RHM. Na epiderme ventral do longo funículo as células diferenciam-se em tricomas, desde a base funicular até a micrópila (Fig. 30-32), constituindo um obturador que se degenera após a antese. Durante o desenvolvimento do óvulo e da semente, é visível uma cutícula entre o tegumento externo e o interno.

Após a fecundação, o zigoto inicia o processo de divisão celular. O endosperma é nuclear e os tegumentos começam a diferenciar-se (Fig. 33-35). As células da exotesta, exceto na região da micrópila e da calaza, vão tornando-se maiores e começam a acumular substâncias fenólicas. A mesotesta e a endotesta permanecem com células de paredes delgadas. Na camada interna do tégmen, as células alongam-se periclinalmente, e também

acumulam substâncias fenólicas. O meso e o exotégmen permanecem com células de paredes delgadas (Fig. 33, 35-37). O nucelo persiste e apresenta evidências de divisões celulares.

No fruto jovem, quando o pericarpo está em fase de divisão celular, a semente apresenta pró-embrião de formato globular, com evidente suspensor (Fig. 36, 37), nucelo persistente (perisperma) e núcleos endospermicos em proliferação (Fig. 33, 34, 36). As células da exotesta começam a formar parede secundária e vão alongando-se, passando de cubóides para prismáticas. Na RHM, a diferenciação do tegumento externo é diferente (Fig. 36-38). A camada externa da testa permanece com células de paredes delgadas e, uma faixa de células de tamanho reduzido no meio da mesotesta lignifica-se

Quando o pericarpo cessa as divisões celulares e passa para a fase de crescimento celular, a semente imatura apresenta embrião com suspensor ainda visível. O perisperma persistente restringe-se a poucas camadas de células comprimidas sob o endotégmen e no centro de curvatura do embrião. O endosperma é bastante desenvolvido e está sendo consumido, neste estágio (Fig. 26, 38). As células da exotesta estão diferenciadas, apresentando tamanho e formatos variados. Em secção longitudinal da semente jovem, é possível notar na exotesta, células mais baixas que alternam-se entre células mais altas (Fig. 38, 40), resultando na superfície ornamentada do tegumento da semente madura (Fig. 45-50). As células da exotesta em secção transversal apresentam contorno circular, parede secundária espessada e lume muito reduzido (Fig. 39). A RHM fica mais evidente.

Muito antes do amadurecimento do fruto, a semente já está formada, com embrião totalmente desenvolvido e ocupando quase todo interior. A exotesta está diferenciada em células com paredes muito lignificadas e, as demais camadas da testa e do tégmen são comprimidas pelo crescimento do embrião. O endotégmen está suberificando-se. Na RHM, as camadas externas da testa que não se lignificaram, permanecem com paredes delgadas e de formato isodiamétrico, juntamente com algumas células do funículo, formam o arilo. O exotégmen e o mesotégmen são comprimidos e, o endotégmen persiste suberificado (Fig. 41).

Na semente madura, as células da exotesta são lignificadas, com lume muito reduzido e de formato variando de prismático a trapezoidal (Fig. 42-44). As camadas do tégmen junto com células do perisperma formam uma película fina que envolve todo embrião terminando na micrópila. Na RHM é visível uma depressão no tegumento da semente, a taça hilar, resultante da contração das células do funículo e das camadas externas da testa, nesta região. Toda a taça hilar é circundada por uma elevação (cômoro), formada por células do tegumento externo, contíguas a RHM, que são mais espessas que as demais. Os resíduos de endosperma e perisperma permanecem (Fig. 40-41, 51).

No embrião, a protoderme é formada por células de formato cubóide; no ápice radicular as células são alongadas no sentido anticlinal. O mesofilo formado pelo meristema fundamental é homogêneo; os cordões procambiais estão imersos no meristema fundamental e no eixo embrionário origina-se um cordão procambial para cada cotilédono. O embrião apresenta proteínas e lipídeos.

Discussão

O fruto jovem de *Epiphyllum phyllanthus* mantém-se verde e com bractéolas que persistem no fruto maduro, muito distanciadas umas das outras, devido ao crescimento do pericarpo. O fruto não apresenta tricomas, como ocorre em algumas espécies de *Opuntia* e *Pereskia*. Os complexos estomáticos paralelocíticos, persistentes no fruto maduro de *E. phyllanthus*, são do tipo predominante em Cactaceae, segundo Eggli (1984). A deposição de cera epicuticular formando crostas, na superfície do fruto, é comum à família (Barthlott *et al.* 1998), sendo observado também a formação de grânulos de cera com formatos isodiamétricos nas proximidades da abertura estomática.

A tipologia dos frutos em Cactaceae difere bastante na literatura (Tabela 1). Embora muitos autores os considerem como baga, Souza (2006) reservou essa denominação para fruto simples, também carnoso, porém proveniente de ovário súpero. Spjut (1994) caracterizou o fruto das cactáceas como acrosarcum (extremamente carnoso), ainda que tenha citado como sinônimos: baga, cactídio e nukulânio. Ele referiu-se ao fruto como sendo simples, indeiscente, com pericarpo indiferenciado (sem endocarpo pétreo), envolto por exocarpo carnoso derivado de perianto ou receptáculo. Barroso *et al.* (1999), por sua vez, incluíram o fruto de Cactaceae como melanídio: fruto originado de ovário súpero ou ínfero, com espaço central sem delimitação de lóculos ou, se dividido em lóculos, estes são mais ou menos amplos e não há aumento visível do tecido placentário, com tecido que preenche a cavidade do fruto, geralmente de coloração amarela. Souza (2003), com base em Hertel (1959), preferiu classificar o tipo melanídio como fruto que deriva apenas de ovário ínfero, com um a três carpelos. O enquadramento do fruto de *E. phyllanthus* como pomáceo, tipo cactídio, foi baseado em Souza (2006) devido às características, como fruto simples, carnoso, originado de ovário ínfero, pluricarpelar (9-10 carpelos), unilocular, plurispérmico, de parede de origem dupla: carpelo e hipanto.

A polpa em *E. phyllanthus* tem origem placentária e, principalmente, funicular. Durante o desenvolvimento do fruto de *E. phyllanthus* não há formação de columela, como

acontece em *Pereskia aculeata* citado por Boke (1966) e Rosa & Souza (2003), que participa, ainda, na formação da polpa no amadurecimento do fruto.

A função do obturador é direcionar o tubo polínico até a micrópila (Werker 1997). Pode variar em estrutura e origem, em óvulos com funículo evidente. O obturador é geralmente de origem funicular, enquanto que em óvulos mais sésseis, é derivado da placenta ou da combinação da placenta e do funículo (Bouman 1984). Os tricomas que existem no longo funículo de *E. phyllanthus*, provavelmente, constituem um obturador.

Em Cactaceae, grãos de amido são comuns no funículo, mas não no óvulo ou semente e, geralmente com a perda de grãos de amido, dos tricomas funiculares, com o crescimento rápido da semente, a maioria das células do funículo cresce grandemente e a polpa funicular ocupa grande espaço do fruto maduro (Engleman 1960). Eventos semelhantes ocorrem em *E. phyllanthus*, exceto pelo fato da polpa funicular conter concentração elevada de amido até no fruto maduro. Essa concentração de amido pode estar associada à dispersão ornitocórica em *E. phyllanthus*.

Durante o desenvolvimento do fruto e da semente de *E. phyllanthus* podem ser observadas algumas características favoráveis à viviparidade, tais como: fruto relativamente grande, pericarpo e polpa carnosos, mucilaginosos e úmidos, além do desenvolvimento precoce da semente, com um embrião que ocupa quase todo seu interior com reservas nutritivas próprias. Segundo Cota-Sánchez (2004); Cota-Sánchez & Abreu (2007), a anatomia dos frutos de várias cactáceas vivíparas fornece uma série gradual de oportunidades para o estabelecimento das plântulas. Entre outros fatores, a viviparidade pode estar associada a um desequilíbrio hormonal, sobretudo do ácido abscísico (ABA), que regula a maturação e a dormência das sementes (Taiz & Zeiger 2004). No entanto, não é comum a viviparidade em espécies que apresentam dispersão zoocórica como se observa em *E. phyllanthus*.

O tipo de placentação parietal de *E. phyllanthus* é comum na maior parte das cactáceas citada por diversos autores, mas não é o único mencionado, podendo ser encontrada placentação basal-laminar em *Pereskia* (Leins & Schwitalla 1988). O desenvolvimento do óvulo de *E. phyllanthus* é semelhante ao descrito para *Consolea spinosissima* (Mill.) Lemaire (Strittmatter *et al.* 2002), assim como o tipo de óvulo circinótopo, mas este pode variar na descrição da família de autor para autor, conforme (Tabela 1).

A delimitação da micrópila apenas pelo tegumento interno, também foi observada por Rosa & Souza (2003) em *Pereskia aculeata* e por Maheshwari (1971) em outras espécies de cactáceas, sendo considerada por Corner (1976) como uma característica da família. Segundo

Johri *et al.* (1992), na maioria das famílias com óvulos bitegumentados, o tegumento interno cresce mais que o externo, limitando a micrópila.

A semente madura é campilótropa e exotestal e está de acordo com a descrição de Corner (1976) para Cactaceae. O desenvolvimento da semente de *E. phyllanthus* é semelhante ao desenvolvimento de *Astrophytum myriostigma* Lemaire, *Thelocactus bicolor* Britton & Rose e *Toumeyia papyracantha* Britton & Rose (Engelman 1960); contudo, o tipo de óvulo difere bastante, sendo circinótropo em *E. phyllanthus*, e anátropo nas outras espécies estudadas por Engelman (1960).

Conforme relatado por Buxbaum (1955) e adotado por Engelman (1960) e outros autores, na RHM de Cactaceae, é comum o desenvolvimento de taça-hilar na semente madura, que consiste num espessamento das paredes das células do tegumento externo, delimitando uma cavidade, uma vez ocupada por parênquima funicular que pode, ainda, retrair-se com a maturação da semente e, as células da borda da taça-hilar podem espessar-se, formando um relevo que cerca a cavidade. Em *E. phyllanthus* é notável durante a formação da RHM, uma depressão na superfície da semente. Nessa região ocorre um espessamento maior das paredes celulares, da exotesta, contíguas a RHM, local de formação do arilo. É notável também, durante o desenvolvimento da semente de *E. phyllanthus* a formação de uma reduzida taça-hilar, pois o funículo não ocupa toda a RHM e, uma evidente elevação (cômoro) das células que delimitam a RHM. Em *Astrophytum myriostigma*, a taça-hilar ocupa uma grande área da semente, ao contrário do observado em *E. phyllanthus*. Segundo Arias & Terrazas (2004) a profundidade da RHM pode ter um significado filogenético.

Johri *et al.* (1992) mencionaram a ocorrência da taça-hilar na zona hilo-micropilar, em uma pequena área da estrutura da semente, formada pelo encolhimento das células do funículo, arilo ou estrofiolo. Além disso, os autores também citaram a formação de um colar em volta da zona hilo-micropilar formada por essas células. Além destes, outros autores também registraram ocorrência de estruturas acessórias para Cactaceae (Tabela 1).

Arilo é considerado um apêndice carnoso do funículo, polposos, em geral de coloração viva, relacionado com zoocoria (Beltrati & Paoli 2006). Alguns autores como Corner (1976), preferem usar arilo como um termo geral para designar qualquer excrescência carnosa formada na superfície do óvulo ou da semente, independente da origem, em locais diversos do tegumento externo (Paoli 2006). A presença de arilo ou estrofiolo em Cactaceae auxilia na dispersão de sementes e na embebição de água antes da germinação (Johri *et al.* 1992).

A película fina que envolve o embrião de *E. phyllanthus*, formada por células comprimidas da meso e endotesta, do tégmen e células remanescentes do perisperma e

endosperma, também foi relatada em Cactaceae por Corner (1976) e Bregman & Bouman (1983).

É comum na literatura, os autores referirem-se à semente de Cactaceae como perispérmicas (Tabela 1). Tanto em *E. phyllanthus*, como em *Astrophytum myristigma* e *Telocactus bicolor* estudadas por Engleman (1960), os tecidos nucelares persistentes durante o desenvolvimento da semente, compondo o perisperma, são digeridos, quase completamente pelo embrião. Assim, a semente madura apresenta pouquíssimo perisperma e um embrião rico em substâncias lipoprotéicas.

Referências bibliográficas

- Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society** 141:399-436.
- Arias, S. & Terrazas, T. 2004. Seed morphology and variation in the genus *Pachycereus* (Cactaceae). **Journal of Plant Research** 117:277-289.
- Barroso, G. M.; Morim, M. P.; Peixoto, A. L. & Ichaso, C. L. F. 1999. **Frutos e sementes – morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa, Editora Universidade Federal de Viçosa.
- Barroso, G. M.; Peixoto, A. L.; Ichaso, C. L. F.; Costa, C. G.; Guimarrães, E. F. & Lima, H. C. 1978. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v I. São Paulo, Editora Universidade de São Paulo.
- Barthlott, W. & Hunt, D. R. 1993. Cactaceae. Pp. 161-197. In: Kubitzki, K.; Rohwer, J. G. & Bittrich, V. (eds.). **The Families and genera of vascular plants**. v. 2. Berlin, Springer-Verlag.
- Barthlott, W.; Neinhuis, C.; Cutler, D.; Ditsch, F.; Meusel, I.; Theisen, I. & Wilhelmi, H. 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. **Botanical Journal of the Linnean Society** 126:237-260.
- Bauer, D. & Waechter, J. L. 2006. Sinopse taxonômica de Cactaceae epifíticas no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 20(1):225-239.

- Beltrati, C. M. & Paoli, A. A. S. 2006. Semente. Pp. 399-424. In: Apezatto-da-Gloria, B. & Carmello-Guerreiro, S. M. **Anatomia Vegetal**. 2ª ed. Viçosa, Editora Universidade Federal de Viçosa.
- Boke, N. H. 1966. Ontogeny and structure of the flower and fruit of *Pereskia aculeata*. **American Journal of Botany** 53:534-542.
- Bouman, F. 1984. The ovule. Pp. 123-157. In: Johri, B. M. (ed.). **Embryology of angiosperms**. Berlin, Springer-Verlag.
- Bregman, R. & Bouman, F. 1983. Seed germination in Cactaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 83:357-374.
- Britton, N. L. & Rose, J. N. 1963. **The Cactaceae - descriptions and illustrations of plants of the cactus family**. v. IV. New York, Dover Publications.
- Buxbaum, F. 1955. **Morphology of cacti. Section III. Fruits and seeds**. Pasadena, Abbey Garden Press.
- Conde, L. F. 1975. Vivipary in *Epiphyllum*. **Cactus and Succulent Journal** 47:38-39.
- Corner, E. J. H. 1976. **The Seeds of dicotyledons**. v I. Cambridge, Cambridge University Press.
- Costa, A. F. 1972. **Farmacognosia: farmacognosia experimental**. v. III. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.
- Cota-Sánchez, J. H. & Abreu, D. D. 2007. Vivipary and offspring survival in the epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). **Journal of Experimental Botany** 58(14):3865-3873.
- Cota-Sánchez, J. H. 2004. Vivipary in the Cactaceae: its taxonomic occurrence and biological significance. **Flora** 199:481-490.
- Cota-Sánchez, J. H.; Reyes-Olivas, A. & Sánchez-Soto, B. 2007. Vivipary en coastal cacti: A potencial reproductive strategy in halophytic environments. **American Journal of Botany** 95(9):1577-1581.

- Cronquist, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York, Columbia University Press.
- Eggli, U. 1984. Stomatal types of Cactaceae. **Plant systematics and evolution** 146:197-214.
- Elmqvist, T. & Cox, P. A. (1996). The evolution of vivipary in flowering plants. **Oikos** 77:3-9.
- Engleman, M. 1960. Ovule and seed development in certain Cacti. **American Journal of Botany** 47(6):460-467.
- Farnsworth, E. 2000. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** 31:107-138.
- Gerrits, P. O. 1991. **The application of glycol methacrylate in histotechnology; some fundamental principles**. Netherlands, Department of Anatomy and Embriology State University Groningen.
- Hertel, R. J. G. 1959. Contribuições para fitologia teórica II. Alguns conceitos na carpologia. **Humanitas** 4(4):1-43.
- Jensen, W. A. 1962. **Botanical histochemistry: principle and practice**. San Francisco, W. H. Freeman.
- Johansen, D. A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw Hill Books.
- Johri, B. M.; Ambegaokar, K. B. & Srivastava, P. S. 1992. **Comparative embryology of Angiosperms**. v. 1. Berlin, Springer-Verlag.
- Joly, A. B. 1998. **Botânica – introdução à taxonomia vegetal**. 12^a ed. São Paulo, Companhia Editora Nacional.
- Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A. & Stevens, P. F. 2002. **Plant systematics – a phylogenetic approach**. 2nd ed. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates.
- Karnovsky, M. J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology** 27: 137-138.

- Leins, P. & Schwitalla, S. 1988. Placentation in cactaceae. In: Leins, P.; Tucker, S. C. & Endress, P. K. (eds.). **Aspects of floral development**. Berlin, Stuttgart.
- Lombardi, J. A. 1993. Vivipary in *Rhipsalis pilocarpa* Löfgren (Cactaceae). **Ciência e Cultura** 45(6):407.
- Maheshwari, P. 1971. **An introduction to the embryology of angiosperms**. New Delhi, Tata McGraw-Hill Publishing Company.
- Martin, A. C. 1946. The Comparative internal morphology of seeds. **American Midland Naturalist** 36(3):513-660.
- Mazia, D.; Brewer, P.A. & Alfert, M. 1953. The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol bleu. **Biological Bulletin** 104:57-67.
- O'Brien, T. P.; Feder, N & Maccully, M. E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **O Protoplasma** 59:368-373.
- Paoli, A. A. S. 2006. Semente. Pp. 125-163. In: Souza, L. A. (org.). **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa, Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa.
- Rosa, S. M. & Souza, L. A. 2003. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Acta Scientiarum, Biological Sciences** 25:415-428.
- Roth, I. 1977. **Fruits of angiosperms**. Berlin, Gebrüder Borntrager.
- Sass, J. E. 1951. **Botanical microtechnique**. 2nd ed. Ames, Iowa State University Press.
- Souza, L. A. 2003. **Morfologia e anatomia vegetal – célula, tecidos, órgãos e plântula**. Ponta Grossa, Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa.
- Souza, L. A. 2006. Fruto. Pp. 9-123. In: Souza, L. A. (org.). **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa, Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa.
- Souza, L. A.; Rosa, S. M.; Moscheta I. S.; Mourão, K. S. M.; Rodella, R. A.; Rocha, D. C. & Lolis, M. I. G. A. 2005. **Morfologia e anatomia vegetal - técnicas e práticas**. Ponta Grossa, Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa.

- Souza, V. C. & Lorenzi, H. 2005. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, Instituto Plantarum.
- Spjut, R. M. 1994. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of New York Botanical Garden** 70:1-182.
- Strittmatter, L. I.; Negrón-Ortiz, V. & Hickey, R. J. 2002. Subdioecy in *Consolea spinosissima* (Cactaceae): breeding system and embryological studies. **American Journal of Botany** 89(9):1373-1387.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2004. **Fisiologia vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre, Artmed.
- Wallace, R. S. & Gibson, C. 2002. Evolution and systematics. Pp. 1-21. In: Nobel, P. S. (ed.). **Cacti biology and uses**. Berkeley, California, University of California Press.
- Werker, E. 1997. **Seed anatomy**. Berlim, Gebrüder Borntrager.

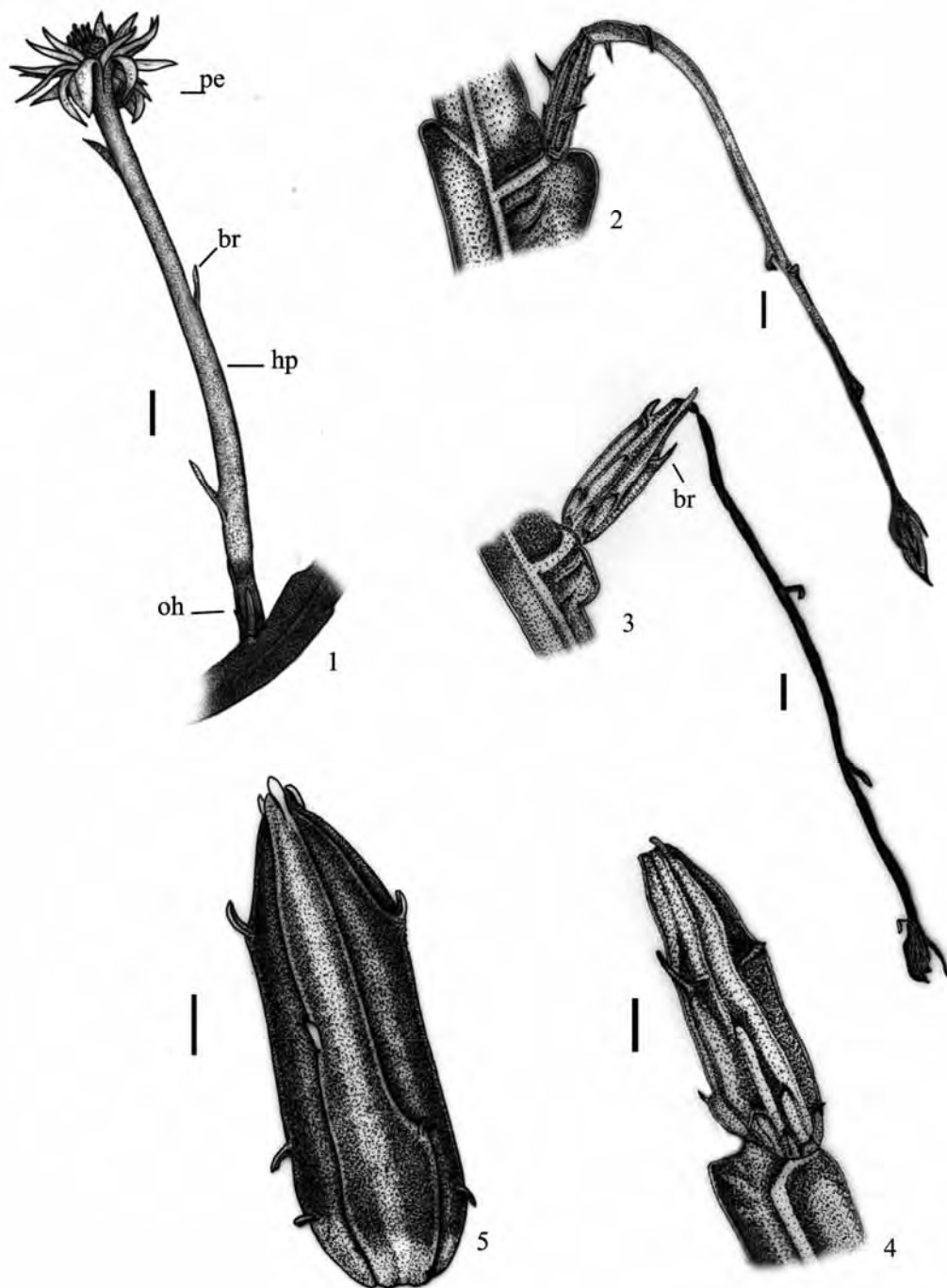
TABELA

Tabela 1. Características morfológicas e anatômicas de fruto e semente em Cactaceae.

Posição do ovário.....	Súpero ^{1,4,6}	Ínfero ^{1,2,4,6}	Semi-infero ⁴		
Tipo de fruto.....	Baga ^{1,2,4,6}	Acrosarcum ³	Cápsula carnosas ⁶	Melonídio ⁵	Cactídeo ⁷
Origem da polpa.....	Receptacular ^{1,5}	Parede ovariana ^{1,5,10}	Funicular ^{1,5}	Columela (Axial) ¹⁰	
Placentação.....	Parietal ^{1,2,4,5,12,13}	Axial ^{1,5,12}	Basal ⁴		
Tipo de óvulo.....	Anátropo ^{2,8,13}	Campilótropo ^{2,4,5,8,11,13}	Circinótropo ^{9,11}	Anfítropo ¹⁰	
Tipo de semente.....	Campilótropa ⁸				
Reserva da semente.....	Perisperma ^{4,8,13,14}	Endosperma ²			
Endosperma.....	Nuclear ^{8,13,14}				
Estrutura acessória da semente.....	Arilo pétreo recobre toda semente ⁴	Estrofiolo ^{2,14,15}	Arilo ^{2,14,15}	Taça hilar ^{5,8}	

Referências. 1. Roth (1977). 2. Barroso *et al.* (1978). 3. Spjut (1994). 4. Judd *et al.* (2002). 5. Barroso *et al.* (1999). 6. Souza & Lorenzi (2005). 7. Souza (2003, 2006). 8. Corner (1976). 9. Paoli (2006). 10. Rosa e Souza (2003). 11. Bregman & Bouman (1983). 12. Leins & Schwitalla (1988). 13. Cronquist (1981). 14. Johri *et al.* (1992). 15. Werker (1997).

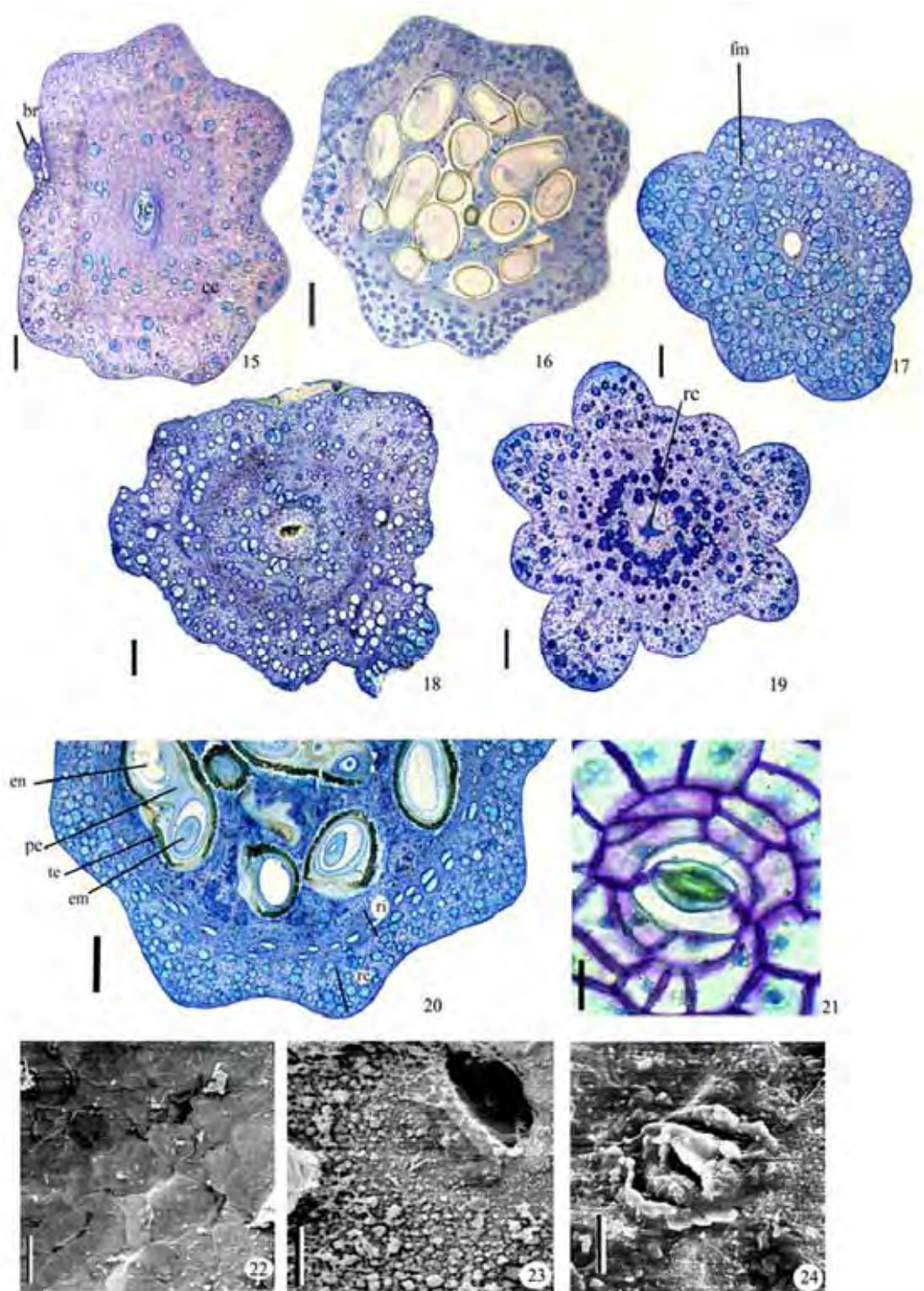
ILUSTRAÇÕES



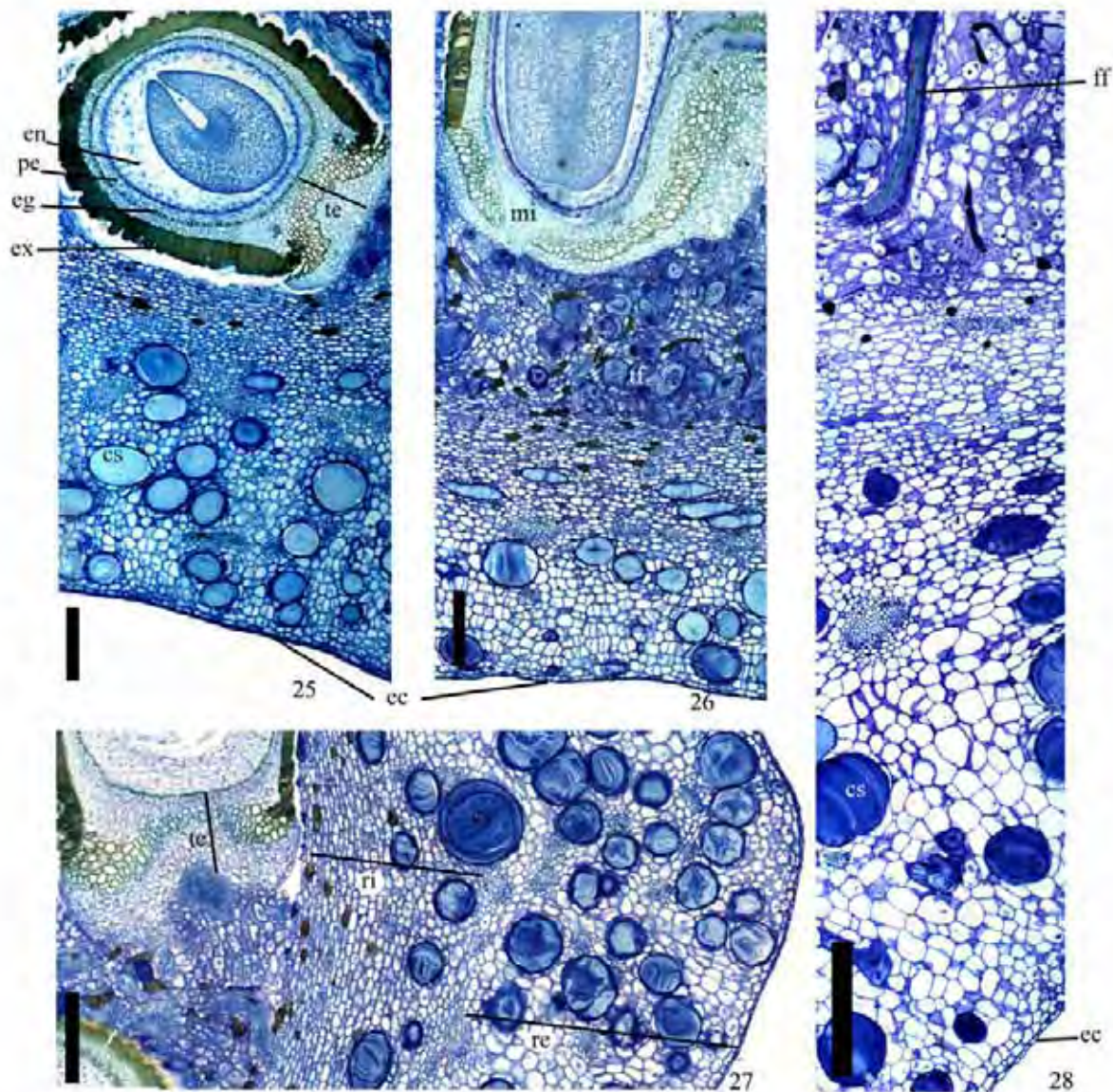
Figuras. 1-5. Flor em antese e fruto em desenvolvimento de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 1. Flor, vista lateral. 2. Flor em pós-antese. 3-4. Frutos jovens. 5. Fruto maduro. (br = bractéola; hp = hipanto; oh = ovário com tecidos do hipanto; pe = perigônio. Barras 10 mm (1-5).



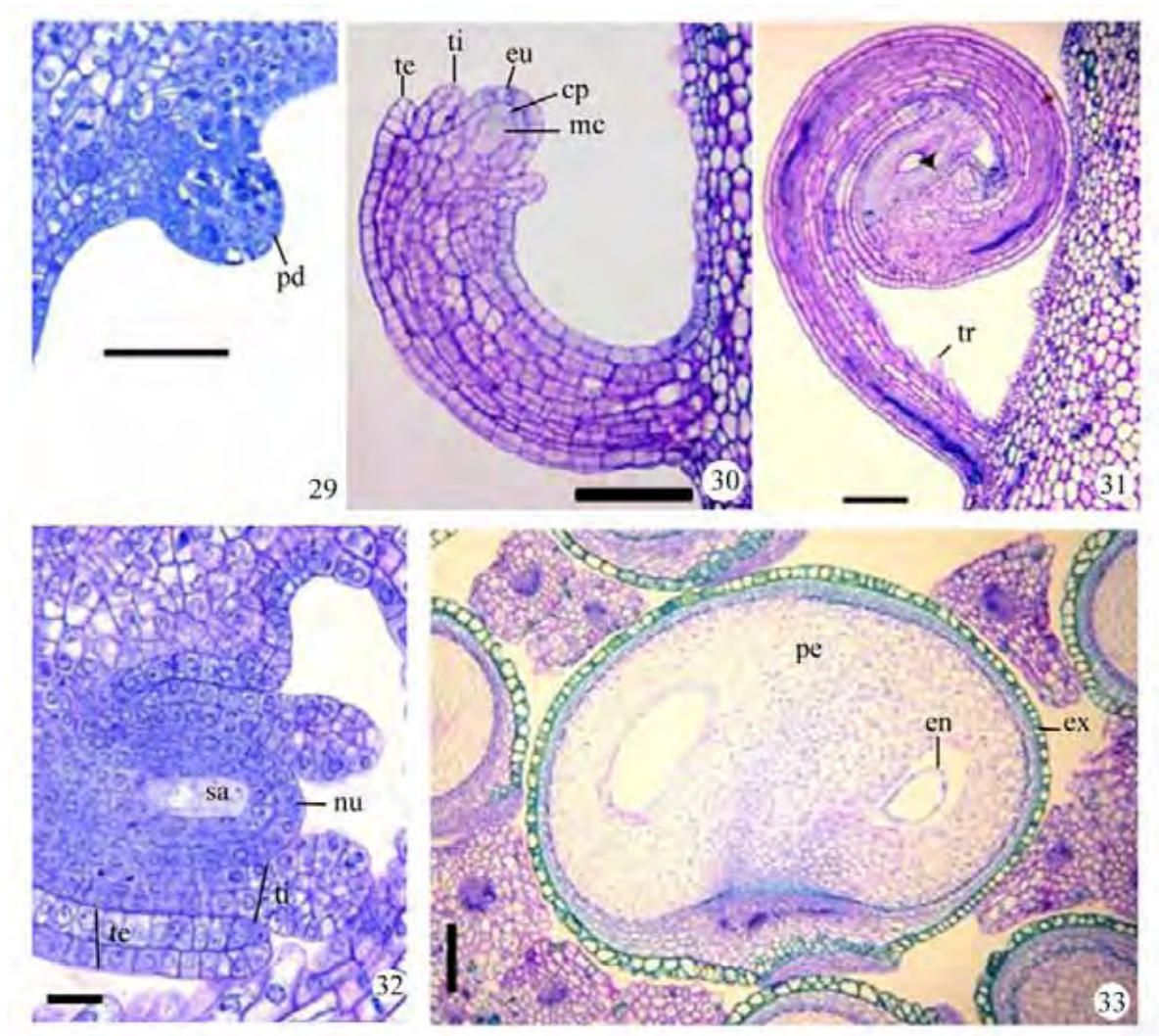
Figuras. 6-14. Ovário de flor em antese, fruto jovem e fruto maduro de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 6. Ovário (aspecto externo). 7-8. Ovário em corte longitudinal e transversal. 9. Fruto jovem. 10-11. Fruto jovem em corte transversal e longitudinal. 12. Fruto maduro. 13-14. Fruto maduro em corte longitudinal e transversal. (br = bractéolas; ou = óvulo; sm = semente). Barras = 0,5 cm (8, 11, 14), 1 cm (6, 7, 9, 10, 13), 2 cm (12).



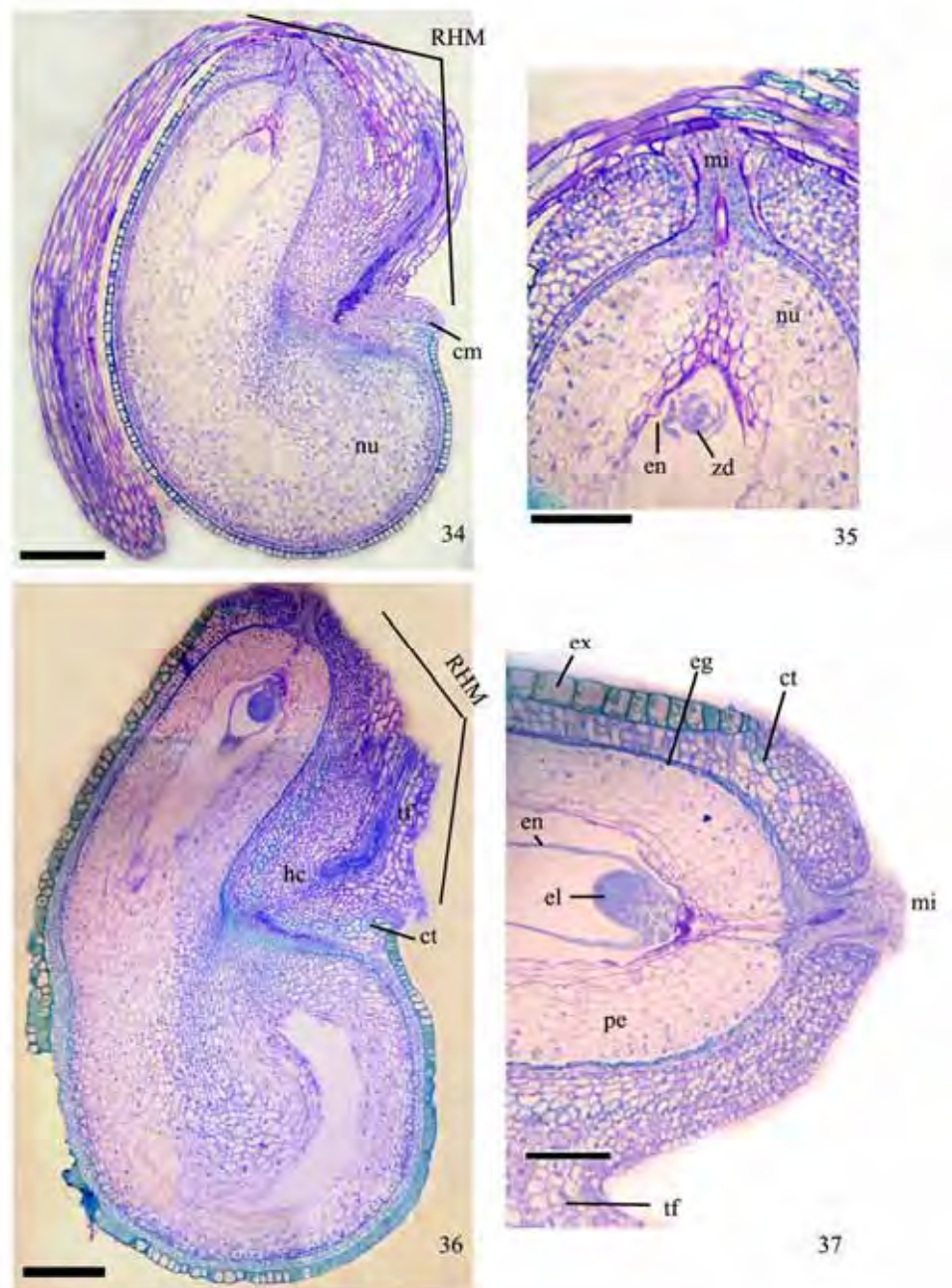
Figuras. 15-24. Frutos jovens de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em secções transversais. 15-17. Fruto jovem (base, meio e ápice). 18. Fruto jovem (base). 19. Fruto desenvolvido (ápice). 20. Fruto jovem, células em fase de alongamento. 21. Epiderme de fruto em secção paradérmica. 22-24. MEV da superfície de fruto com depósito de ceras epicuticulares. (br = bractéolas; cc = cilindro central; em = embrião; en = endosperma; fm = faixa mucilaginosa; ic = parte inferior da cavidade seminal; pe = perisperma; rc = restos celulares; re = região externa do mesocarpo; ri = região interna do mesocarpo; te= tegumento externo;). Barras = 1 mm (15, 16, 17, 19 e 20), 500 μ m (18), 30 μ m (21), 8 μ m (22, 23), 15 μ m (24).



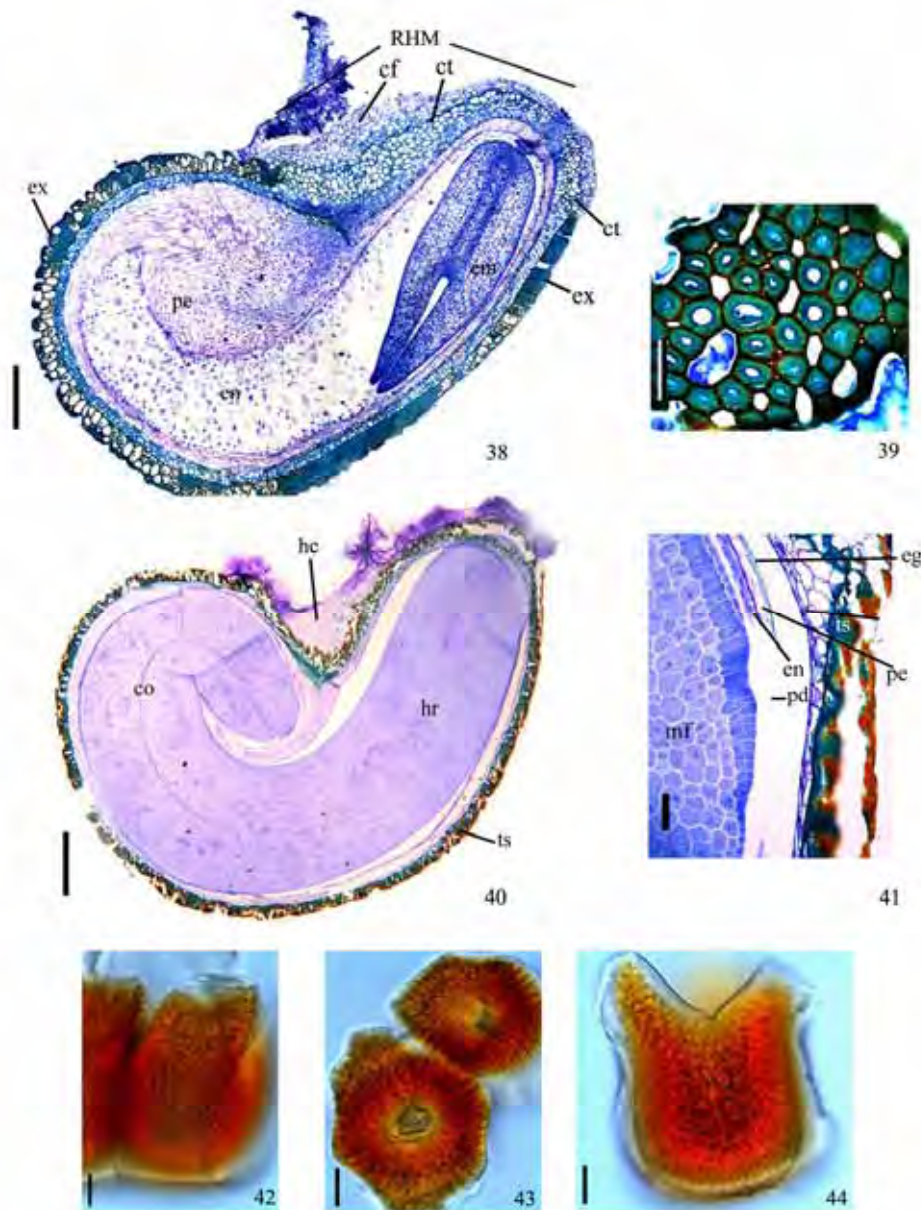
Figuras. 25–28. Frutos de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw., em secções transversais. 25 e 27. Semente e pericarpo jovens. 26. Semente e pericarpo jovens, com endocarpo e camadas internas do mesocarpo sendo comprimidas. 28. Fruto verde desenvolvido, região externa do mesocarpo com células amplas e de paredes finas. (cs = cavidade secretora; ec = exocarpo; en = endosperma; eg = endotégmen; ex = exotesta; ff= feixe funicular; mi = micrópila; pe = perisperma; re = região externa do mesocarpo; ri = região interna do mesocarpo; te = tegumento externo). Barras = 1 mm (25-27), 1,8 mm (28).



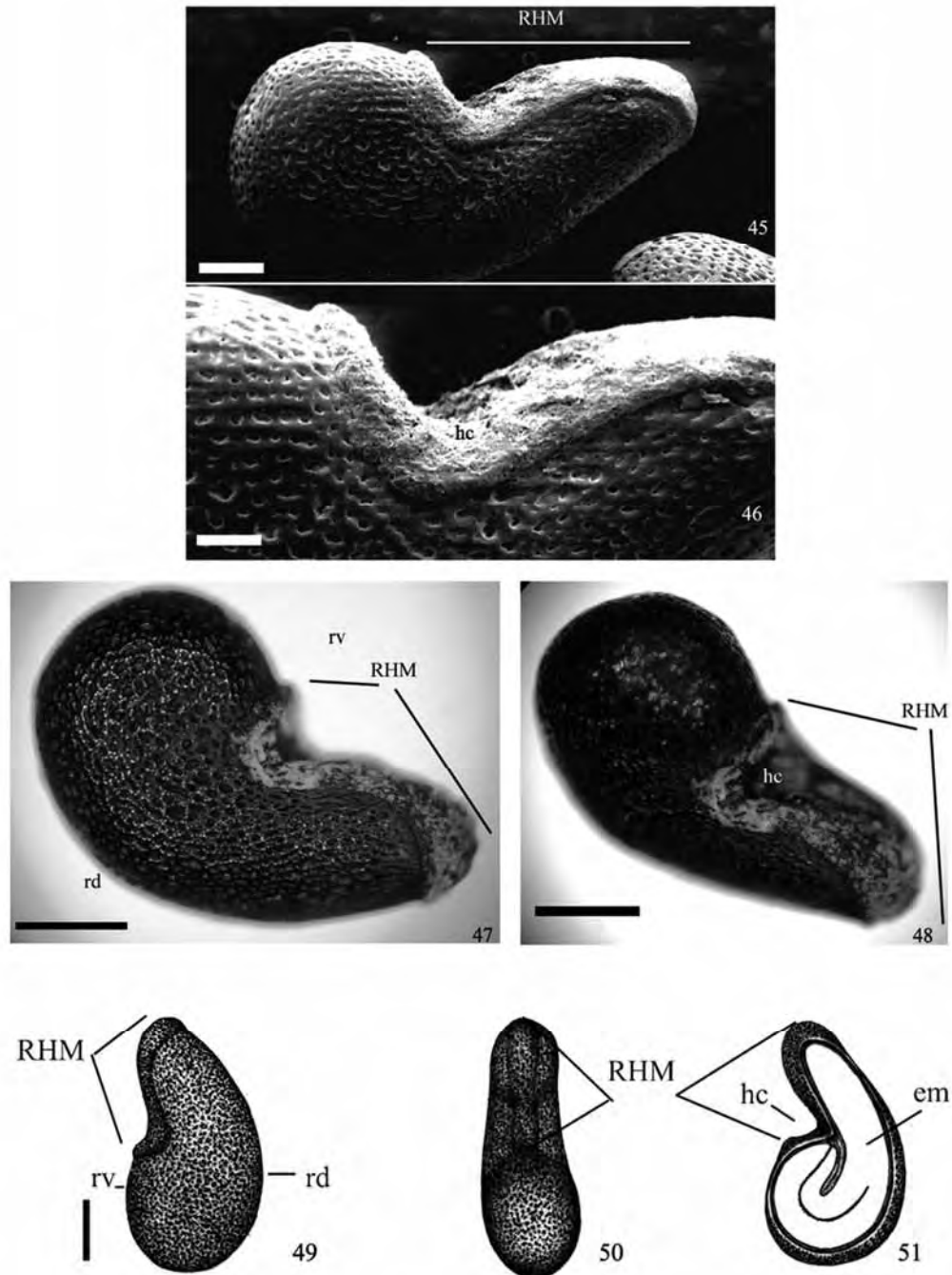
Figuras. 29-33. Óvulo e semente jovem de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em secções longitudinais. 29. Primórdio ovular. 30-31. Óvulo em formação. 32. Pormenor da região da micrópila. 33. Semente jovem. (ponta de seta = saco embrionário; cp = célula parietal; en = endosperma; eu = epiderme nucelar; ex = exotesta; mc = megasporocito; nu = nucelo; pd = protoderme; pe= perisperma, sa = saco embrionário; te = tegumento externo; ti = tegumento interno; tr = tricoma). Barras = 50 µm (29, 30, 32), 100 µm (31), 400 µm (33).



Figuras. 34-37. Desenvolvimento da semente de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em secção longitudinal. 34. Semente muito jovem. 35. Detalhe da região micropilar da semente muito jovem. 36. Semente jovem. 37. Pormenor da região apical da semente jovem. (cm = cômodo; ct = células da mesotesta lignificando-se; el = pró-embrião globular; en = endosperma; eg = endotégmen; ex = exotesta; hc = taça hilar; mi = micrópila; nu = nucelo; pe = perisperma; RHM = região hilo-micropilar; tf = tecido funicular; zd = zigoto em divisão.) Barras = 250 μ m (34), 50 μ m (35), 150 μ m, (36-37).



Figuras. 38-44. Desenvolvimento da semente de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em secção longitudinal (SL) e transversal (ST). 38. Semente jovem (SL). 39. Células da exotesta em fase de amadurecimento (ST). 40. Semente madura (SL). 41. Região apical da semente madura (SL). 42-44. Células isoladas da exotesta da semente madura. 42 e 44. Vista lateral. 43. Vista frontal. (cf = células que darão origem ao funículo; co = cotilédones; ct = células da mesotesta lignificando-se; em = embrião; en = endosperma; eg = endotégmen; ex = exotesta; hc = taça hilar; hr = eixo hipocótilo-radícula; mf = meristema fundamental; pd = protoderme; pe = perisperma; RHM = região hilo-micropilar; ts = tegumento seminal.) Barras = 300 μ m (38), 100 μ m (39), 500 μ m (40), 50 μ m (41), 20 μ m (42-44).



Figuras. 45-51. Semente madura de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 45-46. MEV da semente. 46. Detalhe da RHM. 47-49. Semente em vista lateral. 50. Semente em vista ventral. 51. Semente em corte longitudinal. (hc = taça hilar, RHM = região hilo-micropilar; rd = região dorsal da semente; rv = região ventral.) Barras = 250 μ m (45), 125 μ m (46), 1 mm (47-51).

6. Capítulo III

Morfoanatomia da plântula de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae)¹

¹ Segundo normas da revista *Acta Botanica Brasilica*

RESUMO - (Morfoanatomia da plântula de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae)).

Epiphyllum phyllanthus (L.) Haw. é epífita obrigatória, muito difundida na América do Sul, sendo a única naturalmente brasileira de *Epiphyllum*. Este trabalho teve por objetivo o estudo morfoanatômico da plântula de *E. phyllanthus*, desde a germinação até a fase de planta jovem. Frutos maduros, plântulas e plantas jovens foram coletados em Maringá (PR), Brasil. As sementes foram colocadas para germinar em germinador com temperatura de aproximadamente 25° C, depois removidas para substrato a base de fibra de coco, onde o desenvolvimento foi acompanhado por 210 dias. O material botânico foi fixado, processado e analisado ao microscópio de luz e em MEV. A germinação é epígea, e a plântula fanerocotiledonar. Durante a germinação há hidratação da mucilagem das células do funículo, principalmente. A raiz principal, tetrarca, apresenta crescimento determinado. Raízes adventícias, triarcas-tetrarcas, surgem no coleto e na base do hipocótilo. O hipocótilo possui estrutura de transição entre raiz e caule, por todo seu comprimento. Os cotilédones verdes e fotossintetizantes permanecem durante todo o desenvolvimento da plântula. O hipocótilo, os cotilédones e o filocládio (epicótilo) são glabros, com epiderme unisseriada, de cutícula espessa e estomatífera. Apenas nas aréolas, localizadas nas crenas do filocládio, ocorreram tricomas pluricelulares.

Palavras-chave: Cotilédone, Filocládio, Epífita, Mucilagem, Raiz Adventícia.

ABSTRACT - (Morphoanatomy of the seedling of *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae)).

Epiphyllum phyllanthus (L.) Haw. is an obligatory epiphytic species widely distributed throughout South America, and is the only representative of the *Epiphyllum* genus that naturally occurs in Brazil. The aim of this work was to conduct a morphoanatomical study of the seedling in development of *E. phyllanthus* from the germination phase to the young-plant stage. Mature fruits, seedlings and young plants were harvested in Maringá, Paraná State, Brazil. Seeds were placed in climatic chambers at 25°C. After germination the seeds were set into a coconut fibre substrate, in which the developmental stages were analyzed for 210 days. The botanical material was fixed, processed and analyzed, using light microscope and scanning electron microscope (SEM). The germination is epigeal and the seedling is phanerocotyledonary. During the germination phase it was detected the formation of mucilage in the seed. The tetrarch taproot presents determinate growth. Triarch/tetrarch adventitious roots arise on the collet region and on the hypocotyl base. The hypocotyl exhibits a transition structure (from root to stem) throughout its length. The green and photosynthetic cotyledons persist throughout the seedling development. The hypocotyl, the cotyledons and the phylloclade (epicotyl) are glabrous and possess a uniseriate epidermis that exhibit a thick

cuticle and stomata. Pluricellular trichomes were observed only on the areoles which were present in the crenels of the phylloclade.

Key words: Cotyledon, Epiphytic, Phylloclade, Mucilage, Adventitious Root.

Introdução

Cactaceae pertence à Caryophyllales (APG II 2003), com cerca de 1500 espécies e mais ou menos 100 gêneros (Judd *et al.* 2002; Souza & Lorenzi 2005). É subdividida em três subfamílias: Pereskioideae, Opuntioideae e Cactoideae. O gênero *Epiphyllum* Haw. possui 19 espécies e, juntamente com outros cinco gêneros (*Disocactus*, *Hylocereus*, *Pseudorhipsalis*, *Selenicereus* e *Weberocereus*), compõe a tribo Hylocereeae de Cactoideae (Anderson 2001). *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. é epífita, arborícola, muito ramificada, com ramos aplanados, as vezes trígonos na base, verde-brilhantes, lanceolados a espatulados, estreitos na base, margem crenada, ápice obtuso, nervura central proeminente e pode apresentar aréolas com tricomas (Anderson 2001; Zappi *et al.* 2007).

O epifitismo é comumente definido como uma interação ecológica que envolve espécies vegetais em uma relação comensal. Um organismo cresce sobre o outro, mas não é seu parasita, pois o hospedeiro, neste caso, é utilizado apenas como suporte (Font Quer 1985; Raven *et al.* 2001). Aproximadamente 130 espécies de cactáceas epífitas foram encontradas em florestas neotropicais e tropicais (Wallace & Gibson 2002).

A importância ecológica do epifitismo nas comunidades florestais consiste, basicamente, na manutenção da diversidade biológica e no equilíbrio interativo: as espécies epífitas proporcionam recursos alimentares e microambientes especializados para a fauna do dossel (Waechter 1992).

Tanto no deserto como na mata, as cactáceas estão sujeitas a disponibilidade hídrica irregular. No deserto, porque chove muito pouco e, na mata, porque estas plantas vivem sobre troncos e pedras, nos quais a água não perdura. Sendo assim, apesar da precipitação abundante nas florestas pluviais, as epífitas e as rupícolas só conseguem absorver água durante a chuva, tendo necessidade de armazená-la. Nas cactáceas, a suculência acaba sendo uma característica comum em regiões muito secas e muito úmidas (Rizzini 1987a).

Os trabalhos sobre morfologia de plântulas têm merecido atenção há algum tempo, quer sejam como parte de estudos morfoanatômicos objetivando ampliar o conhecimento sobre determinada espécie ou grupamento sistemático de plantas, quer visando o reconhecimento e a identificação de plântulas de certa região, dentro de um enfoque ecológico (Oliveira 1993).

Na literatura, trabalhos morfoanatômicos sobre plântulas de Dicotiledôneas são restritos, sobretudo tratando-se de anatomia. Dentre eles, destacam-se os trabalhos de Souza & Moscheta (1992), Paoli & Santos (1998), Oliveira (1999), Mourão *et al.* (2002), Souza & Oliveira (2004), Pilati & Souza (2006) Souza *et al.* (2007), entre outros.

Com referência aos estudos morfoanatômicos de plântulas de espécies de Cactaceae, podem ser mencionados os trabalhos de Ganong (1898) e De Fraine (1910) que realizaram estudos com muitos gêneros; Wiggins & Focht (1967), Freeman (1969) e Hamilton (1970) que analisaram espécies de *Opuntia*; Bregman & Bouman (1983) que investigaram a germinação de sementes de muitos gêneros; Salles (1987) que estudou a plântula de *Cephalocereus fluminensis* (Miq.) Britton & Rose; e Loza-Cornejo *et al.* (2003) que analisaram plântulas de *Stenocereus queretaroensis* (Weber.) Buxb.

A morfologia de plântulas tem papel relevante no estudo de uma vegetação, seja para compreender o ciclo de vida e processos de germinação e crescimento de suas espécies, seja para obtenção de mudas ou mesmo para classificar plântulas com finalidade taxonômica (Duke 1965; Ng 1973, 1978; Oliveira 1993). Os estudos morfológicos de plântulas geralmente não incluem análise estrutural de seus órgãos, o que dificulta a compreensão do processo de estabelecimento de plântulas em um determinado ambiente.

O objetivo deste trabalho foi o estudo morfoanatômico da plântula de *Epiphyllum phyllanthus*, com a finalidade de conhecer melhor o ciclo de vida da espécie, de identificar possíveis interações desta com o ambiente e de contribuir com informações que aprimorem o conhecimento da família.

Material e métodos

Frutos maduros, plântulas e plantas jovens de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. foram coletados no Parque do Ingá (fragmento de Mata Atlântica) e seu entorno, em Maringá, PR, Brasil. Ramos férteis foram herborizados e depositados no Herbário da Universidade Estadual de Maringá e no Herbário Rioclarense, sob registros 12.673 HUEM, 48.936 HRCB e 48.937HRCB.

Para o estudo das plântulas foram colocadas para germinar 100 sementes de *E. phyllanthus* em placas de Petri, sobre papel de filtro umedecido em água e, mantidas em germinador FANEN[®] com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de aproximadamente 25°C. Após a germinação, as plântulas foram transferidas para substrato de fibras de coco, à sombra. A germinação foi marcada pela protrusão do eixo embrionário, e o desenvolvimento das

plântulas foi acompanhado por 210 dias após a germinação. No início as observações foram diárias e depois semanais.

A análise da superfície do filocládio, fixado em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965), foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) Zeiss®, DSM 940A, equipado com captura de imagem, no laboratório do núcleo de apoio à pesquisa em microscopia eletrônica aplicada à pesquisa agropecuária (NAP/MEPA) da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP). A análise morfológica das plântulas foi feita em material botânico fresco e/ou fixado em FAA 50, com auxílio de microscópio estereoscópico Leica®. As ilustrações foram obtidas através de desenhos e fotomicrografias (câmera digital).

O estudo anatômico foi realizado em amostras de plântulas fixadas em FAA 50 (Johansen 1940) e armazenadas em etanol 70%. As amostras foram desidratadas em série etílica, emblocadas em historresina (Gerrits 1991), seccionadas transversal e longitudinalmente em micrótomo de rotação, coradas com azul de toluidina a 0,05%, pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1965) e montadas em resina sintética – Entellan®.

Os testes microquímicos foram realizados em material fresco e fixado, seccionado à mão-livre e submetido aos seguintes reagentes/corantes: Sudan IV, para localização de lipídios; lugol para detecção de amido (Johansen 1940); azul de metileno para evidenciar mucilagem (Costa 1972; Souza *et al.* 2005) e vermelho de rutênio, para identificar polissacarídeos diversos e pectinas (Jensen 1962), e azul mercúrio de bromofenol, para a verificação de proteínas (Mazia *et al.* 1953).

As plântulas fixadas também foram diafanizadas em placa de Petri, com base nos métodos de Foster (*apud* Kraus & Arduin 1997), passando por três etapas: 1) imersão em solução de hidróxido de sódio (20%) por 12 horas; 2) imersão em hipoclorito de sódio (10%) por duas horas e; 3) coloração efetuada com algumas gotas de safranina (1%) em placa de Petri contendo água destilada por 6 horas. Entre o intervalo de cada solução a plântula foi lavada com água destilada e, o tempo em cada solução variou um pouco, de acordo com a fragilidade do material.

A descrição morfológica dos cotilédones baseou-se em Rizzini (1977b). Para descrição do padrão de venação foram utilizados os critérios propostos por Hickey (1979). A classificação das ceras epicuticulares foi baseada em Barthlott *et al.* (1998).

A ilustração anatômica foi feita mediante fotomicrografias obtidas através de captura de imagem em microscópio estereoscópico Leica® e microscópio de luz Leica®, utilizando o programa Leica® IM50, versão cinco. As escalas referentes às ilustrações (desenhos e

fotografias) foram obtidas com lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para cada caso.

Resultados

Desenvolvimento pós-seminal

As sementes apresentam coloração preta, formato ovóide, superfície ornamentada e arilo na região hilo-micropilar (RHM). O embrião é curvo e bem desenvolvido (Fig. 1-3). Após duas horas de embebição, ocorre o desenvolvimento de mucilagem na RHM e, depois de 24 horas, a mucilagem hidratada e expandida envolve totalmente a semente. A germinação inicia-se a partir do terceiro dia, após início do processo de embebição, com a protrusão do eixo embrionário (Fig. 6), através de uma fenda longitudinal dorsal que se estende até a região hilo-micropilar, não detectando-se, entretanto, a formação de opérculo.

A germinação é epígea e a plântula fanerocotiledonar, na qual o tegumento seminal permanece envolvendo os cotilédones até o quinto dia (Fig. 6-8). A raiz primária apresenta desenvolvimento muito reduzido (Fig. 9).

Entre o segundo e o sexto dia desenvolvem-se tricomas na região do colo, formando um tufo de pêlos longos e unicelulares (Fig. 7, 8). Os cotilédones são sésseis, assimétricos, sendo um maior do que o outro em comprimento, de coloração verde-clara. O hipocótilo, que era branco, adquire coloração verde. A região do colo é de coloração castanho-escura. A raiz principal cessa seu desenvolvimento, com tamanho inferior a 2 mm, enquanto que as raízes adventícias começam a desenvolver-se no colo e na base do hipocótilo (Fig. 10).

Com 14 dias de idade, a plântula apresenta cotilédones amplos e verdes, expandidos, glabros, carnosos, plano-convexos, oblongo-ovados, de limbo com contorno liso e ápice obtuso. O hipocótilo bem desenvolvido é glabro e de coloração verde-clara (Fig. 11). As raízes adventícias continuam o desenvolvimento e novas raízes aparecem no hipocótilo (Tabela 1). A partir dessa fase de desenvolvimento aumenta, consideravelmente, a mortalidade das plântulas.

No 30º (trigésimo) dia de idade, a plântula tem o mesmo formato, porém com cotilédones totalmente expandidos, amplos, carnosos, verde-escuro brilhantes. Entre 30 e 180 dias a plântula desenvolve-se pouco, sem alterações muito significativas (Tabela 1).

A partir de 180 dias, é visível o início do desenvolvimento do epicótilo, ou seja, do filocládio, na região do nó cotiledonar, entre os cotilédones. A plântula com 210 dias apresenta filocládio de coloração verde, aplanado e crenado, de contorno lenticular, base cilíndrica, levemente achatada, com uma aréola por crena, onde são formados tricomas. Os

cotilédones continuam presentes, suculentos, verdes e brilhantes. O hipocótilo é verde e cilíndrico e sem surgimento de novas raízes adventícias (Fig. 12).

Anatomia da plântula

A plântula apresenta estrutura primária até a idade aproximada de 210 dias. Após esse período, instalam-se os meristemas laterais, felogênio e câmbio, que formam a periderme e os tecidos vasculares secundários.

Raiz

A raiz primária possui epiderme unisseriada com pêlos unicelulares, córtex parenquimático com células amplas e de formato variado, que diminuem de tamanho em direção ao centro da raiz; a endoderme não apresenta estrias de Caspary evidentes. O cilindro central é constituído por periciclo unistratificado, quatro cordões de floema primário e xilema primário com elementos traqueais distribuídos ao redor da medula parenquimática (Fig. 15, 21). No final da fase de plântula, a raiz primária atrofia-se.

As raízes adventícias têm epiderme unisseriada, com células de paredes delgadas, e pêlos unicelulares. O córtex é constituído por exoderme de células amplas e tecido parenquimático com células mais ou menos comprimidas, sem endoderme típica. O cilindro central apresenta xilema primário alternado com o floema primário e medula parenquimática reduzida (Fig. 13). O número de pólos protoxilemáticos varia ao longo da raiz, sendo a raiz triarca no ápice e tetraarca no meio e na base.

As raízes adventícias, em estrutura secundária, apresentam felogênio de origem pericíclica e súber, que destacam-se pela presença de grupos de células esclerenquimáticas. Com referência aos tecidos vasculares secundários, os raios parenquimáticos são amplos (Fig. 14).

Colo e Hipocótilo

O colo é caracterizado pela presença de pêlos unicelulares muito longos, os quais desempenham importante função na fixação da plântula ao substrato. As células que originaram estes pêlos podem ser distinguidas já na protoderme do embrião pelo tamanho maior e formato prismático (Fig. 4, 5).

O hipocótilo apresenta epiderme unisseriada (Fig. 16), com cutícula relativamente espessa e estômatos paralelocíticos. O córtex é parenquimático de células amplas, não se

distinguindo endoderme típica, apresenta 1-2 camadas de células colenquimáticas sob a epiderme.

Com referência ao sistema vascular, a região do colo e todo o hipocótilo possuem estrutura de transição entre raiz e caule. No colo, ocorrem quatro cordões de floema que formam mais dois cordões floemáticos na base do hipocótilo. Os elementos traqueais do xilema primário, que se distribuem sob forma de anel, ao redor da medula parenquimática, desde a região proximal da raiz, conservam esta disposição no colo e na base do hipocótilo. Nesta região, hipocotiledonar, são identificados dois pólos protoxilemáticos. Esta disposição dos tecidos vasculares persiste ao longo do hipocótilo, exceto pelo floema que forma oito ou nove cordões distribuídos na periferia do cilindro central (Fig. 18-21). Nas proximidades do nó cotiledonar são distintos dois traços cotiledonares e dois epicotiledonares. Cada traço cotiledonar consiste de dois cordões floemáticos e de elementos do protoxilema/metaxilema que desviam-se para o respectivo cotilédone. Os traços epicotiledonares, cada qual com seu cordão de floema e elementos traqueais do xilema, dirigem-se ao epicótilo (filocládio) (Fig. 22-26).

O hipocótilo, em crescimento secundário (Fig. 17), apresenta periderme, com felogênio de origem epidérmica, instalado inicialmente na porção inferior (proximal) do hipocótilo. No súber formam-se fibras, como no súber da raiz, mas diferentemente desta, as fibras apresentam-se em faixas contínuas ao redor de todo o hipocótilo. O córtex persistente e parenquimático apresenta cavidades secretoras. No cilindro central instala-se o câmbio fascicular e interfascicular, originando tecidos vasculares secundários; a medula permanece parenquimática. Ocorre amido nas células parenquimáticas da medula e do xilema.

Cotilédones

Os cotilédones, em secção paradérmica, apresentam células epidérmicas comuns de formato variado, paredes anticlinais sinuosas e estômatos paralelocíticos. Na epiderme há depósito de ceras epicuticulares em forma de crostas. A epiderme é unisseriada com células que variam de formato tabular a cubóide (vistas em secção transversal) (Fig. 31), com cutícula espessa. O mesofilo é parenquimático, homogêneo, clorofilado, com células de dimensões variáveis. A vascularização é feita por uma nervura central composta por dois feixes vasculares colaterais. (Fig. 29,30). O padrão de venação é camptódromo-cladódromo (Fig. 27, 28)

Os cotilédones de plântulas de 180 dias apresentam a mesma estrutura descrita, exceto pela formação de número maior de amplas cavidades secretoras de mucilagem, localizadas nas proximidades da epiderme.

Filocládio

O filocládio apresenta epiderme com células comuns semelhantes àquelas observadas nos cotilédones, mas de menor dimensão; os estômatos também são paralelocíticos (Fig. 34) e as ceras epicuticulares também acumulam-se em forma de crostas (Fig. 33). O filocládio apresenta epiderme unisseriada com células de contorno mais ou menos retangular (vistas em secção transversal) e de cutícula espessa. O córtex é formado por parênquima clorofiliano de células amplas, de formato variado (Fig. 37), com ocorrência de células secretoras de mucilagem, em posição subepidérmica. O cilindro central é formado por sete ou oito feixes vasculares colaterais, arranjados ao redor de medula parenquimática reduzida. O cilindro central emite ramificações vasculares para cada aréola, que é caracterizada, em fase inicial de desenvolvimento, por células diminutas, amplos núcleos e citoplasma denso; na aréola ocorrem tricomas tectores pluricelulares (Fig. 32, 35, 36).

Como verificado no hipocótilo, o filocládio desenvolve crescimento secundário, na fase de planta jovem, diferenciando periderme, de origem do felogênio epidérmico e, tecidos vasculares secundários pouco desenvolvidos, de origem cambial (fascicular e interfascicular).

Discussão

Embora, a germinação com formação de opérculo na semente, seja comum em Cactaceae, sendo encontrado em quase todas as tribos da família (Bregman & Bouman 1983), *E. phyllanthus* não apresentou opérculo na semente, durante a germinação. Segundo os autores citados, o modo de germinação parece estar de alguma forma relacionado com a morfologia da semente.

O crescimento das espécies de Cactaceae é normalmente muito lento. Em *E. phyllanthus* não é diferente, somente seis meses após a germinação, surgiu o epicótilo. Algumas espécies apresentaram um desenvolvimento mais rápido como *Opuntia basilaris* (Freeman 1969) e *Stenocereus queretaroensis* (Loza-Cornejo *et al.* 2003), na qual o epicótilo começou a surgir um mês após a germinação das sementes. Freeman (1969) comentou que o notável desenvolvimento de *O. basilaris* pode ter sido auxiliado pelos numerosos elaioplastídios encontrados no embrião. Contudo, *E. phyllanthus* também conta com grande reserva lipoprotéica em seu embrião e, no entanto, seu crescimento é lento.

O tufo de pêlos que ocorre na extremidade radicular da plântula de *E. phyllanthus*, logo nos primeiros dias, funciona como a primeira estrutura de fixação ao substrato, seguido do surgimento das raízes adventícias, pois a raiz principal possui um crescimento determinado. Esses tricomas unicelulares, que originam-se de células alongadas anticlinalmente, observadas na protoderme do embrião, podem ter um papel vital para estabelecimento da plântula num substrato adequado. Nessa espécie, embora a germinação seja rápida e com taxa, relativamente alta, o estabelecimento das plântulas não acompanha o sucesso da germinação. Portanto, quanto mais rápido a plântula puder fixar-se ao forófito, poderá ter mais chances de se estabelecer. Dubrovsky & North (2002) citaram a ocorrência de raiz principal com crescimento determinado para algumas espécies de cactáceas, como: *Pachycereus pringlei* Britton & Rose, *Stenocereus thurberi* Engelm., *S. gummosus* (Engelm.) A. C. Gibson & K. E. Horak, *S. pruinosus* (Otto) Buxb., *S. standleyi* (J. G. Ortega) Buxb. e *Ferocactus peninsulae* Britton & Rose, além de *E. phyllanthus*. A raiz principal curta (com crescimento determinado) pode ser uma vantagem, principalmente, durante a fase crítica de estabelecimento da plântula, pois o não crescimento da raiz principal induz a formação de raízes laterais, importantes na fixação e melhor obtenção de recursos hídricos (Dubrovsky & North 2002). Tanto plantas epífitas de florestas pluviais, como plantas de ambientes xéricos, compartilham de escassa disponibilidade hídrica.

Cota-Sánchez & Abreu (2007), num estudo sobre o estabelecimento de gerações vivíparas de *E. phyllanthus*, observaram alta taxa de mortalidade após a germinação (entre 40% e 60%) e, separaram em duas fases a sobrevivência das plântulas: 1) fase de aclimação, referente aos primeiros 30 dias, quando houve a maior quantidade de morte de plântulas e, 2) fase de estabelecimento, após 30 dias, quando a taxa de mortalidade caiu para menos de 5% das plântulas. Segundo Cota-Sánchez & Abreu (2007), a viviparidade em cactos é uma estratégia reprodutiva que aumenta o potencial de sobrevivência e adaptação para perpetuação da espécie, sob condições de estresse, sendo uma característica de significância evolutiva, fornecendo novas vias de acesso para a sobrevivência (Cota-Sánchez 2004). Também foi verificado que não há relação específica entre *E. phyllanthus* e o forófito hospedeiro, pois foi observado plantas de *E. phyllanthus* em diferentes árvores, como: *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (sibipiruna), *Grevillea robusta* A. Cunn. ex R. Br. (grevílea), *Holocalyx balansae* Micheli (alecrim), dentre outras. Cota-Sánchez & Abreu (2007) também fizeram essa observação.

A ocorrência de diásporos mucilaginosos é um fenômeno bastante comum em Angiospermas. Pode ser considerada uma via de dispersão pela aderência no corpo de algum animal, na dispersão epizoocórica, principalmente, em aves migratórias (Swarbrick 1971; Ramírez, 1976; Paoli 2006). A mucilagem pode ser impermeável a gases, interferindo na germinação das sementes, nesse caso, as sementes podem ser expostas naturalmente à anoxia ou hipoxia após a embebição (Witztum *et al.* 1969; Joly & Crawford 1983). Por outro lado, a presença de mucilagem pode aumentar a germinação, mantendo uma concentração suficiente de água ao redor da semente num ambiente com alternância de períodos de seca e chuva (Labouriau 1973; Paoli 2006).

Em *Jacaratia spinosa* (Aubl.) A. DC. (Caricaceae), a produção de mucilagem após o contato com água diminui o percentual de germinação, atrasando o início da germinação. Provavelmente, o envoltório responsável pela produção da mucilagem compete por água com o embrião (Paoli 2006). Já em *Epiphyllum phyllanthus*, a rápida formação de mucilagem, proveniente principalmente das células do arilo, após as sementes serem umedecidas é uma aparente modificação, que ajuda a planta a adaptar-se a um ambiente com escassez de água. A mucilagem, nesse caso, previne o rápido ressecamento da semente e ajuda manter uma quantidade adequada de umidade para germinação mesmo em condições desfavoráveis. Em *Opuntia echios* J. T. Howell, *O. basilaris* Engelm. & Begel. e *O. bradtiana* (Coul.) K. Brandegee também foi observada formação similar de mucilagem nas sementes, antes da germinação (Wiggins & Focht 1967; Freman 1969; Hamilton 1970), porém em menor tempo do que em *E. phyllanthus*.

A quantidade de pólos de protoxilema na raiz principal pode variar em Cactaceae, sendo diarca em *Rhipsalis*, *Echinocereus*, *Echinopsis*, tetarca em *Perskia*, *Opuntia* e *Nopalea* (De Fraine 1910) e poliarca, com quatro a oito pólos em *Opuntia basilaris* (Freeman 1969) e, cinco a sete pólos em *O. bradtiana* (Hamilton 1970). Na raiz principal de *E. phyllanthus* não foi possível definir claramente a presença de quatro pólos protoxilemáticos, mas pode ser considerada como tetarca, porque apresentou quatro cordões de floema primário, bem evidentes. Por outro lado, na base do hipocótilo foi possível distinguir dois pólos protoxilemáticos, com até seis cordões de floema primário, sugerindo que, se a raiz principal não tivesse um crescimento determinado tão restrito e, pudesse desenvolver-se mais, poderia ser diarca ou tetarca.

A variação do número de pólos de protoxilema numa mesma raiz, como acontece nas raízes adventícias de *E. phyllanthus*, não é incomum em Angiospermas e já foi registrado na literatura por Fahn (1990). Souza *et al.* (2007) encontraram na mesma raiz de *Arrabidaea*

mutabilis Bureau & K. Schum. (Bignoniaceae) a condição triarca junto ao ápice e pentarca na base. Souza & Oliveira (2004) observaram raiz pentarca e heptarca em *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb e, raiz tetarca e hexarca em *T. chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl.

Em algumas secções de raízes adventícias de plantas jovens, com cotilédones persistentes, foi possível verificar células do xilema opostas às células do floema. Essa disposição de células do xilema e do floema pode ser interpretada, a princípio, como uma organização vascular semelhante à de caule. Entretanto, quando foram observadas raízes de diferentes idades e ramificações, notou-se que todo o xilema ou pelo menos parte dele alternava-se com os cordões floemáticos, numa estrutura típica de raiz. Na literatura, foi registrado com base no trabalho de Haehnel (1912), que em raízes laterais de *Echinofossulacactus multcostatus* (Hildm.) Britton & Rose (sin. *Stenocactus multcostatus* (Hildmann ex K. Schumann) A. Berger e *Echinocactus multcostatus* Hildm.) cordões de xilema e de floema eram opostos e não alternados, numa estrutura muito similar à anatomia caulinar (Buxbaum 1950; Freeman 1969; Metcalf & Chalk 1979), mas isso não foi verificado em *E. phyllanthus*.

As células esclerenquimáticas encontradas no súber, da raiz e do hipocótilo de *E. phyllanthus* estão relacionadas com os períodos de pouco recurso hídrico, devido seu hábito epifítico. Em plantas ou órgãos que requerem muita proteção contra a perda de água, as células do súber possuem paredes muito espessas e podem até se tornarem esclereides, como acontece em *Betula*, *Leptocereus* e *Oreocereus* (Mauseth 1988). North & Nobel (1994) constataram em raízes de plantas adultas de *E. phyllanthus* e *Rhipsalis baccifera* (J. S.Mil.) Stearn (sin. *R. cassutha* Gaertn.), submetidas a um período de 30 dias de seca, ocorreu um aumento no número de camadas celulares da periderme, com algumas camadas de células intensamente suberificadas e lignificadas.

O eixo hipocótilo-raiz da plântula de *E. phyllanthus* não apresentou diferença morfológica, que indicasse o limite do início da região de transição, como aconteceu nas espécies de *Opuntia basilaris* (Freeman 1969) e *Stenocereus queretaroensis* (Loza-Cornejo *et al.* 2003), onde o limite inferior da zona de transição diferenciou-se pelo tamanho no diâmetro do hipocótilo e da raiz principal. A região de transição da plântula de *E. phyllanthus* foi delimitada pela disposição dos cordões de floema e de xilema primários ao longo eixo hipocótilo-raiz.

A vascularização da plântula de *E. phyllanthus* assemelhou-se ao que foi descrito por De Fraine (1910) para *Pereskia*, *Opuntia*, *Nopalea* e *Cereus tortuosos* J. Forbes ex Otto & A. Dietr. (sin. *Harrisia tortuosa* (Forbes ex Otto & A. Dietrich) Britton & Rose), com raiz

principal tetrarca e ramificação dos cordões de floema ao longo do eixo hipocótilo-raiz. Freeman (1969) descreveu a vascularização da plântula de *O. basilaris* e observou ligação dos elementos traqueais do xilema primário dos traços cotiledonares laterais com os elementos traqueais do xilema primário da raiz principal. Já os demais elementos do xilema primário de *O. basilaris*, gradualmente perderam-se ao longo do hipocótilo. Embora, Esau (1959) considere o epicótilo na plântula como estrutura separada da unidade raiz-hipocótilo-cotilédone, na plântula de *E. phyllanthus* a ligação dos traços cotiledonares com a raiz principal, persiste, mantendo a unidade raiz-hipocótilo-cotilédone, mas na altura do nó cotiledonar, onde se formam os traços epicotiledonares, é visível a continuidade dos cordões de floema primário do hipocótilo com os cordões do epicótilo. Entretanto, o uso de técnica especializada de microscopia de polarização ou fluorescência, poderia facilitar a compreensão do curso de diferenciação do floema em plântulas (Esau 1965).

A assimetria das plântulas em Cactaceae, causada pela diferença no tamanho dos cotilédones é uma característica da família, devido à forma da semente (De Fraine 1910). As plântulas de *Pereskia*, *Opuntia* e *Nopalea* compartilham semelhanças morfológicas com as de *E. phyllanthus*, apresentando dois cotilédones bem desenvolvidos, assimétricos, fotossintetizantes e verdes, enquanto que em *Cereus*, *Echinocereus*, *Echinopsis*, *Cephalocereus* e *Stenocereus* são muito reduzidos e, em *Mamillaria* são quase ausentes (De Fraine 1910; Buxbaum 1950; Wiggins & Focht 1967; Freeman 1969; Hamilton 1970; Salles 1987; Loza-Cornejo *et al.* 2003).

Os estômatos encontrados na plântula de *E. phyllanthus* assemelham-se ao tipo paracítico, porém, segundo Eggli (1984) foram classificados como paralelocíticos por apresentarem três ou quatro células subsidiárias paralelas ao poro e não somente duas como nos paracíticos.

A plântula de *E. phyllanthus*, embora epífita, em comparação com a estrutura das plântulas estudadas por De Fraine (1910), apresentou maior semelhança anatômica (raiz tetrarca, eixo hipocótilo-raiz, região de transição e cotilédones amplos) com as espécies terrestres de *Pereskia*, *Opuntia* e *Nopalea* do que com as outras espécies epífitas de *Rhipsalis* de raiz diarca e cotilédones reduzidos.

Referências bibliográficas

Anderson, E. F. 2001. **The cactus family**. Portland, Cambridge, Timber Press.

- Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society** 141:399-436.
- Bregman, R. & Bouman, F. 1983. Seed germination in Cactaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** 83:357-374.
- Barthlott, W.; Neinhuis, C.; Cutler, D.; Ditsch, F.; Meusel, I.; Theisen, I. & Wilhelm, H. 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. **Botanical Journal of the Linnean Society** 126:237-260
- Buxbaum, F. 1950. **Morphology of cacti. Section I. Roots and stems**. Pasadena, Abbey Garden Press.
- Costa, A. F. 1972. **Farmacognosia: farmacognosia experimental**. v. III. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.
- Cota-Sánchez, J. H. 2004. Vivipary in the Cactaceae: its taxonomic occurrence and biological significance. **Flora** 199:481-490.
- Cota-Sánchez, J.H. & Abreu, D.D. 2007. Vivipary and offspring survival in the epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* (Cactaceae). **Journal of Experimental Botany** 58(14):3865-3873.
- De Fraine, E. 1910. The seedling structure of certain Cactaceae. **Annals of Botany** 24(93):125-175.
- Dubrovsky, J. G. & North, G. B. 2002. Root structure and function. Pp. 41-56. In: Nobel, P. S. (ed.). **Cacti biology and uses**. Los Angeles, University of California Press.
- Duke, J. A. 1965. Keys for the identification of seedlings of some prominent woody species in eight forest types in Puerto Rico. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 52(3):314-350.
- Eggli, U. 1984. Stomatal types of Cactaceae. **Plant Systematics and Evolution** 146:197-214.
- Esau, K. 1959. **Anatomía vegetal**. Barcelona, Ediciones Omega.

- Esau, K. 1965. **Vascular differentiation in plants**. New York, Holt, Rinehart and Winston.
- Fahn, A. 1990. **Plant anatomy**. Oxford, Pergamon Press.
- Font Quer, P. 1985. **Diccionario de botánica**. Barcelona, Editorial Labor.
- Freeman, T. 1969. The developmental anatomy of *Opuntia basilaris*. I. Embryo, root, and transition zone. **American Journal of Botany** 56(9):1067-1074.
- Ganong, W. F. 1898. Contributions to a knowledge of the morphology and ecology of the Cactaceae: II. The comparative morphology of the embryos and seedlings. **Annals of Botany** 12(48):423-474.
- Gerrits, P. O. 1991. **The application of glycol methacrylate in histotechnology; some fundamental principles**. Netherlands, Department of Anatomy and Embriology State University Groningen.
- Haehnel, K. 1912. **Anatomisch-biologische betrachtungen über die kakteen**. Mexico, Deutschen Schule.
- Hamilton, M. W, 1970. Seedling development of *Opuntia bradtiana* (Cactaceae). **American Journal of Botany** 57(5):599-603.
- Hickey, L. J. 1979. A revised classification of the architecture of dicotyledonous leaves. Pp. 25-39. In: Metcalfe, C. R. & Chalk (eds.). **Anatomy of the dicotyledons. 2nd ed. v I. Systematic anatomy of the leaf and stem**. Oxford, Claredon Press.
- Jensen, W. A. 1962. **Botanical histochemistry: principles and practice**. San Francisco, W. H. Freeman.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw Hill Books.
- Joly, C. A. & Crawford, R. M. M. 1983. Germination and some aspects of the metabolism of *Chorisia speciosa* St. Hil. Seeds under anoxia. **Revista Brasileira de Botânica** 6(2):85-90.
- Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A. & Stevens, P. F. 2002. **Plant systematics – a phylogenetic approach. 2nd ed**. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates.

- Karnovsky, M. J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology** 27: 137-138.
- Kraus J. E. & Arduin, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica, Editora Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- Labouriau, M. L. S. 1973. A semente de *Magonia pubescens* St. Hil. – morfologia e germinação. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 45(3/4):501-537.
- Loza-Cornejo, S.; Terrazas, T.; López-Mata, L. & Trejo, C. 2003. Características morfo-anatómicas y metabolismo fotossintético em plântulas de *Stenocereus queretaroensis* (Cacataceae): Su significado adaptativo. **Interciencia** 28(2):83-89.
- Mauseth, J. D. 1988. **Plant anatomy**. California, Benjamin/Cummings.
- Mazia, D.; Brewer, P.A. & Alfert, M. 1953. The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol bleu. **Biological Bulletin** 104:57-67.
- Metcalfé, C.R. & Chalk, L. 1979. **Anatomy of the dycotiledons**. Oxford, Claredon Press.
- Mourão, K. S. M.; Dias-Pinto, D.; Souza, L. A. & Moscheta, I. S. 2002. Morfo-anatomia da plântula e do tirodendro de *Trichilia catigua* A. Juss., *T. elegans* A. Juss. e *T. pallida* Sw. (Meliaceae). **Acta Scientiarum, Biological Sciences** 24(2):601-610.
- NG, F. S. P. 1973. Germination of fresh seeds of Malaysian forest trees. **Malaysian Forester** 36(2): 54-65.
- NG, F. S. P. 1978. Strategies of establishment in Malaysin forest trees. Pp. 129-162. In: Tomlinson, P. B.; Zimmermann, M. H. (eds.). **Tropical trees as living system**. Cambridge, Cambridge University Press.
- North, G. B. & Nobel, P. S. 1994. Changes in root hydraulic conductivity for two tropical epiphytic cacti as soil moisture varies. **American Journal of Botany** 81(1):46-53.
- O'Brien, T. P.; Feder, N & Maccully, M. E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **O Protoplasma** 59:368-373.

- Oliveira, D. M. T. 1999. Morfologia de plântulas e plantas jovens de 30 espécies arbóreas de Leguminosae. **Acta Botanica Brasilica** 13(3):263-269.
- Oliveira, E. C. 1993. Morfologia de plântulas. Pp. 175-213. In: Aguiar, I.B.; Piña-Rodrigues, F. C. M. & Figliolia, M. B. (Eds.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília, Associação brasileira de tecnologia de sementes.
- Paoli, A. A. S. & Santos, M. R. O. 1998. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae). **Revista Brasileira de Sementes** 20(2):147-153.
- Paoli, A. A. S. 2006. Semente. In: Souza, L.A. (org.). **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa, Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa.
- Pilati, R. & Souza, L.A. 2006. Morfoanatomia da plântula de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sarg. (Ulmaceae). **Acta Scientiarum, Biological Sciences** 28(1):1-6.
- Ramírez, W. B. 1976. Germination of seeds of new World Urostigma (*Ficus*) and of *Morus rubra* L. (Moraceae). **Revista de Biologia Tropical** 24(1):1-6.
- Raven, P. H.; Evert, R. F. & Eichhorn, S. E. 2001. **Biologia vegetal**. 6ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- Rizzini, C.T. 1987a. Cactáceas: os segredos da sobrevivência. **Ciência Hoje** 5(30):30-40.
- Rizzini, C.T. 1987b. Sistematização terminológica da folha. **Rodriguésia** 29(42):103-125.
- Salles, H. G. 1987. Expressão morfológica de sementes e plântulas I. *Cephalocereus fluminensis* (MIQ.) Britton & Rose (Cactaceae). **Revista Brasileira de Sementes** 9(1):73-81.
- Souza, L. A. & Moscheta, I. S. 1992. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 52(3):439-447.
- Souza, L. A. & Oliveira, J. H. G. 2004. Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia avellaneda* Lor. Ex Griseb e *T. chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl. (Bignoniaceae). **Acta Scientiarum, Biological Sciences** 26:217-226.

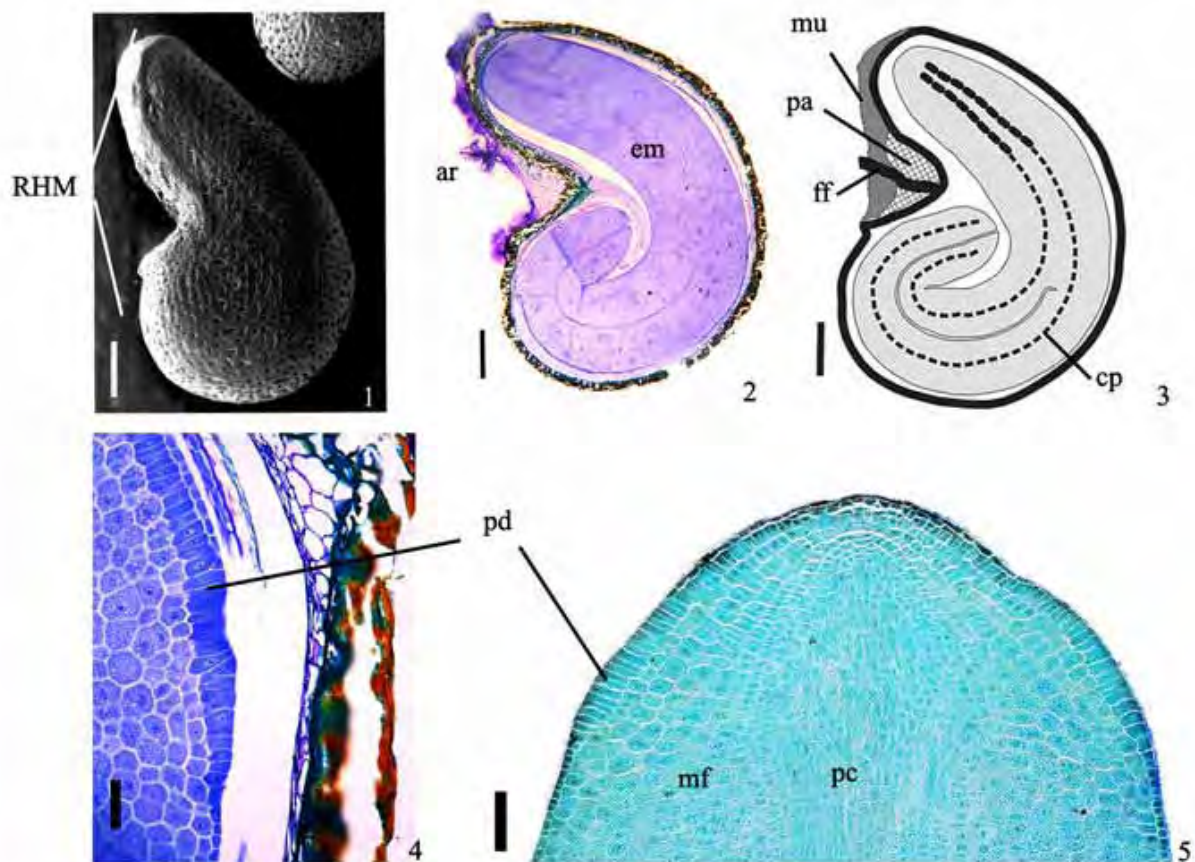
- Souza, L. A.; Lopes, W. A. L. & Almeida, O. J. G. 2007. Morfoanatomia da plântula e do tirodendro de *Arrabidaea mutabilis* Bureau & K. Schum. (Bignoniaceae). **Acta Scientiarum, Biological Sciences** 29(2):131-137.
- Souza, L. A.; Rosa, S. M.; Moscheta I. S.; Mourão, K. S. M.; Rodella, R. A.; D. C. Rocha & Lolis, M. I. G. A. 2005. **Morfologia e anatomia vegetal - técnicas e práticas**. Ponta Grossa, Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa.
- Souza, V. C. & Lorenzi, H. 2005. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII**. Nova Odessa, Instituto Plantarum.
- Swarbrick, J. T. 1971. External mucilage production by the seeds of British plants. **Botanical Journal of the Linnean Society** 64:157-162.
- Vogel, E. F. 1980. **Seedlings of dicotyledons**. Wageningen, Pudoc/Centre for Agricultural Publishing and Documentation.
- Waechter, J. L. 1992. **O epifitismo vascular na planície costeira do Rio Grande do Sul**. 161p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- Wallace, R. S. & Gibson, C. 2002. Evolution and systematics. Pp. 1-21. In: Nobel, P. S. (ed.). **Cacti Biology and Uses**. Berkeley, California, University of California Press.
- Wiggins, I. L. & Focht, D. W. 1967. Seeds and seedlings of *Opuntia echios* J. T. Howell var. *gigantea* dawson. **Cactus and Succulent Journal (USA)** 39:26-30.
- Witztum, A.; Gutterman, Y. & Evenari M. 1969. Integumentary mucilage as an oxygen barrier during germination of *Blepharis persica* (Burm.) Kuntze. **Botanical Gazette** 130(4):238-241.
- Zappi, D.; Aona, L. Y. S. & Taylor, N. 2007. Cactaceae. Pp. 163-193. In: Melhem, T. S.; Wanderley, M. G. L.; Martins, S. E.; Jung-Mendaçolli, S. L.; Shepherd, G. J.; & Kirizawa, M. (eds.). **Flora fanerogâmica do estado de São Paulo**. São Paulo, Instituto de Botânica.

TABELA

Tabela 1. Desenvolvimento morfológico da plântula e planta jovem de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (* estrutura presente, mas suas medidas não foram aferidas).

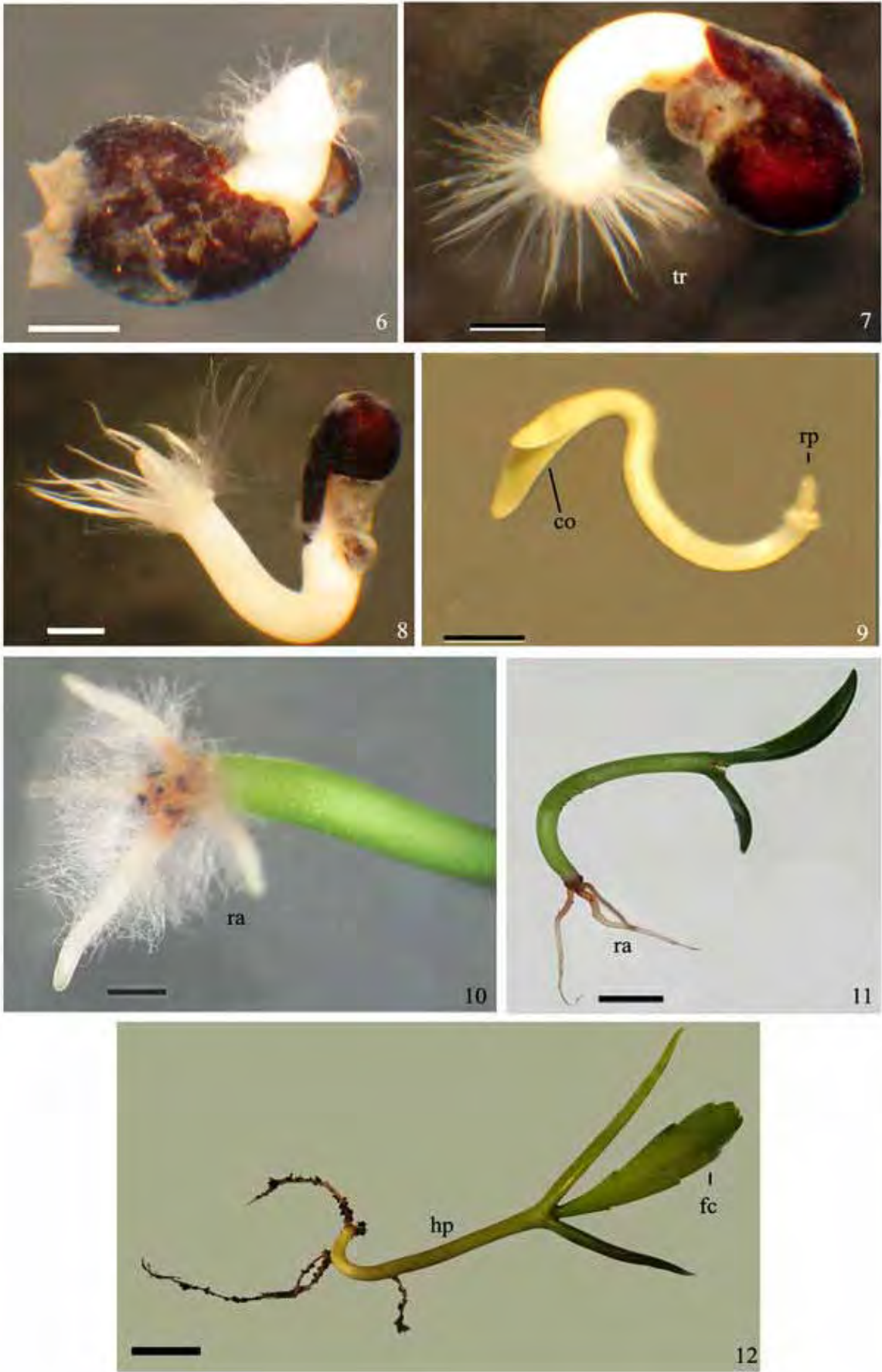
Idade após a Germinação (dias)	Comprimento do Hipocótilo (mm)	Comprimento dos Cotilédones (mm)		Largura dos Cotilédones (mm)		Comprimento das Raízes Adventícias (mm)	Filocládio (Epicótilo) (mm)	
		Maior	Menor	Maior	Menor		Comp.	Larg.
3	6,0	-	-	-	-	-	-	-
6	7,0	7,0	4,0	*	*	*	-	-
14	16,0	8,0 - 12,0	5,0 - 7,0	2,5	2,5	5,0 - 10,0	-	-
30	16,0 - 23,0	10,0 - 15,0	6,0 - 11,0	3,0	3,0	5,0 - 10,0	-	-
120	16,0 - 23,0	10,0 - 15,0	6,0 - 11,0	3,0	3,0	10,0 - 20,0	-	-
210	28,0	20,0	12,0	6,0	6,0	>20,0	17,0 - 25,0	5,0

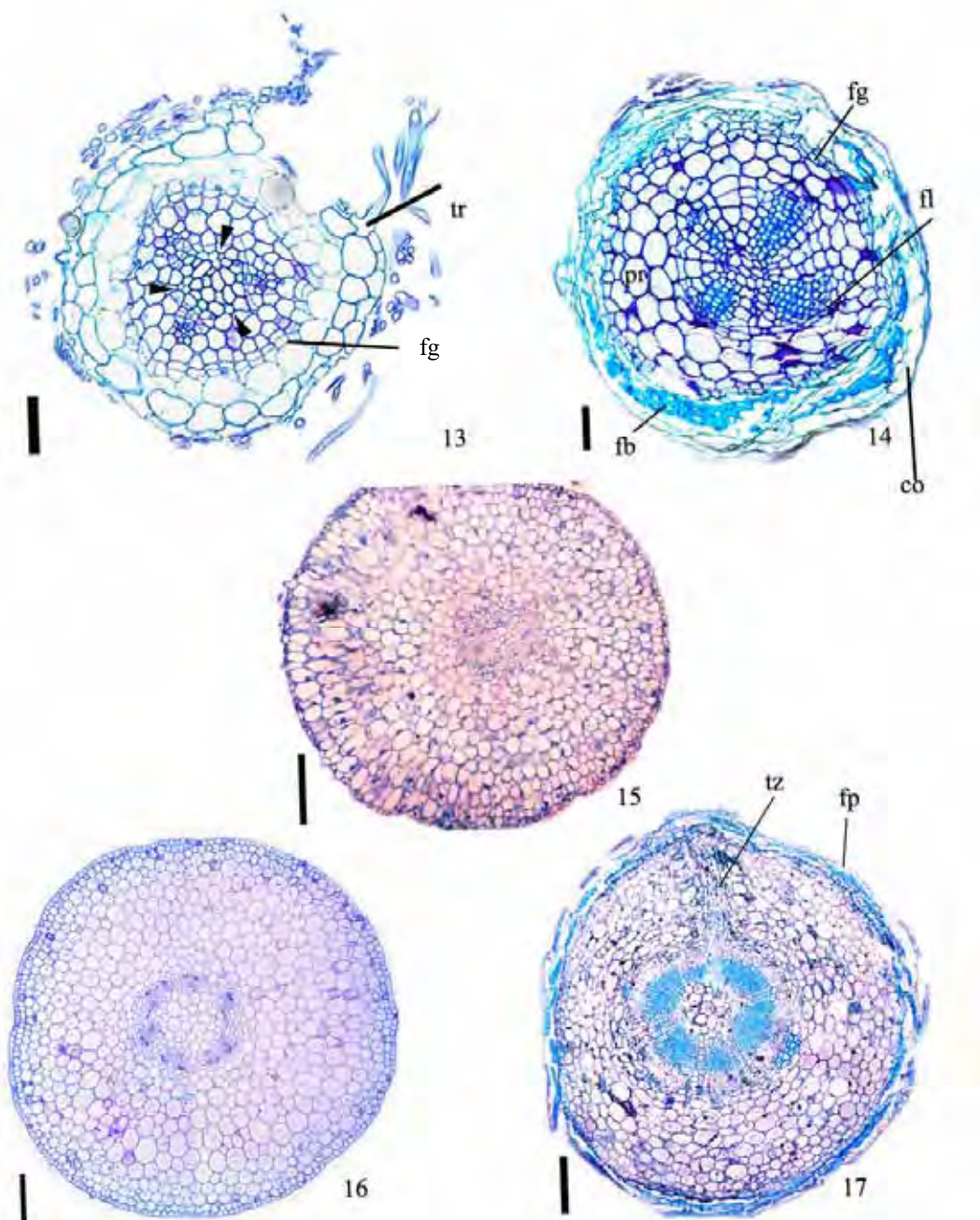
ILUSTRAÇÕES



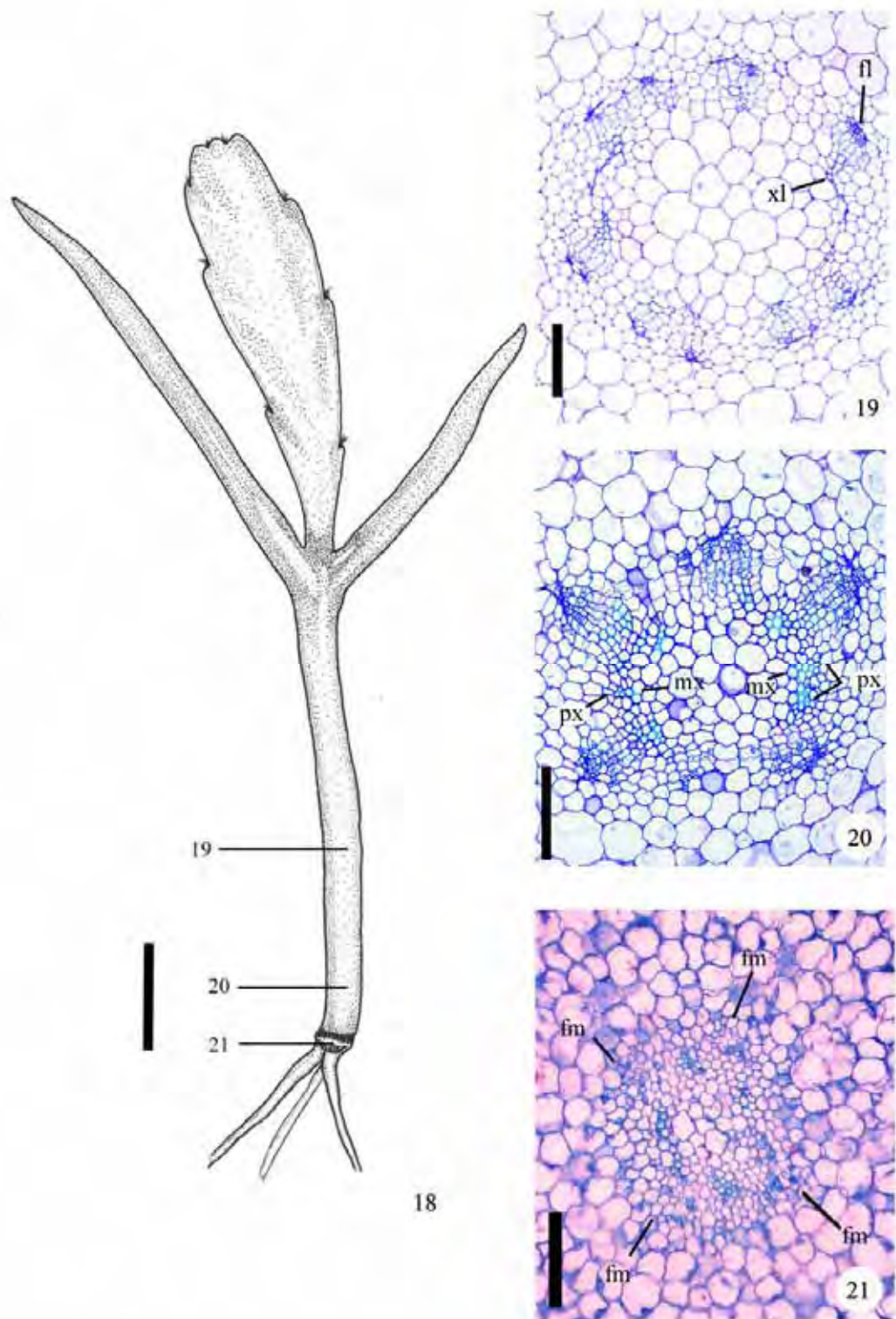
Figuras 1-5. Semente e embrião de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 1. MEV da semente madura. 2-5. Secções longitudinais. 2. Semente madura. 3. Diagrama da semente madura. 4. Detalhe do ápice radicular. 5. Ápice radicular do embrião. (ar = arilo; cp = cordão procambial; em = embrião; ff = feixe vascular do funículo; mf = meristema fundamental; mu = mucilagem; pa = células parenquimáticas da taça hilar; pc = procâmbio; pd = protoderme; RMH = região hilo-micropilar). Barras = 500 μ m (1-3), 50 μ m (4,5).

Figuras 6-12. Desenvolvimento pós-seminal de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 6. Semente, 1º dia da germinação. 7-9. Plântula no 3º, 4º e 6º dias de germinação, respectivamente. 10. Base do hipocótilo com raízes adventícias (plântula com 8 dias). 11. Plântula com 14 dias. 12. Plântula com 210 dias após a germinação (co = cotilédones; fc = filocládio; hp = hipocótilo; ra = raiz adventícia; rp = raiz principal; tr = tricoma). Barras = 2mm (6-8, 10, 11), 3mm (9), 10 mm (12).

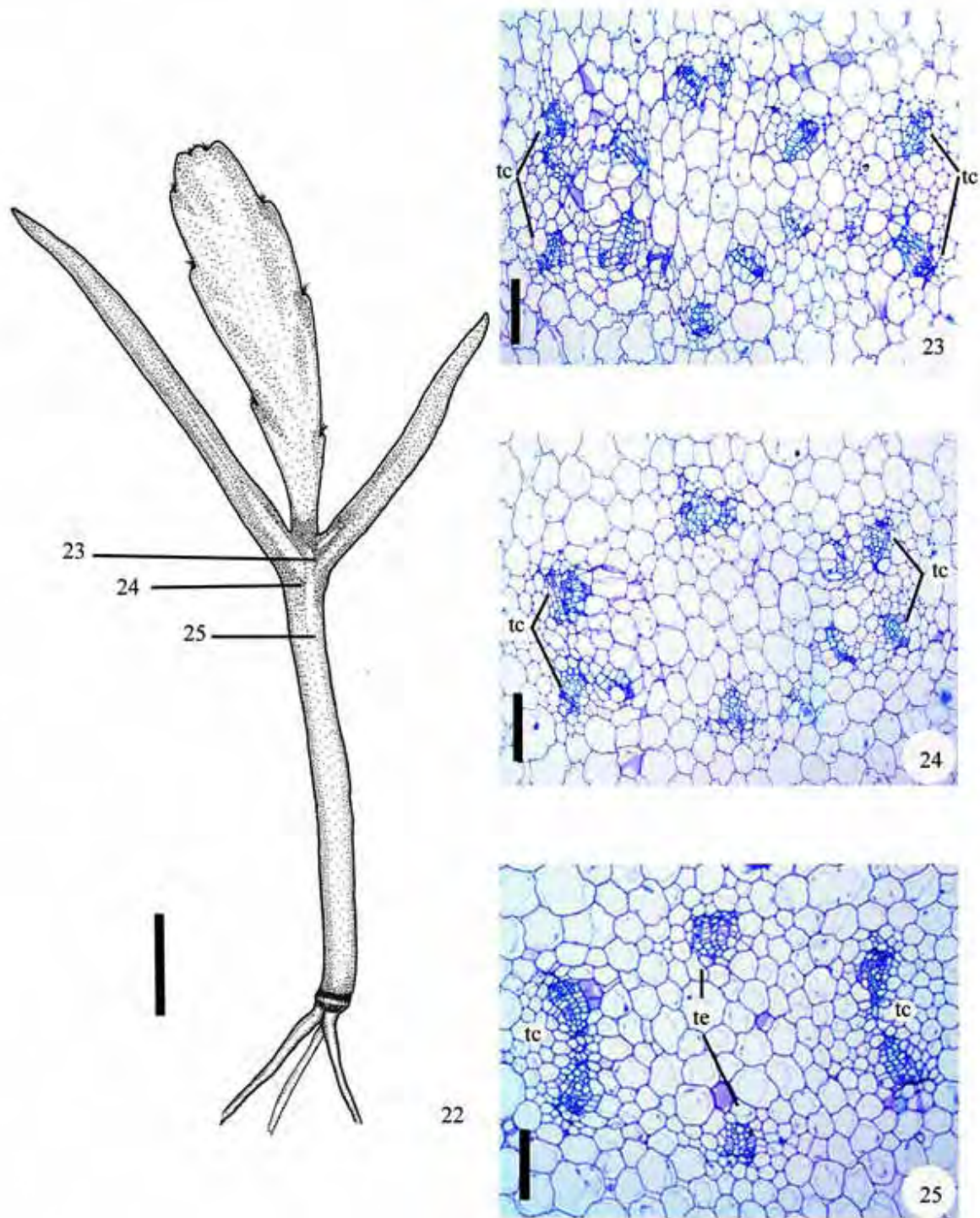




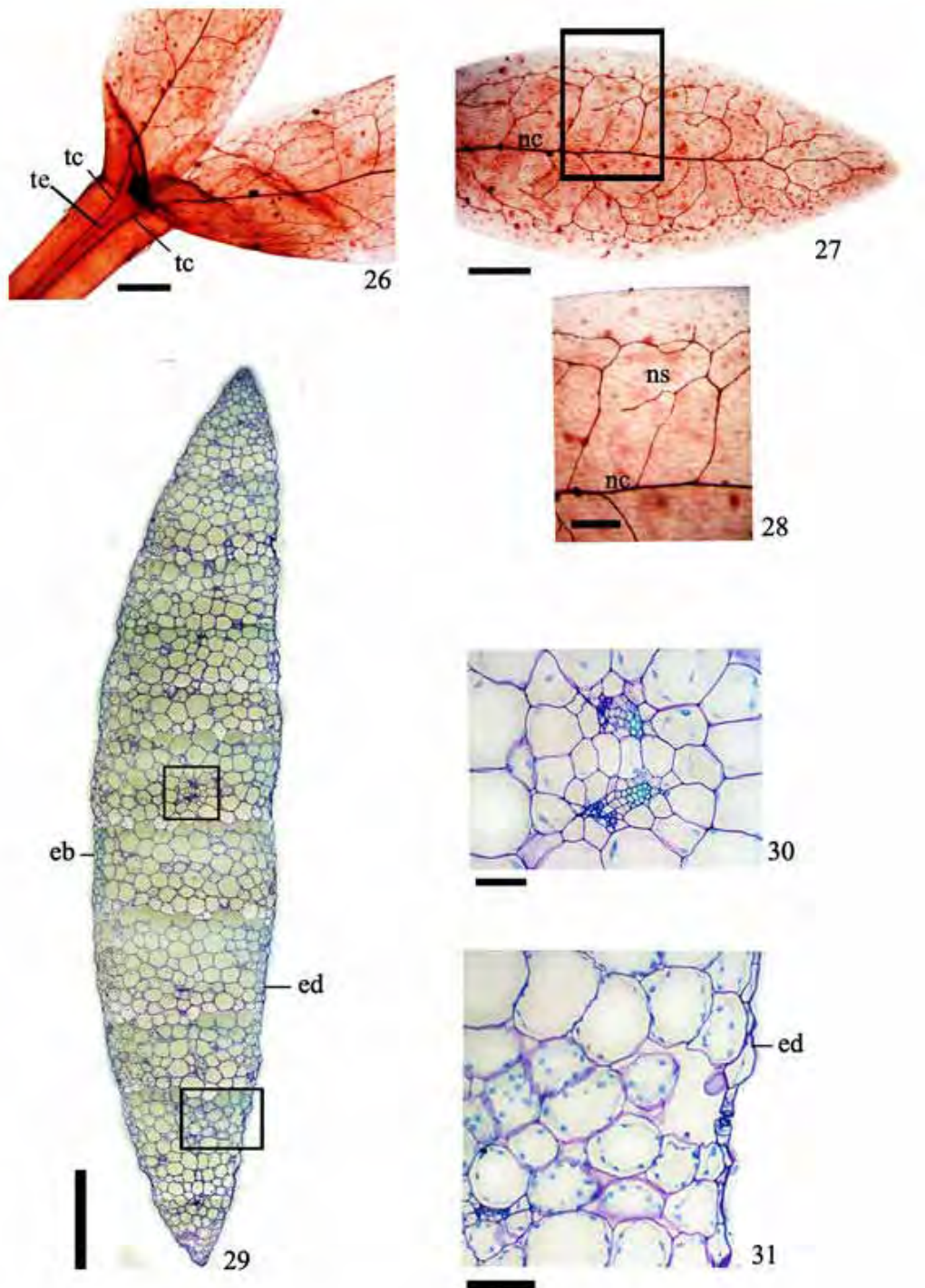
Figuras 13-17. Raiz e hipocótilo de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em secções transversais. 13. Raiz adventícia em estrutura primária. 14. Raiz adventícia em estrutura secundária inicial. 15. Raiz principal (plântula com 3 dias). 16. Hipocótilo em estrutura primária, região mediana (plântula com 180 dias). 17. Hipocótilo em estrutura secundária, região mediana (plântula com mais de 210 dias). (ponta de seta = pólo de proxilema; co = córtex; fb = fibras do suber; fg = felogênio; fl = floema; fp = fibras da periderme; pr = periciclo proliferado; tr = tricoma; tz = traço da raiz adventícia). Barras = 50 μ m (13), 100 μ m (14), 200 μ m (15, 16), 250 μ m (17).



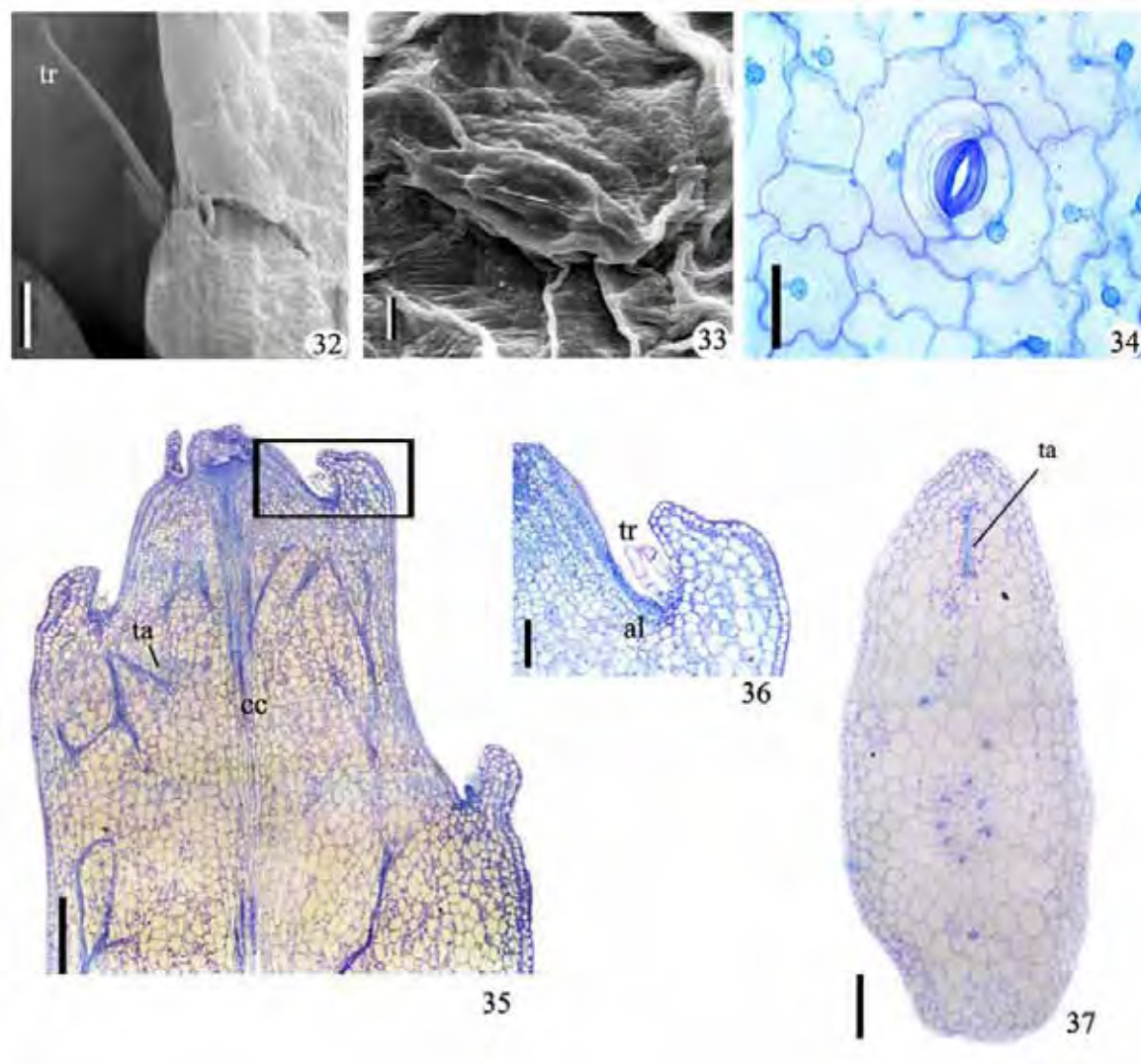
Figuras 18-21. Plântula de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em vista lateral e em secções transversais. 18. Plântula (aspecto geral). 19-20. Hipocótilo (região mediana e basal). 21. Raiz principal. (fl = floema; fm = floema primário; mx = metaxilema; px = protoxilema; xl = xilema). Barras 5 mm (18), 100 μ m (19-21).



Figuras 22-25. Plântula de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. em vista lateral e em secções transversais. 22. Plântula (aspecto geral). 23-24. Nó cotiledonar. 25. Hipocótilo (ápice). (tc = traço cotiledonar; te = traço epicotiledonar). Barras 5 mm (22), 100 μ m (23-25).



Figuras 26-31. Parte da plântula diafanizada e cotilédone de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 26. Ramificação cotiledonar. 27. Folha cotiledonar e detalhe. 28. Pormenor da vascularização cotiledonar. 29. Cotilédone em secção transversal. 30. Detalhe da nervura central. 31. Detalhe da epiderme cotiledonar da face adaxial e mesofilo. (eb = epiderme da face abaxial; ed = epiderme da face adaxial; nc = nervura central; ns = nervuras secundárias; tc = traço cotiledonar; te = traço epicotiledonar). Barras = 1 mm (26, 27), 500 μ m(28), 600 μ m (29), 50 μ m (30), 100 μ m (31).



Figuras 32-37. Filocládio (epicótilo) de *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. 32. MEV da crena do filocládio. 33-34. Epiderme em vista frontal, em MEV e em microscopia de luz. 35. Ápice do filocládio em secção longitudinal. 36. Detalhe da aréola com tricomas. 37. Base do filocládio em secção transversal. (al = aréola; cc = cilindro central; ta = traço da aréola; tr = tricoma). Barras = 200 μm (32, 37), 5 μm (33), 30 μm (34), 300 μm (35), 100 μm (36).