



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



SISTEMA VASCULAR E ATIVIDADE CAMBIAL EM *Alibertia concolor* (CHAM) K. SCHUM. (RUBIACEAE)

NATÁLIA OLIVEIRA TOTTI DE LARA

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica),
Área de concentração: Morfologia e
Diversidade de Plantas.

BOTUCATU

2012



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Julio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

SISTEMA VASCULAR E ATIVIDADE CAMBIAL EM
***Alibertia concolor* (CHAM) K. SCHUM. (RUBIACEAE)**

NATÁLIA OLIVEIRA TOTTI DE LARA

PROF^a DR^a CARMEN REGINA MARCATI
ORIENTADORA

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica),
Área de concentração: Morfologia e
Diversidade de Plantas.

BOTUCATU

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Lara, Natália Oliveira Totti de.

Sistema vascular e atividade cambial em *Alibertia concolor* (Cham.) K.
Schum. (Rubiaceae). – Botucatu: [s.n.], 2012

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biotecnologia de Botucatu

Orientador: Carmen Regina Marcati

Capes: 20302037

1. Anatomia vegetal. 2. Rubiácea. 3. Câmbio (Botânica)

Palavras-chave: Atividade cambial; Câmbio vascular; Diferenciação celular;
Floema secundário; Xilema secundário

“Não é o desafio com que nos deparamos que determina quem somos e em que estamos nos tornando, mas a maneira com que respondemos ao desafio. Somos combatentes, idealistas, mas plenamente conscientes. E enquanto acreditarmos no nosso sonho, nada será por acaso. Que nós não busquemos a vaidade de sermos melhores que os outros, mas que nos contentemos com a tarefa de sermos melhores que nós mesmos” (Henfil).

DEDICO a Deus, que me acompanha por onde quer eu vá.

“Por tudo o que Tens feito,

Por tudo o que Vais fazer

Por Tuas promessas e tudo o que És

Eu quero Te agradecer

Com todo o meu ser”.

Agradecimentos

À Prof^a. Dr^a. Carmen Regina Marcati, pela pessoa maravilhosa que és, pela profissional exemplar que admiro e respeito. Agradeço por toda a paciência e todos os ensinamentos. Convivendo com você aprendi a ter ética, responsabilidade e amor pela pesquisa e pela nossa profissão. Com certeza, sem você ao meu lado, não teria chegado até aqui. Obrigada por tudo, de verdade!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de pesquisa concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), do Instituto de Biociências, UNESP, campus de Botucatu, IBB.

Ao Departamento de Botânica do IBB, pelo apoio institucional e seus espaços físicos.

À Prof^a. Dr^a Silvia Rodrigues Machado, por todo o apoio quando precisei.

À Prof^a Dr^a Tatiane Maria Rodrigues, por me receber de braços abertos no Laboratório de Morfologia Vegetal quando iniciei o mestrado, e por toda a convivência durante o ano de 2011.

Ao Sr. Clemente José Campos, pelo auxílio na identificação da espécie durante a primeira coleta.

Ao Laboratório de Morfologia Vegetal, nas pessoas de: Shelly Favorito, que me ensinou a inclusão do material vegetal; Letícia Souto e Yve Canaveze que me ensinaram a trabalhar no micrótomo rotativo; Kléber Alexandre Campos, pelo auxílio nas demais etapas do trabalho.

Ao Laboratório de Anatomia da Madeira, em especial à Liliane, nossa técnica “mãos de fada”, pelo auxílio com as lâminas histológicas, mas acima de tudo, pela paciência, amizade e conselhos.

À Yve Canaveze, pela amizade, companheirismo, pelo muito que aprendi contigo, pela bióloga completa e divertida.

À Julia Sonsin, pela ajuda na qualificação.

Aos “irmãos científicos”: Fabio Bosio (que ainda é irmão de Graduação – Viva a FURB!), pela disponibilidade, amizade, desdobramentos para me ajudar e muitas horas de conversa sobre atividade cambial; Caroline Caum, pelo bom humor e pelas muitas risadas que me fizeram muito bem, Thaís Gonçalves, Talita Angélico e Larissa Chacon Dória. Obrigada a todos vocês pela amizade e por me recepcionarem tão bem no Laboratório.

À Seção de Pós-Graduação e seus funcionários, sempre prontos a me ajudar e resolver minhas dúvidas.

À Maria Helena Godoy e Inara Coneglian, do Departamento de Botânica, pelo auxílio em questões administrativas, tão importantes para o bom andamento dos prazos.

Aos Setores de Ciências Florestais e Ciências Ambientais, do Departamento de Recursos Naturais da Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP, Botucatu, SP, por ceder seus espaços físicos.

Aos professores do Departamento de Botânica, em especial àqueles que eu tive mais contato: Prof^a Dr^a Carmen Silvia Fernandes Boaro, Prof^a Dr^a Rita de Cassia Sindronia Maimoni-Rodella, Prof^a Dr^a Elza Guimarães Santos, Prof^a Dr^a Gisela Ferreira, Prof^o Dr. João Domingos Rodrigues, Prof. Dr. Roberto Antonio Rodella, pelos ensinamentos em disciplinas e/ou pelos corredores da Botânica.

Aos nossos alunos de PIBIC/Jr., Amanda e Marília e também ao Diego, Tati e Tulio, por terem acreditado no nosso potencial e sempre tornarem nossas quintas-feiras muito produtivas.

À Dra. Suzana Bissacot Barbosa, pelo auxílio nos procedimentos para incorporação de amostras férteis no Herbário BOTU.

Ao Setor de Ciência do Solo, do Departamento de Recursos Naturais da Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP, Botucatu, SP, na pessoa de Adriana Ramos, que me deu todas as instruções para a coleta de solo.

Aos colegas de Departamento, que me ajudaram muito nos mais diversos assuntos: Juliana Iassia Gimenez e Jaqueline Corsato pela amizade, Thaís Ribeiro Carboni e Bruno Trevenzoli Favero, pelo humor mais que constante e necessário, Clívia

Fiorilo, Sérgio “Thunder”, Catarina Netto, Plácido Fabrício, Daniel Baron, João Paulo Naldi, muito obrigada!

À minha querida primeira orientadora Dra. Karin Esemann de Quadros, por todos os aprendizados durante o início da minha formação, que se perpetuaram até aqui, por seu olhar sagaz e por ter me encaminhado a essa Universidade.

Às minhas amigas catarinenses, que mesmo distantes, torcem por mim: Mariáh Damiani, Susana Dreveck, Simone Andrade, Beatrice Stein, Jadna e Gabriela e a toda família Testoni, por sempre me deixarem “em casa”.

À minha família, pelo apoio incondicional, em especial à minha avó Maria Helena, que sempre acha que eu sou a melhor, à Mariana Cristina, que nos deu uma luz chamada Joaquim, e outra que começa a brilhar, a Cecília.

Aos meus pais, Wanda, Elizeu e Silvio, pelo amor, mais que supremo. Por confiarem em mim e me incentivarem a continuar nessa caminhada. Mãe, obrigada por TUDO, por ser meu porto seguro e pela base que você me dá. Esse mundo com você é mais belo.

Ao Marcos, pela paciência e pelo seu sorriso constante, que me alegra e acalma. Pelo amor que me devota e pelo brilho do meu olhar.

A todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte desse trabalho, que por minha memória humana não foram lembrados aqui, minhas desculpas, mas também meus mais sinceros agradecimentos.

Muito Obrigada!!

Sumário

Resumo	1
Abstract	2
Introdução Geral	4
1. A Família Rubiaceae	4
2. Estudos anatômicos do sistema vascular em Rubiaceae	5
3. <i>Alibertia</i> A. Richard ex DC.	7
Revisão Bibliográfica	9
1. Sistema vascular	9
2. Histórico e estrutura do câmbio	10
3. Divisões celulares no câmbio	13
4. Sazonalidade cambial em espécies arbóreas	14
5. Sazonalidade na formação do xilema secundário em espécies arbóreas	16
6. Sazonalidade na formação do floema secundário em espécies arbóreas	18
7. Objetivos	20
Material e Métodos	22
1. Caracterização da área de estudo	22
2. Dados climáticos do município de Botucatu, SP	22
3. Características físico-químicas do solo	23
4. Seleção dos espécimes de <i>Alibertia concolor</i> (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae) e coleta das amostras	24
5. Observações fenológicas	25
6. Estudo anatômico	25
6.1 Preparo do material para anatomia do lenho	25
6.2 Preparo do material para atividade cambial	26
6.3 Dissociação dos elementos celulares de xilema e floema secundários	26
7. Análise macroscópica	27
Figura	28
Capítulo I – Sistema vascular em <i>Alibertia concolor</i> (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae)	31
Resumo	31

Summary	32
Introdução	33
Material e Métodos	35
Resultados	37
Discussão	40
Agradecimentos	48
Referências	49
Tabelas	58
Figuras	61
Capítulo II – Atividade cambial e diferenciação celular em <i>Alibertia concolor</i> (Cham) K. Schum	
(Rubiaceae)	69
Resumo	69
Summary	70
Introdução	71
Material e Métodos	72
Resultados	74
Discussão	77
Agradecimentos	84
Referências	85
Tabelas	90
Figuras	92
Considerações Finais	99
Referências Bibliográficas	102

LARA, N.O.T. **SISTEMA VASCULAR E ATIVIDADE CAMBIAL EM *ALIBERTIA CONCOLOR* (CHAM.) K. SCHUM. (RUBIACEAE)**. 2012. 117P. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO – A família Rubiaceae é a quarta maior família entre as eudicotiledôneas, possui distribuição pantropical com representantes arbustivos a arbóreos, sendo as regiões sul-americanas aquelas que superam todas as regiões do mundo em diversidade de espécies da família. Em ambientes tão diversos, um conjunto de fatores pode influenciar, direta ou indiretamente, a atividade do câmbio vascular nas espécies arbóreas desses ambientes e consequentemente em seus produtos, o xilema e floema secundários. Assim, este estudo abrange a caracterização do sistema vascular secundário bem como a atividade cambial e a diferenciação celular em relação à fenologia da espécie e às condições climáticas da região. Para tanto, foi escolhida a espécie *Alibertia concolor* (Cham) K. Schum. (Rubiaceae) por apresentar camadas de crescimento bem demarcadas no lenho, com potencial para análise de atividade cambial e periodicidade de crescimento. Foram realizadas seis coletas em cinco espécimes em área de floresta estacional semidecidual no Jardim Botânico da UNESP, Campus de Botucatu, no ano de 2010. Xilema e floema secundários mostram um paralelismo entre suas características anatômicas. O xilema secundário da espécie apresenta camadas de crescimento demarcadas por faixas marginais de parênquima axial, enquanto que o floema secundário apresentou faixas tangenciais de fibras intercalando as camadas de células vivas do floema. Porosidade difusa foi visualizada nos vasos do xilema secundário e também não foi observada diferença no tamanho dos elementos de tubo crivado no floema secundário quando comparados os floemas inicial e tardio. Os elementos de vaso do xilema secundário possuem placa de perfuração simples e os elementos de tubo crivado, por sua vez, possuem placas crivadas simples. Fibras gelatinosas e não gelatinosas foram observadas em ambos os tecidos vasculares. Os raios são predominantemente unisseriados e bisseriados no xilema secundário e no floema secundário. Os resultados fenológicos mostraram que a espécie é sempre-verde, entretanto, há um período marcante de brotação e expansão de gemas em dezembro. Botões florais e floração foram observados em janeiro-fevereiro. O início de atividade cambial, em dezembro, apresenta relação positiva à sazonalidade pluviométrica e brotação. O término da atividade cambial ocorreu em fevereiro, em plena estação chuvosa, permanecendo até outubro em dormência. No período de dormência as células iniciais cambiais apresentaram-se retangulares, expandidas, com paredes espessas bem como aspecto de “contas de rosário” visto em secção longitudinal tangencial. Em comparação a esse período, o início de atividade demonstrou células cambiais com paredes recém-formadas, muito finas, com núcleos proeminentes e alterações anatômicas desses núcleos. A diferenciação celular de xilema e floema secundários ocorreu concomitantemente de fevereiro até abril.

Palavras-chave: *Alibertia concolor*, câmbio vascular, diferenciação celular, floema secundário, xilema secundário.

LARA, N.O.T. **VASCULAR SYSTEM AND CAMBIAL ACTIVITY IN *ALIBERTIA CONCOLOR* (CHAM.) K. SCHUM. (RUBIACEAE)**. 2012. 117p. DISSERTATION (MASTER). INSTITUTE OF BIOSCIENCES, UNESP – SÃO PAULO STATE UNIVERSITY, BOTUCATU.

ABSTRACT – The family Rubiaceae is the fourth largest family between eudicotyledonous. It has a pantropical distribution with shrubs to trees. In South American regions the family surpass all regions of the world in species diversity. In such diverse environments a set of factors can influence, directly or indirectly, the activity of vascular cambium in woody species of this family, and thus their products, the secondary xylem and phloem. The goal of this study was to characterize the secondary vascular system in one of the representative species from Rubiaceae, *Alibertia concolor* (Cham) K. Schum., its cambial activity and cell differentiation in relation to the phenology of the species and climatic conditions of the region. The species was selected because the growth rings in the wood were well-defined which suggests growth periodicity. We collected periodically samples of five specimens in a semideciduous forest at the Botanical Garden of UNESP, Botucatu, in the year 2010. Secondary xylem and phloem show a parallel between their anatomical characteristics. Marginal bands of axial parenchyma delimits growth rings in the xylem while tangential fiber bands are present in the phloem. Diffuse porosity in the xylem and no difference in the size of sieve tube elements in the phloem. Simple perforation plates in vessel elements, and simple sieve plates in sieve tube elements. Rays are predominantly uniseriate and biseriate in the xylem as well as in the phloem. The species is evergreen, however, there is a remarkable period of growth and sprouting of buds in December. Flower buds and flowering were observed in January-February. The initiation of cambial activity occurred in December, and it was related to the first rains and budding. The ending of cambial activity occurred in February, rainy season, and cambium remained dormant until October. In the dormant period, initial cells were rectangular, expanded, thick walled, and it had a beaded appearance in tangential section. Compared to this period, the initiation of cambium activity was recognized by the presence of very thin, recently formed periclinal cell walls with prominent nuclei and anatomical changes of these nuclei. The cellular differentiation of xylem and phloem occurred concurrently from February to April.

Key-words: *Alibertia concolor*, cellular differentiation, secondary phloem, secondary xylem, vascular cambium.



*Introdução Geral
e Revisão Bibliográfica*

Introdução Geral

1. A Família Rubiaceae

A família Rubiaceae Jussieu (1789) pertence à Ordem Gentianales Jussieu Ex. Bercht. & J. Presl (1820) (APG III, 2009; JUDD *et al.*, 2009) juntamente com mais quatro famílias: Gentianaceae, Apocynaceae, Loganiaceae e Gelsemiaceae (JUDD *et al.*, 2009). É a quarta maior família de plantas entre as angiospermas, com aproximadamente 550 gêneros e 9000 espécies (JUDD *et al.*, 2009), somente atrás de Asteraceae, Orchidaceae e Fabaceae (MABBERLEY, 1997). Possui distribuição cosmopolita, porém mais diversa em regiões tropicais e subtropicais (JUDD *et al.*, 2009) e hábito arbustivo a arbóreo (DELPRETE, 1999). Rubiaceae possui características que a distinguem das demais famílias como: folhas opostas com presença de estípulas interpeciolares, comumente providas de coléteres, ovário ínfero, presença de endosperma nuclear e alcalóides (JUDD *et al.*, 2009). A presença de estípulas interpeciolares portadoras de coléteres é uma das características vegetativas mais importantes de Rubiaceae (BARREIRO, 2006).

A origem de Rubiaceae é própria das regiões mais quentes do mundo, principalmente dos trópicos. Grande parte das espécies dessa família encontra-se nessas regiões, diminuindo gradativamente em direção aos pólos. Segundo Bremer e Erikson (2009), a família teve origem no continente americano com a maioria de seus fósseis remetidos ao Mioceno (23 milhões de anos), contudo o fóssil mais antigo relatado para a família data do Paleoceno (65 milhões de anos). Sua distribuição pantropical é comprovada pelas descobertas de fósseis de espécies da família em todos os continentes (BREMER e ERIKSON, 2009). A América do Sul supera todas as regiões do planeta, contendo 30% ou mais do total de espécies da família, seguida da Ásia com 25% e África com 15% (SCHUMANN, 1889). Os gêneros *Coprosma* J. R. Forster & G. Forster, *Sherardia* L. e *Galium* L. são encontrados por todo o mundo (BREMER e ERIKSON, 2009), com representantes desde o ártico com *G. uliginosum* L., como também nas Ilhas Malvinas, na América do Sul (SCHUMANN, 1889; CHIQUIERI *et al.*, 2004).

No Brasil, a família é representada por aproximadamente 130 gêneros e 1500 espécies, sendo considerada uma das principais famílias da flora brasileira (SOUZA e LORENZI, 2005; CONSOLARO, 2008). Destaca-se em Rubiaceae espécies de considerável expressão econômica como o café, feito a partir de sementes misturadas de

Coffea arabica L. e *C. robusta* L. (JUDD *et al.*, 2009), farmacológica pela presença de quininos presentes na casca de espécies de *Cinchona* L., (JORGE, 2005; JUDD *et al.*, 2009; SILVA e ARAGÃO, 2009), visto como potencial anti-malárico (JUDD *et al.*, 2009; SILVA e ARAGÃO, 2009), ornamentação e paisagismo (CORREA, 2003).

A taxonomia de Rubiaceae tem passado, ao longo dos anos, por algumas transformações, principalmente no que diz respeito à delimitação das categorias de subfamílias e tribos. Segundo Pereira (2007), este fato deve-se à elevada riqueza e variedade de caracteres morfológicos. Em classificações mais antigas (SCHUMANN, 1897 *apud* KOEK-NOORMAN, 1969b) foram criadas duas subfamílias, Cinchonoideae e Coffeoidae, baseadas em apenas um caráter: o número de sementes por carpelo, sendo muitas em Cinchonoideae e apenas uma em Coffeoidae (BREMER e JANSEN, 1991). Mais tarde, Verdcourt (1958) utilizou mais caracteres em seus sistemas como: estruturas do tegumento da semente e aspectos da biologia floral e reconheceu duas subfamílias: Cinchonoidae e Rubioidae. Bremekamp (1966 *apud* KOEK-NOORMAN, 1969b) discordando da classificação anterior e baseando-se em presença/ausência de ráfides e escassez/abundância de endosperma na semente divide Rubiaceae em cinco subfamílias: Cinchonoidae, Ixoroidae, Rubioidae, Urophyllloideae e Hillioidae (KOEK-NOORMAN, 1969b). Na classificação de Robbrecht (1988), Rubiaceae é dividida em quatro subfamílias: Rubioidae, Cinchonoidae, Antirheoidae e Ixoroidae. Essa classificação foi a mais utilizada nos trabalhos referentes à Rubiaceae, contudo, estudos filogenéticos recentes baseados em dados moleculares indicam que a família Rubiaceae deve ser dividida em três subfamílias: Cinchonoideae, Ixoroideae e Rubioideae (BREMER *et al.*, 1995; BREMER e ERIKSON, 2009).

2. Estudos anatômicos do sistema vascular em Rubiaceae

Os primeiros estudos anatômicos para a família são referentes ao estudo do xilema secundário. Um dos trabalhos pioneiros foi o de Van Riemsdijk (1875 *apud* JANSEN *et al.*, 2002) que descrevia a anatomia da madeira do gênero *Coffea* L. Já, no século XX, os autores Moll e Janssonius (1926) publicaram descrições anatômicas do xilema secundário de vinte e seis gêneros da família, referentes a espécies da Índia. Uma compilação de características anatômicas de Rubiaceae foi reunida pelos autores Metcalfe e Chalk (1950) em seu livro “*Anatomy of Dicotyledons*”, representando 150 gêneros da família.

No final dos anos 60, pesquisas realizadas no Suriname e outras partes da América do Sul foram as primeiras a tratar da anatomia do xilema secundário de espécies dessas regiões. Esses trabalhos resultaram em cinco artigos publicados por Koek-Noorman (1969a, b; 1970; 1972; 1974).

O trabalho de Jansen *et al.* (2002) reúne todos os estudos acerca da anatomia da madeira de Rubiaceae. Os autores fizeram uma compilação de características anatômicas e evidenciam aquelas de valor taxonômico para a família: tipos de fibras e distribuição do parênquima axial. Segundo os autores, as fibras septadas estão presentes em 25% dos gêneros e são restritas a 11 tribos; a distribuição do parênquima axial varia de ausente como em *Psychotria chionantha* (DC.) Britton, difuso em *Oldenlandia filifolia* K. Krause e em faixas em *Duroia aquatica* (Aubl.) Bremek, *Colletocema dewevrei* (De Wild.) E.M.A.Petit e *Alibertia* A. Richard ex DC.

No Brasil, alguns estudos denotam essas características em espécies da flora local. Barros *et al.* (2001a, b) estudaram a anatomia da madeira de diferentes espécies de Rubiaceae da Floresta Atlântica do Rio de Janeiro. *Bathysa stipulata* (Vell.) J. Presl. apresenta camadas de crescimento ausentes ou pouco distintas, porosidade difusa, vasos solitários, fibrotraqueídes septadas e células perfuradas de raio (BARROS *et al.*, 2001a). Dessas características citadas, difere-se de *Bathysa cuspidata* (St. Hil.) Hook. f. por não apresentar camadas de crescimento (BARROS *et al.*, 2001b). Por outro lado, *Coussarea congestiflora* Müll. Arg. possui camadas de crescimento distintas demarcadas pelo achatamento radial das fibras e maior espessamento de suas paredes no lenho tardio. Quanto aos vasos, são de porosidade difusa, solitários em arranjo diagonal, possui fibrotraqueídes septadas e não septadas e também células perfuradas de raio (BARROS *et al.*, 2001b). Callado e Silva Neto (2003) estudaram três espécies do gênero *Simira* Aubl. da Floresta Atlântica do Rio de Janeiro e discutem os caracteres em relação à taxonomia. Separam as espécies devido às diferenças encontradas no tipo de inclusões inorgânicas nos raios, frequência, diâmetro e comprimento dos vasos e ainda a frequência, largura e comprimento dos raios e fibras. Silva *et al.* (2010) estudaram a espécie *Alseis pickelli* Pilger et Shmale da Estação Ecológica de Guaxindiba, Rio de Janeiro e observaram camadas de crescimento demarcadas pelo achatamento radial das fibras, vasos solitários com arranjo radial e células perfuradas de raio.

Outros trabalhos correlatos acerca do estudo de xilema e floema secundários foram realizados somente com algumas espécies da família (ROTH, 1981; LINDORF, 2005; MARTÍNEZ-CABRERA *et al.*, 2010; COELHO *et al.*, 2012). Roth (1981)

estudou a casca de diversas espécies tropicais da Guiana Venezuelana, entre essas algumas pertencentes à Rubiaceae e descreve algumas características para o floema secundário, tornando-se trabalho importante na área. Lindorf (2005) trabalhou com *Uncaria guianensis* (Aubl.) J.F.Gmel. e *U. tomentosa* (Willd.) DC e percebeu que os caracteres anatômicos do xilema secundário das duas espécies foi muito similar, bem como aqueles de floema secundário, sendo necessário identificar as espécies através da distribuição das fibras no floema; Martínéz-Cabrera *et al.* (2010) pesquisaram seis espécies da tribo Hamelieae e comparou-as entre si, identificando possíveis caracteres taxonômicos; Coelho *et al.* (2012) estudaram *Bathysa cuspidata* (St. Hil.) Hook. f. em níveis anatômico, histoquímico e fitoquímico das folhas, xilema secundário e floema secundário da espécie. Importante ressaltar que os gêneros *Uncaria* e *Bathysa* são empregados pela população como plantas medicinais, sendo suas folhas e/ou cascas utilizados em chás curativos, daí a importância dada pelos autores em estudar os tecidos dessas plantas.

3. *Alibertia* A. Richard ex DC.

O gênero *Alibertia* A. Richard ex DC. (Rubiaceae – Ixoroidae) inclui 120 espécies sendo todos os membros do grupo arbustos ou árvores com flores brancas ou esbranquiçadas, frutos indeiscentes e carnosos (PEREIRA e BARBOSA, 2004). Espécies desse gênero são popularmente conhecidas como ‘marmelo’ ou ‘marmelinho-do-cerrado’ e possuem importância alimentícia e medicinal para as populações da região de cerrado (RODRIGUES e CARVALHO, 2001).

Os trabalhos de Koek-Noorman (1969a, 1969b, 1972) são os pioneiros a tratar da anatomia do xilema secundário para o gênero. Em seu primeiro trabalho, Koek-Noorman (1969a) comenta diferenças encontradas entre as espécies *Alibertia edulis* e *A. myrciifolia*, quando comparadas a outros gêneros da família, sobre distribuição dos vasos, tipos de fibras, composição do raio e parênquima axial. Com base nesses dados, a autora sugere estudos mais detalhados acerca do gênero, para esclarecer se essas diferenças existem entre as espécies de *Alibertia* (KOEK-NOORMAN, 1969b).

No Brasil, os trabalhos na literatura envolvendo o gênero *Alibertia* são, em sua maioria, de caráter farmacêutico ou químico, devido à presença de diferentes metabólitos secundários, como triterpenos, alcalóides e flavonóides em *A. edulis* A. Rich (BROCHINI *et al.*, 1994), *A. macrophylla* K. Schum. (BOLZANI *et al.*, 1991; YOUNG *et al.*, 1992), *A. myrciifolia* Sprunge ex. Schum. (LUCIANO *et al.*, 2004;

LUCIANO *et al.*, 2010) e *A. sessilis* (Vell.) K. Schum (OLEA *et al.*, 1997; SILVA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2007). Pesquisas envolvendo estudos da morfologia ou da anatomia de órgãos de diferentes espécies do gênero são pouco encontradas. Barreiro e Machado (2007) estudaram a estrutura de coléteres em *A. sessilis*, caracterizando-os anatômica e histoquimicamente. Amplo estudo sobre a anatomia do xilema secundário de diferentes espécies do cerrado foi redigido por Sonsin (2006, 2010). Nesse estudo, a autora afirma que *Alibertia concolor* (Cham.) K. Schum. possui camadas de crescimento bem definidas no lenho, demarcadas por faixas marginais de parênquima axial. No mais, não foram encontradas referências na literatura abordando características do câmbio ou mesmo do floema secundário para *A. concolor*, espécie escolhida para este trabalho.

Revisão Bibliográfica

1. Sistema vascular

A origem e diversificação dos tecidos vasculares em plantas terrestres marcam um acontecimento sem igual na história da vida das plantas. A tomada dos ambientes terrestres pelas plantas vasculares deu-se em torno de 480-360 milhões de anos atrás, na era Paleozóica (KENRICK e CRANE, 1997). Desde então, as plantas têm elaborado estratégias para sobrevivência nesses ambientes e apresentado uma variedade de órgãos complexos e sistemas de tecidos (KARLSSON, 2003). Segundo Karlsson (2003), o estabelecimento das plantas terrestres coincide com o aparecimento de um tecido que fosse suficientemente capaz de transportar a água do solo até as folhas bem como oferecer apoio estrutural. Além disso, um mecanismo de transporte que facilitasse a passagem de fotoassimilados e outras substâncias necessárias para o crescimento dessas plantas.

O tecido vascular em gimnospermas e angiospermas sofre modificações no decorrer da vida do vegetal, de forma a garantir a sobrevivência das plantas em seus ambientes. Segundo Esau (1974), a origem do tecido vascular no caule de uma planta com sementes só é compreendido quando se estuda seus tecidos meristemáticos procedentes: procâmbio – que forma o sistema vascular no corpo primário da planta – e câmbio vascular – responsável pelo estabelecimento do sistema vascular secundário. Os efeitos do crescimento secundário podem criar considerável tensão no interior do caule, especialmente em relação a tecidos localizados externamente ao câmbio. Esau (1974) argumenta que a medula e o xilema primário – que agora está isolado do floema primário – acabam sendo revestidos pelo xilema secundário. O floema primário é deslocado para fora e o floema secundário começa a ser depositado pelo câmbio vascular, aumentando em circunferência e acompanhando o crescimento lateral do caule. Segundo Costa *et al.* (2006), esses tecidos são contínuos através de todo o corpo da planta, entre os órgãos vegetativos e reprodutivos das plantas vasculares, formando um verdadeiro sistema vascular.

A formação de xilema e floema secundários envolve processos complexos, alguns dos quais serão tratados mais adiante. Considerando a importância do sistema vascular no corpo vegetal, alguns pesquisadores tomaram como objetivo conhecer a estruturas desses tecidos. Trabalhos que estabelecem relações entre xilema e floema secundários em espécies arbóreas foram, em sua maioria, realizados por Carlquist

(1989, 1990, 1991, 1993, 1995, 1996, 1999, 2005, 2008) em caráter taxonômico. Para Carlquist (1991), a anatomia do xilema secundário é interessante porque contém características que sugerem relações entre as espécies e que são sensíveis às mudanças ambientais e, juntamente com o estudo do floema secundário, trariam indicativos dessas relações. Entretanto, possíveis analogias entre xilema e floema secundários, não são contempladas nesses trabalhos.

2. Histórico e estrutura do câmbio vascular

A natureza e o desenvolvimento do câmbio vascular foram incertos durante muito tempo. Lachaud *et al.* (1999), em seu trabalho de revisão sobre a estrutura e função do câmbio, afirmam que no início das pesquisas o câmbio era considerado como “*um líquido nutritivo entre a madeira e a casca*” ou ainda “*suco nutritivo ou substância elaborada para fornecer material para o crescimento das plantas*”. Pouco se sabia a respeito da morfologia ou origem do câmbio. Uma revisão histórica detalhada feita por Larson (1994) afirma que Mirbel (1808 *apud* LARSON, 1994) foi o primeiro autor a usar o termo câmbio em sentido botânico e a reconhecer que o câmbio vascular produz externamente o floema e internamente o xilema, ambos de origem secundária. Essa origem secundária provém do câmbio ser derivado do procâmbio, que é responsável pela produção de tecidos vasculares primários (FAHN, 1990; EVERT, 2006).

A definição de câmbio foi por muito tempo controversa e incerta, existindo três teorias iniciais para explicar seu desenvolvimento: (i) hipótese de câmbio bisseriado, (ii) unisseriado e (iii) multisseriado. Segundo a primeira teoria de Theodor Hartig (1853 *apud* LARSON, 1994), a expansão radial ocorria através de duas células-mãe: uma acrescentava exclusivamente células para o xilema secundário e a outra, células exclusivamente para o floema secundário (LARSON, 1994). Assim, Hartig acreditava que o câmbio era bisseriado e que as células-mãe eram permanentes e reconhecidas através de sua forma, estrutura e tamanho. Essa teoria perdeu credibilidade com o próprio autor, por volta de 1878, que admitiu a dificuldade em reconhecer as células-mãe e a possibilidade de células recém produzidas fazerem parte do câmbio.

A segunda teoria de câmbio unisseriado é defendida por Sanio (1873 *apud* LARSON, 1994) trabalhando com *Pinus silvestris* L. (Pinaceae). Conforme o autor, uma única célula-mãe se dividia tangencialmente para produzir ora células para o xilema secundário, ora células para o floema secundário. Dessa maneira, o câmbio poderia ser considerado unisseriado. Nesse trabalho, o autor observou que as células

iniciais tinham o mesmo tamanho e forma da célula derivada produzida, o que para ele provava que toda a série era uma progênie de uma mesma célula inicial. Sanio notou que após a formação da placa celular, cada uma das novas células-filhas delimita seu protoplasto com uma parede primária nova, esclarecendo o porquê das paredes radiais na zona cambial serem sempre muito mais espessas do que as paredes tangenciais (EVERT, 2006).

A terceira teoria de câmbio multisseriado foi postulada por Raatz (1892 *apud* LARSON, 1994). O autor partiu da premissa de que a teoria anterior, de Sanio, teria sido baseada em experimentos com árvores adultas e de crescimento lento e não havia nenhum relato que esse comportamento fosse equivalente em árvores jovens. Ao contrário de Sanio, Raatz estudou espécimes de crescimento rápido em *Pinus* e *Picea* e não encontrou as células conforme descritas na teoria anterior. O autor observou várias camadas de células, produzidas de forma ininterrupta, tanto para o xilema secundário quanto para o floema secundário.

Posteriormente, diversos trabalhos discutiam as duas teorias, tentando explicar a organização e entender melhor a dinâmica do câmbio. Um dos trabalhos que elucidou essa temática foi o de Bailey (1920) que tratava das variações da atividade cambial em gimnospermas e angiospermas. Hoje se sabe que o câmbio vascular é um meristema lateral responsável por produzir os tecidos vasculares secundários que consiste de células iniciais e suas derivadas imediatas. Em aspecto tridimensional, o câmbio forma um cilindro contínuo de células nos caules e raízes (EVERT, 2006).

Larson (1994) argumenta que o câmbio, por produzir células-filhas que diferenciam os tecidos especializados, deve ser considerado dinâmico. Suas células derivadas variam tanto em forma quanto em função, e ainda na taxa de produção em diferentes posições na árvore, de acordo com fatores internos e externos.

Três padrões são conhecidos para a origem do câmbio no caule revisados por Angyalossy e Marcati (2006), a saber: (i) a partir do procâmbio dos feixes vasculares, o qual irá formar xilema e floema secundários que ficarão restritos a esses feixes. O câmbio formado nos feixes vasculares a partir de então é chamado de câmbio fascicular (CUTTER, 1987; ANGYALOSSY e MARCATI, 2006); (ii) a partir de um procâmbio contínuo, que forma um cilindro e, subsequentemente, xilema e floema secundários serão formados continuamente no caule e (iii) a partir do contato das células do tecido interfascicular com o procâmbio dos feixes. O câmbio formado a partir do tecido parenquimático entre os feixes é chamado de câmbio interfascicular (CUTTER, 1987;

ANGYALOSSY e MARCATI, 2006). Essas células parenquimáticas, estimuladas pela proximidade do câmbio interfascicular, retomam suas características meristemáticas e podem, dessa forma, constituir juntamente com o câmbio fascicular, um cilindro contínuo no caule, que será responsável pela formação dos elementos celulares do corpo secundário da planta.

O câmbio vascular é composto por células meristemáticas, chamadas de iniciais cambiais, a partir das quais as células de xilema e floema secundários serão derivadas (ESAU, 1974). As iniciais cambiais e as derivadas dividem-se, formando uma zona de células imaturas, a zona cambial (ESAU, 1974). Pode se tornar difícil a visualização das células iniciais em relação às suas recém-derivadas e ainda, essas podem não estar alinhadas entre si (ANGYALOSSY e MARCATI, 2006).

As células iniciais combinam autoperpetuação com adição de novas células para o corpo da planta. Sendo assim, há um processo contínuo de divisão celular que resulta, a cada ciclo, dois tipos de células-filhas: aquela que permanece como célula inicial e aquela denominada de célula derivada. Câmbio enquanto tecido meristemático lateral implica considerar esses dois tipos de células (ANGYALOSSY e MARCATI, 2006). Conforme Fahn (1990), as paredes celulares das células iniciais possuem plasmodesmos, que são conexões que unem cada célula à sua vizinha, formando uma entidade interconectada (ROBERTS e OPARKA, 2003). O trabalho de Roberts e Oparka (2003) revisa como ocorre o controle do transporte simplástico entre os plasmodesmos e, dessa forma, afirmam que durante a divisão e diferenciação das células meristemáticas, os plasmodesmos são formados em cada placa celular em desenvolvimento, permitindo uma continuidade citoplasmática entre todas as células filhas e, em última instância, entre todas as células do tecido em desenvolvimento.

Morfologicamente, as células iniciais podem ser chamadas de iniciais fusiformes e iniciais radiais (ESAU, 1965; CUTTER, 1987; FAHN, 1990; EVERT, 2006). As células iniciais radiais são quase isodiamétricas e constituem o sistema radial do câmbio, que irão se diferenciar em raios parenquimáticos (ESAU, 1965). Em contrapartida, as iniciais fusiformes são alongadas no plano longitudinal do caule (ESAU, 1965; CUTTER, 1987), sendo retas em secções radiais e com terminações afiladas em secção tangencial (ESAU, 1965; ANGYALOSSY e MARCATI, 2006). As células iniciais fusiformes, juntamente com as suas derivadas, originam o sistema axial da planta, que formarão as células constituintes do xilema e floema secundários, que são paralelas ao eixo vertical do caule (ESAU, 1965; ANGYALOSSY e MARCATI, 2006).

Exemplos dessas células dados por Evert (2006) são: elementos traqueais, fibras e parênquima axial no xilema; elementos crivados, fibras e parênquima axial no floema.

As iniciais fusiformes mostram uma grande variação de suas dimensões e volume de acordo com cada espécie. Podem variar, em milímetros, de 0,2 e 8,0mm, em *Robinia* sp. e *Sequoia sempervirens* Endl., respectivamente, em trabalhos já descritos na literatura (ver EVERT, 2006). Essas células dividem-se periclinalmente, no sentido longitudinal (ESAU, 1965; CUTTER, 1987; EVERT, 2006), resultando em células derivadas tanto para o interior quanto para o exterior do câmbio (ESAU, 1965; ANGYALOSSY e MARCATI, 2006).

Em algumas espécies, as iniciais fusiformes podem ter um arranjo de tal forma que confira ao câmbio estrutura estratificada ou não-estratificada (CUTTER, 1987; ANGYALOSSY e MARCATI, 2006; EVERT, 2006). Segundo Evert (2006), em um câmbio estratificado, as iniciais fusiformes são dispostas em fileiras horizontais com as extremidades das células de uma camada aparecendo aproximadamente no mesmo nível, o que não ocorre na estrutura não-estratificada, onde há sobreposição das células. Sobre a estrutura característica das células iniciais, diversos autores concordam que, durante os períodos de divisão celular, as células do câmbio são altamente vacuoladas, com um ou dois vacúolos e denso citoplasma (FAHN, 1990; EVERT, 2006), visualizadas em microscópio eletrônico. Essa característica contrasta com a das células do meristema apical, cujos vacúolos aparecem em número reduzido (CUTTER, 1987; ANGYALOSSY e MARCATI, 2006).

3. Divisões celulares no câmbio

As iniciais cambiais e as células que são delas derivadas dividem-se anticlinalmente e periclinalmente no plano longitudinal (FAHN, 1990). As divisões anticlinais são denominadas de divisões multiplicativas, por acrescentarem novas células no sentido lateral (FAHN, 1990; LARSON, 1994), tanto por divisões perpendiculares ou oblíquas à superfície do caule (LARSON, 1994).

Como resultado de divisões periclinais, que são mais numerosas, novas células são adicionadas ao floema e ao xilema secundário (FAHN, 1990). Segundo Evert (2006), ao mesmo tempo células derivadas são produzidas internamente na direção do xilema e, em outro momento, externamente na direção do floema, não necessariamente em alternância.

As divisões periclinais das células do câmbio, por terem a capacidade de adicionar novas células ao sistema vascular são denominadas de divisões aditivas (LARSON, 1994; EVERT, 2006). Essas divisões não são limitadas as iniciais cambiais, mas também são encontradas em variados números de derivadas (EVERT, 2006). O autor explica que durante o período de dormência, as células maduras de xilema e floema, mais ou menos perto das iniciais, podem fazer esse tipo de divisão. Ainda afirma que frequentemente o floema pode vir a manter um estado imaturo durante a dormência do câmbio.

4. Sazonalidade cambial em espécies arbóreas

A atividade cambial é sensivelmente influenciada por diversos fatores, tanto internos quanto externos ao vegetal. Dos fatores internos, o mais importante são os hormônios vegetais, que diretamente influenciam tanto na reativação do câmbio em fase dormente (SITBON *et al.*, 1993), quanto na diferenciação dos elementos celulares do xilema (ALONI, 1982; EWERS e ALONI, 1985; ALONI, 1992; LEV-YADUN e ALONI, 1995) e do floema (ALONI *et al.*, 1990).

Com relação aos fatores externos que influenciam a atividade cambial de espécies arbóreas, podem-se citar as variações ambientais como precipitação e temperatura e ainda a fenologia, que versa sobre brotação, desenvolvimento de folhas, floração e senescência (BORCHERT, 1999).

Em regiões de clima temperado, as variações de temperatura constituem a principal variável ambiental que controla o desenvolvimento das árvores (BORCHERT, 1980; 1999). Segundo o autor, temperaturas muito baixas induzem a dormência nas gemas que são reativadas pela primavera, quando a temperatura se eleva. Para Samish (1954), as causas da dormência nas gemas devem ser consideradas de dois tipos: (i) devido a condições externas, temperatura ou abastecimento de água desfavoráveis ou (ii) por fatores internos à planta, que segundo o autor, pode continuar mesmo em situações externas favoráveis. Em regiões tropicais, a sazonalidade pluviométrica, isto é, períodos alternados de seca e chuva, normalmente num período seco prolongado e severo, são os determinantes climáticos para a mudança na fisionomia das espécies (BORCHERT, 1999). Para Borchert (1980), a correlação mais direta é a sincronia entre a queda de folhas e a estação seca. Essa sincronia é muito mais acentuada em espécies de regiões temperadas pela sazonalidade marcante da temperatura e a diminuição do fotoperíodo (BORCHERT, 1980).

Mudanças na temperatura e nos índices de precipitação podem alterar a atividade cambial (BORCHERT, 1999). Enquanto nas regiões temperadas é a temperatura e o fotoperíodo que definem o período de crescimento, em regiões de clima tropical é a sazonalidade pluviométrica que determina a formação de camadas de crescimento anuais (BORCHERT, 1999). O estresse hídrico sofrido pelas espécies de regiões tropicais varia em função do solo, sua capacidade em retenção de água, evapotranspiração e tamanho das folhas, entre outros.

Diversos trabalhos investigaram a atividade do câmbio em espécies de regiões temperadas, tais como: Deshpande (1967), Cumbie (1969a, 1969b), Gregory e Romberger (1975), Catesson (1994), Farrar e Evert (1997), Oribe *et al.* (2003), Frankstein *et al.* (2005), Begum *et al.* (2010) e Prislán *et al.* (2011). Esses trabalhos tanto descreveram a estrutura do câmbio, quanto elucidaram questões sobre a atividade cambial e os fatores que afetam essa atividade. Sabe-se que em ambientes de regiões temperadas com sazonalidade climática marcante, o inverno é o período de dormência cambial e a primavera o período de reativação do câmbio vascular, com pequenas variações de espécie para espécie.

Dos trabalhos que investigaram a variação cambial em espécies de ambientes tropicais, destacam-se aqueles com espécies da Índia, tais como: Rao e Dave (1983), Ajmal e Iqbal (1987), Rao e Rajput (1999), Rajput e Rao (1999), Rajput e Rao (2000), Rajput e Rao (2003), Rao e Rajput (2001), Venugopal e Liangkuwang (2007), Iqbal *et al.* (2009) e Wani e Khan (2010). Esses trabalhos demonstram que as espécies nesses ambientes respondem de diversas maneiras às variações ambientais, e que as camadas de crescimento distintas no lenho são formadas a partir da interação de temperatura, chuvas e aspectos fenológicos. Os trabalhos de Rao e Rajput (1999, 2001) demonstram essa premissa. Trabalhando com *Tectona grandis* L. f. (Verbenaceae) (RAO e RAJPUT, 1999), os autores coletaram amostras da espécie em dois ambientes diferentes: floresta seca e floresta úmida e perceberam que os espécimes dos dois ambientes tiveram início de atividade cambial no período de brotação de folhas novas. Em contrapartida, os mesmos autores (RAO e RAJPUT, 2001) estudando *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) observaram que os espécimes comportaram-se de maneiras diferentes em três ambientes distintos: floresta decídua úmida (FDU), floresta decídua seca (FDS) e savana. Houve inibição da atividade cambial nos espécimes de FDU e FDS, com reativação e diferenciação dos elementos celulares no período de intensa precipitação. Por outro lado, em ambiente de savana, o câmbio permaneceu ativo durante todo o ano.

Os autores afirmam que *A. indica* possui sistema radicular profundo o suficiente para resgatar águas subterrâneas em ambiente de savana, já que os espécimes mantêm o câmbio ativo mesmo em situação de seca constante.

5. Sazonalidade na formação do xilema secundário em espécies arbóreas

Entre os trabalhos que tratam de investigar as camadas de crescimento no lenho de espécies tropicais, há três vertentes: (i) aqueles que dispõem sobre a presença ou ausência de camadas de crescimento; (ii) aqueles que definem o tipo de marcador para essas camadas e (iii) aqueles que demonstram a sazonalidade de sua formação.

Em se tratando da análise da presença ou ausência de camadas no lenho e sua relação com a fenologia das espécies, Worbes (1985) verificou que espécies decíduas da Amazônia Central apresentaram camadas mais definidas quando comparadas com as sempre-verdes, com camadas mal definidas e limites irregulares. O mesmo resultado foi observado por Tomazello Filho *et al.* (2004) que investigaram 41 espécies do Cerrado e da Floresta Atlântica do estado de São Paulo. Nesse estudo, as espécies decíduas e semi-decíduas apresentaram camadas de crescimento distintas, enquanto que na categoria de sempre-verdes, de 11 espécies, somente uma apresentou camadas de crescimento distintas no lenho. Em trabalho posterior, Worbes (1989) confirmou a presença de camadas de crescimento no lenho de 48 espécies da Amazônia. Coradin (2000), estudando dez espécies do cerrado de Brasília verificou que espécies com uma única brotação anual – tanto as decíduas quanto as sempre-verdes – apresentaram anéis distintos e anuais. Em contrapartida, espécies com mais de uma brotação anual apresentaram anéis pouco distintos ou indistintos e falsos anéis de crescimento.

Com relação aos tipos de marcadores de crescimento, Vetter e Botosso (1989) estudaram 29 espécies da Amazônia e dessas espécies todas tinham algum tipo de marcador de crescimento, variando de achatamento das paredes das fibras a faixas marginais de parênquima marginal. Coradin (2000) descreve os marcadores de dez espécies do cerrado central do país e observou marcadores como zonas fibrosas, menor concentração de vasos nos limites dos anéis, linha fina de parênquima marginal, fibras gelatinosas sendo ora substituídas por uma ou mais camadas de fibras não gelatinosas, diferença na concentração dos vasos e pela presença de fibras gelatinosas dentro dos anéis. Marcati *et al.* (2006) analisaram 48 espécies de cerrado paulista e dentre as espécies analisadas, 29 delas apresentaram camadas de crescimento distintas onde a delimitação variou de fibras de paredes espessas, zonas fibrosas e parênquima marginal.

Os mesmos autores ainda analisaram variações dentro das camadas, tais como quantidade de fibras gelatinosas, distribuição de parênquima axial, distância entre as linhas de parênquima axial, quantidade e tamanho das células do parênquima e de vasos e ainda anéis semi-porosos. Lisi (2007) estudou 15 espécies da Floresta Atlântica e observou que onze delas possuem parênquima marginal como delimitador das camadas de crescimento e quatro apresentam demarcação por achatamento das fibras e espessamento da parede do lenho tardio. Worbes (1989) afirmou que o marcador mais comum em espécies que ocorrem em ambientes tropicais é o achatamento radial e espessamento da parede das fibras, seguido pelas linhas ou faixas de parênquima axial.

Com relação aos trabalhos que demonstram a anualidade das camadas de crescimento no lenho de espécies tropicais e subsequentemente o período de formação dessas camadas, Luchi (1998) estudou a periodicidade de crescimento de *Hymenaea courbaril* L. (Caesalpinoidae – Fabaceae) da Estação Ecológica de Moji-Guaçu, SP, e percebeu que a última camada de crescimento foi formada no intervalo de um ano, sendo induzida pelo período de seca. Coradin (2000) avaliou dez espécies lenhosas do cerrado central do país e concluiu que as espécies que apresentaram anualidade na formação das camadas de crescimento tiveram atividade cambial ocorrendo após as brotações e que a seca periódica não foi o fator que limitou diretamente a atividade cambial nas espécies. Marcati (2000) estudou *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae), *Citharexylum mirianthum* Camb. (Verbenaceae) e *Copaifera langsdorffii* Desf. (Caesalpinoidae – Fabaceae) do cerrado paulista e para todas elas a atividade cambial foi anual, intimamente ligada com a fenologia das espécies e com variações climáticas da região, sendo a menor atividade ocorrendo no período de déficit hídrico e perda de folhas e a maior atividade do câmbio no período de excedente hídrico e desenvolvimento de folhas novas. Amano (2002) estudou a sazonalidade cambial de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud (Boraginaceae) da Reserva da cidade universitária da USP, São Paulo, e percebeu que a camada de crescimento foi anual e que o câmbio nessa espécie torna-se ativo no período de maior disponibilidade hídrica e que a dormência, por sua vez, deu-se no período de maior déficit hídrico, demonstrando que a atividade cambial estava intimamente ligada a condições de chuva e seca, respectivamente. Dessa forma, a autora pode afirmar a anualidade das camadas de crescimento no xilema, que em *C. trichotoma* são demarcadas por vasos de grande calibre tangenciando uma faixa de parênquima axial inicial. Entretanto, Worbes (1989) afirma que a existência de camadas de crescimento não implica necessariamente na

ocorrência de um ritmo anual de crescimento. Entre as dez espécies estudadas por Coradin (2000), *Miconia ferruginata* DC. (Melastomataceae) apresentou camadas de crescimento distintas, porém não-anuais e *Vochysia elliptica* Mart. (Vochysiaceae) apresentou dois marcadores em uma estação de crescimento.

6. Sazonalidade na formação do floema secundário em espécies arbóreas

Na literatura são encontrados vários trabalhos que tratam da anatomia da casca. Nestes trabalhos, o floema é caracterizado estruturalmente com relação à (i) taxonomia (PARAMESWARAN e CONRAD, 1982; RICHTER, 1985; TROCKENBRODT e PARAMESWARAN, 1986; RICHTER e VAN WYK, 1990; ARCHER e VAN WYK, 1993; CARLQUIST, 1993), (ii) comparação entre espécies (BHAT, 1982; GOMEZ-VAZQUEZ e ENGLEMAN, 1984; CHAN, 1985, 1986; DONGHUA e XINZENG, 1993) e (iii) anatomia descritiva e/ou ultraestrutural (HEMENWAY, 1911; ABBE e CRAFTS, 1939; ARTSCHWAGER, 1950; HALL, 1952; SHAH *et al.*, 1982; CHAVAN *et al.*, 1983; PHELPS *et al.*, 1987; FURUNO, 1990). Os estudos sobre a atividade cambial e a produção do floema secundário são, em sua maioria, realizados em espécies de regiões temperadas. Destes estudos, os que mais contribuíram foram os de Evert (1960, 1961, 1963), Derr e Evert (1967), Davis e Evert (1968) e Farrar e Evert (1997).

Para as espécies de regiões tropicais, o trabalho de Roth (1981) tornou-se de fundamental importância, já que trata de inúmeras espécies da região da Guiana Venezuelana, trazendo informações sobre a estrutura e o padrão da casca dessas espécies.

No Brasil, apenas os trabalhos de Amano (2002; 2008) e Angyalossy (2006) tratam das características estruturais e da sazonalidade na formação do floema secundário em espécies nativas como *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud (Boraginaceae) (AMANO, 2002), *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae), *Citharexylum myrianthum* Camb. (Verbenaceae) e *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae – Caesalpinioideae) (ANGYALOSSY, 2006), *Caesalpinia echinata* Lam. (Fabaceae – Caesalpinioideae) (AMANO, 2008).

Segundo Esau (1974), o floema secundário das eudicotiledôneas varia em relação à composição, disposição e tamanho das células e também quanto às características do floema não condutor nos sistemas axial e radial. Elementos de tubo crivado, células companheiras e parenquimáticas, bem como fibras são células constantes no sistema axial, contudo pode haver ausência ou combinações variadas

dessas células entre as espécies. Ausência de fibras, por exemplo, foi observada em *Aristolochia* (ESAU, 1974). Em *Microcycas calocoma* (Miq.) A. DC. (Zamiaceae), foram observadas duas camadas distintas no floema, uma composta de tubos crivados, células companheiras e parenquimáticas somente, e na segunda as fibras encontravam-se em grupos, juntamente com as outras células floemáticas (CHRYSLER, 1926). Quando presentes, as fibras podem estar em grupos como em *Carya glabra* (Mill.) Sweet (Juglandaceae) (HEMENWAY, 1911) ou em *Carya cordiformis* (Wangenh.) K. Koch (Juglandaceae) (ARTSCHWAGER, 1950) ou em faixas tangenciais como em *Pyrus betulaefolia* Bunge (Rosaceae) e *Crataegus pinnatifida* Bunge. (Rosaceae) (DONGHUA e XINZENG, 1993).

Com os estudos realizados acerca da sazonalidade na formação do floema secundário, aprofundou-se o conhecimento sobre a passagem do floema condutor para o floema não condutor. De acordo com Evert (1960), o primeiro sinal de que está ocorrendo essa transição no floema é o aparecimento de calose definitiva nos crivos dos elementos de tubo crivado. A calose (β 1 \rightarrow 3glucano) começa a se acumular em grande quantidade nas áreas crivadas e interrompe o fluxo de fotoassimilados no floema. Como consequência desse evento, o elemento de tubo crivado degenera-se, juntamente com a degeneração de sua célula companheira (ANGYALOSSY, 2006).

Davis e Evert (1968) estudaram o desenvolvimento sazonal do floema secundário em *Populus tremuloides* Michx. (Salicaceae) e perceberam diferenças entre floema condutor e floema não condutor. No floema condutor, os elementos de tubo crivado maduros tinham pouca ou nenhuma calose nas áreas crivadas e colapsavam no mesmo ano em que eram formados pelo câmbio. Todavia, no floema não condutor havia perda de turgor nas células e em decorrência do colapso dos elementos de tubo crivado, as células parenquimáticas aumentavam de tamanho, tornando-se arredondadas.

Diversas pesquisas sugerem que a deposição de calose nas áreas crivadas pode ser induzida ou aumentada por diversos fatores, como ferimentos (HUGHES e GUNNING, 1980; GALWAY e McCULLY, 1987; AMANO, 2002), variação de temperatura (MAJUNDER e LEOPOLD, 1967) ou ainda hormônios (ALONI *et al.*, 1990).

7. Objetivos

Diante do exposto, o objetivo geral desse trabalho é estudar o sistema vascular secundário e a atividade cambial em *Alibertia concolor* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae). Especificamente, pretende-se:

- 1) Caracterizar estruturalmente xilema e floema secundários de cinco espécimes de *A. concolor*;
- 2) Investigar a atividade cambial e relacioná-la com o comportamento fenológico dos espécimes e as variações climáticas (temperatura e precipitação) da região de estudo;
- 3) Estudar a diferenciação celular do xilema e floema secundários.



Material e Métodos

Material e Métodos

1. Caracterização da área de estudo

O município de Botucatu localiza-se na porção centro-oeste do estado de São Paulo, inserindo-se na região das “Cuestas Basálticas”, caracterizada por escarpas e relevos de transição que demarcam a passagem da Depressão Periférica, com altitudes de 400 a 600 m (SILVA, 2010), para o Planalto Ocidental Paulista, com altitudes de 700 a 950 m (SILVA, 2010). Para Spirandelli-Cruz (2004), a formação florestal mais comum da região é a florestal estacional semidecidual. Ainda conforme o autor, condicionantes de altitudes, solos e variações locais de clima são responsáveis pelos encraves de cerrado e de matas de araucárias presentes na região. Em Botucatu, estudos de fitofisionomia mostram que os tipos vegetacionais comuns do município são as florestas estacionais semidecíduais, florestas ripárias, cerradão (JORGE e MOREIRA, 2000; SILVA, 2010).

O tipo climático para o município, segundo classificação de Köeppen (1948) é Cfa, clima temperado quente (mesotérmico) úmido, com temperatura média do mês mais quente superior a 22°C (CUNHA e MARTINS, 2009). Os solos do município são derivados do arenito e do basalto, com o predomínio nos arenitos, destacando os principais como os Neossolos Quartzarênicos, Latossolos Vermelhos-Amarelos, Neossolos Litólicos e Latossolos Vermelhos (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

O presente trabalho foi realizado no Jardim Botânico da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, campus de Botucatu, SP (22°53’152” S e 48°29’938” O). O Jardim Botânico do Instituto de Biociências é reconhecido internacionalmente como um dos 26 Jardins Botânicos oficialmente existentes no Brasil, sendo integrante da Rede Brasileira de Jardins Botânicos (ARBEX, 2008). Tem área atual de 11 hectares e conta com coleções de gimnospermas, árvores frutíferas brasileiras, orquídeas, bromélias e cactáceas da região de Botucatu (GALHEGO, 1998), como também fragmento natural de floresta estacional semidecidual, onde o estudo foi conduzido.

2. Dados climáticos do município de Botucatu, SP.

Os dados climáticos, temperatura e precipitação, do ano de 2010 e alguns meses de 2009 e 2011 foram obtidos da Estação Meteorológica da Faculdade de Ciências

Agrônômicas (FCA) da UNESP, Campus de Botucatu, SP, distante 10 km da área de estudo, conforme Tab. 1.

Tabela 1 – Dados climáticos (precipitação e temperatura) para a cidade de Botucatu, SP. O símbolo (*) indica os meses de coleta.

Ano	Meses	Precipitação (mm)	Temperatura média (°C)	Temperatura mínima (°C)	Temperatura máxima (°C)
2009	Out	141,8	20,9	15,1	26,7
	Nov	289	24,6	19,6	29,5
	Dez	331,6	22,3	19,1	26,9
2010	Jan	350,5	23,5	19,5	27,5
	Fev (*)	179,9	24,8	20,1	29,4
	Mar	134,6	23,5	18,7	28,4
	Abr (*)	71,7	21,7	17,1	26,4
	Mai	39,5	19,2	14,1	24,4
	Jun (*)	22,8	18,6	12,4	25,5
	Jul	55,3	20,0	13,7	26,3
	Ago (*)	0,0	20,0	12,3	27,6
	Set	63,1	20,6	13,6	27,6
	Out (*)	56,1	20,6	13,4	27,7
	Nov	139,4	20,9	16,3	25,5
	Dez (*)	243,10	24,4	18,3	28,7
2011	Jan	712,3	24,50	19,6	29,6
	Fev	188,1	24,7	19,6	29,8
	Mar	163,5	22	18,3	25,8

3. Características físico-químicas do solo

O solo da área de estudo foi coletado de acordo com os procedimentos seguidos pelo Setor de Ciência do Solo do Departamento de Recursos Naturais da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP/Botucatu, SP, nas profundidades de 0-20 cm e 20-40 cm, próximo aos locais onde estão os espécimes deste estudo (Tab. 2).

Tabela 2 – Características físico-químicas do solo da área de coleta. **Kg** = quilogramas. **pH** = potencial hidrogeniônico. **M.O.** = matéria orgânica. **P_{resina}** = fósforo. **Al³⁺** = alumínio trocável. **H+Al** = acidez potencial. **K** = potássio. **Ca** = cálcio. **Mg** = magnésio. **SB** = soma de bases. **CTC** = capacidade de troca de cátions. **V%** = saturação de bases. **S** = enxofre. **CaCl₂** = cloreto de cálcio. **g/dm³** = grama por decímetro cúbico. **mg/dm³** = miligrama por decímetro cúbico. **Mmol/dm³** = milimol de carga por decímetro cúbico.

Física												
Profundidade do solo coletado	Total (Kg)	Argila	Silte	Teor de umidade (%)	Textura do Solo							
0-20 cm	884	85	31	11	Arenosa							
20-40 cm	861	104	35	9								
Química												
	pH CaCl ₂	M.O. g/dm ³	P _{resina} mg/dm ³	Al ³⁺ mmolc/dm ³	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S mg/dm ³
0-20 cm	4,1	20	5	6	44	1,3	10	3	14	58	25	2
20-40 cm	3,9	12	3	11	48	1,1	4	2	6	55	12	2
Micronutrientes												
	Boro		Cobre		Ferro		Manganês		Zinco			
0-20 cm	0,46		0,9		139		21,6		1,0			
20-40 cm	0,43		0,6		64		10,0		0,4			

4. Seleção dos espécimes de *Alibertia concolor* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae) e coleta das amostras

Foram selecionados cinco espécimes adultos de *A. concolor*, próximos entre si (Fig. 1-6). Destes espécimes foi coletado o ramo mais desenvolvido da copa, a cada dois meses, durante o ano de 2010, a partir de fevereiro, totalizando seis coletas. As análises foram conduzidas em ramos por restrições ao uso de métodos destrutivos em áreas de reserva.

Material vegetal fértil de cada espécime foi coletado e incorporado à coleção do Herbário Dra. “Irina Delanova de Gemtchujnicov” (BOTU), do Instituto de Biociências de Botucatu, SP, como documento taxonômico. As amostras do lenho foram depositadas na Xiloteca “Maria Aparecida Mourão Brasil” (BOTw) da Faculdade de Ciências Agrônomicas (FCA) da UNESP, Campus de Botucatu, SP, conforme Tab. 3.

Tabela 3 – Dados de incorporação de material vegetal para pesquisa e localização dos espécimes de acordo com o Sistema de Posicionamento Global.

Herbário BOTU	Xiloteca BOTw	Localização
<i>Espécimes</i>		
BOTU 027342	BOTw 2224	22°53'159''S / 48°29'934''W
BOTU 027343	BOTw 2225	22°53'155''S / 48°29'938''W
BOTU 027344	BOTw 2226	22°53'154''S / 48°29'940''W
BOTU 027345	BOTw 2227	22°53'155''S / 48°29'941''W
BOTU 027346	BOTw 2228	22°53'154''S / 48°29'946''W

5. Observações fenológicas

As observações fenológicas foram realizadas quinzenalmente durante o ano de 2010, nos cinco espécimes, a partir de fevereiro. Considerou-se como as principais fenofases: brotação de novas folhas, folhas verdes novas (não completamente expandidas), folhas maduras (completamente expandidas), queda foliar, botões florais, floração e frutificação.

6. Estudo anatômico

Amostras retiradas da porção basal dos ramos coletados foram fixadas em CRAF III, (ácido crômico 10%, ácido acético glacial, formaldeído 37% e água destilada), permanecendo nesse fixador de 10 a 20 dias, com auxílio da bomba a vácuo. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em álcool 70%.

6.1 Preparo do material para estudo anatômico do xilema secundário

Para estudo da anatomia do lenho, cortes transversais, longitudinais tangenciais e radiais foram obtidos com auxílio de micrótomo de deslize, com cerca de 12µm de espessura. Os cortes histológicos foram clarificados com hipoclorito de sódio 50% e em seguida lavados em água acética 1%. Estes cortes foram corados com safranina aquosa 1% e azul de astra 1%, visando o contraste das estruturas celulares. Após a coloração, tanto os cortes corados quanto os naturais foram clarificados e desidratados através de série etanólica convencional. A fixação do corante foi feita em acetato de butila e as lâminas permanentes montadas em resina sintética Entellan®.

As análises qualitativas e quantitativas foram realizadas nos três planos de corte já descritos, seguindo as normas propostas pela IAWA Committee (1989). Os dados

quantitativos foram obtidos com um sistema de análise de imagens, programa Axiovision[®], capturadas por câmera Axio Cam MRC acoplada em um microscópio de luz Axioscop 40 marca Zeiss[®], e transferidos para o programa Excel[®] para serem efetuados os cálculos de média e desvio padrão para cada um dos parâmetros analisados em cada espécime.

Fotomicrografias foram obtidas com auxílio de câmera Canon[®] acoplada ao sistema de imagens em microscópio Zeiss[®].

6.2 Preparo do material para atividade cambial

Foram retiradas amostras menores contendo xilema secundário, câmbio e floema secundário, com cerca de 1 cm³ para desidratação em série etanólica crescente (80%, 90% e 100%), a cada duas horas. Posteriormente, as amostras desidratadas foram imersas em mistura de historresina alcoólica por três dias e historresina pura por 40 dias, com auxílio de bomba a vácuo.

A inclusão foi realizada em historresina glicolmetacrilato e endurecedor (kit Leica[®]). Depois de emblocadas, as amostras foram seccionadas em micrótomo rotativo semi-automático, com cerca de 4 a 6 µm de espessura. Foram obtidos cortes transversais, longitudinais tangenciais e radiais, sendo os longitudinais de maneira seriada, para acompanhamento da produção do câmbio. Os cortes histológicos foram corados com azul de toluidina 0,05% em tampão fosfato 4,7 (O'Brien *et al.* 1964). Para se proceder as análises, os cortes foram montados entre lâmina e lamínula em água destilada e analisados em microscópio Zeiss[®].

Fotomicrografias foram obtidas com auxílio de câmera Canon[®] acoplada ao sistema de imagens em microscópio Zeiss[®].

6.3 Dissociação de elementos celulares de xilema secundário e floema secundários

Foi realizada dissociação dos elementos celulares do lenho, através da maceração, pelo método de Franklin (1945, modificado por Kraus e Arduin, 1997). Foram retirados pequenos fragmentos em sentido vertical do lenho que foram acondicionados em frascos de vidro. Cada frasco foi levado devidamente vedado à estufa a 60°C numa mistura de 1:1 de ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio. Esses frascos foram mantidos na estufa por cerca de 24 horas, até que os elementos celulares tivessem totalmente dissociados. Quando retirado da estufa, o material foi lavado cuidadosamente

em água, corado com safranina alcoólica 1% e montadas lâminas temporárias em glicerina 50% para observação.

A maceração também foi realizada para estudo do floema secundário, utilizando método de Franklin (1945, modificado por Kraus e Arduin, 1997). Foram retirados pequenos fragmentos da parte interna da casca em sentido vertical, permanecendo na estufa de 5-6 horas. Quando retirado da estufa, o material foi lavado cuidadosamente em água, corado com safranina 1% e azul de astra 1%. Lâminas temporárias foram montadas em glicerina 50% para obtenção de fotomicrografias obtidas com auxílio de câmera Canon[®] acoplada ao sistema de imagens em microscópio Zeiss[®].

7. Análise macroscópica

A análise macroscópica do lenho foi realizada em secções transversais das amostras, que foram polidas manualmente com uma série de lixas, desde as secas de granulometria 100 e 150, até as lixas d'água (220, 320, 400, 600 e 1200).

Figuras 1-6: Espécimes de *Alibertia concolor* ocorrentes em um fragmento natural de floresta estacional semidecidual localizado no Jardim Botânico da UNESP, Botucatu, SP. **1.** Aspecto geral do ambiente. **2.** Espécime 1. **3.** Espécime 2. **4.** Espécime 3. **5.** Espécime 4. **6.** Espécime 5. Setas apontam os espécimes estudados nas Figs. 2 a 6.



Conforme estabelecido pelo Conselho do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), os resultados obtidos durante a execução deste Projeto de Mestrado foram reunidos em artigos científicos para publicação, redigidos segundo as normas do IAWA Journal.

Capítulo I: Sistema vascular em *Alibertia concolor* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae).

Capítulo II: Atividade cambial e diferenciação celular em *Alibertia concolor* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae).



Capítulo I

**SISTEMA VASCULAR EM *ALIBERTIA CONCOLOR* (CHAM.) K. SCHUM.
(RUBIACEAE)**

NATÁLIA OLIVEIRA TOTTI DE LARA¹ e CARMEN REGINA MARCATI²

RESUMO

Com o sentido de contribuir para os trabalhos em anatomia caulinar da família Rubiaceae, a estrutura do sistema vascular secundário de *Alibertia concolor* foi descrita nesse trabalho. Para tal, foram estudadas as características anatômicas do xilema e floema secundários da espécie. Foi possível estabelecer analogia entre as características anatômicas de xilema e floema secundários na espécie estudada. Xilema secundário apresenta camadas de crescimento demarcadas por faixas marginais de parênquima axial enquanto que o floema secundário apresenta faixas tangenciais de fibras intercalando camadas de células vivas do floema. Os vasos do xilema secundário apresentam porosidade difusa e elementos de vaso com placas de perfuração simples. Os tubos crivados no floema secundário, por sua vez, não apresentam diferenças de tamanho quando comparado floema inicial e tardio e apresentam placas crivadas simples. Os raios são predominantemente uni e bisseriados, tanto no xilema quanto no floema secundário. As relações anatômicas com outros gêneros da família são discutidas nesse trabalho.

Palavras-chave: analogia em tecidos vasculares, floema secundário, xilema secundário.

1- Parte da dissertação da primeira autora. Programa de Pós-Graduação Ciências Biológicas (Botânica), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, s/n, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. [E-mail: natotti@gmail.com]

2- Departamento de Recursos Naturais/Ciências Ambientais, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, CP 237, CEP 18603-970, Brasil. [E-mail: carmen@fca.unesp.br].

SUMMARY

The structure of the secondary vascular system in *Alibertia concolor* (Rubiaceae) was described in this work. It was possible to establish an analogy between the anatomical characteristics of xylem and phloem in the studied species. Secondary xylem presents growth rings demarcated by marginal bands of axial parenchyma while the secondary phloem presents tangential bands of fibers alternating to layers of living cells. Diffuse porosity in the secondary xylem while no difference was found in the size of sieve tube elements in the phloem. Simple perforation plates were found in vessel elements, and simple sieve plates in sieve tube elements. Rays are predominantly uniseriate and biseriate in the the xylem as well as in the phloem. The anatomic relationships with other genera of the family are discussed in this work.

Key words: analogy in secondary tissues, secondary phloem, secondary xylem.

INTRODUÇÃO

A família Rubiaceae Juss. (1789) (Gentianales) é a quarta maior família de plantas entre as eudicotiledôneas, com aproximadamente 550 gêneros e 9000 espécies (APG III 2009; Judd *et al.* 2009; Mabberley 1997), distribuídas de forma pantropical, porém com maior ocorrência nas regiões sul-americanas (Schumann 1889; Delprete 1999; Bremer e Erikson 2009; Judd *et al.* 2009). Inúmeras espécies são ricas em substâncias como triterpenos e flavonóides (Silva e Aragão 2009; Lima *et al.* 2009) de importância farmacêutica e importância econômica como o gênero *Coffea* L. (JUDD *et al.* 2009).

No estado de São Paulo, a família é uma das mais bem representadas em levantamentos florísticos, quando considerado o componente arbustivo na amostragem (Pinheiro 2000). Estudo realizado por Cavassan (1990) em área de cerrado em Bauru, SP, município próximo à região de estudo, mostrou que Rubiaceae foi a família com maior número de indivíduos amostrados no componente arbustivo. O trabalho de Pinheiro (2000) realizado no Jardim Botânico Municipal de Bauru, SP, mostra que Rubiaceae apresentou maior número de espécies amostradas, seguida de Myrtaceae e Asteraceae.

Trabalhos sobre anatomia do xilema secundário em espécies de Rubiaceae são realizados há algum tempo, dando subsídios aos estudos taxonômicos da família. Descrições sobre a anatomia do lenho são encontradas nos trabalhos de Koek-Noorman (1969a, 1969b, 1972, 1976), Jansen *et al.* (1997, 1999, 2001, 2002), Lens *et al.* (2000), Dessein *et al.* (2001) e Piesschaert *et al.* (2001). Revisão feita por Jansen *et al.* (2002) mostra que caracteres anatômicos como tipos de fibras e distribuição do parênquima axial são considerados de valor taxonômico em Rubiaceae. As fibras com pontoações areoladas (fibrotraqueídes) são as mais comuns, seguidas pelas fibras libriformes

septadas, ocorrentes somente em 25% dos gêneros listados na família. A distribuição do parênquima axial varia de ausente como em *Psychotria chionantha*, difuso em *Oldenlandia filifolia* e em faixas como em *Colletoecema dewevrei* e *Alibertia* spp.

Enquanto os trabalhos sobre xilema secundário são muitos, por outro lado, poucos são os estudos sobre o floema secundário em espécies de Rubiaceae (ver Lindorf 2005; Martínéz-Cabrera *et al.* 2010). Algumas características do floema secundário para determinadas espécies da família são encontradas no trabalho de Roth (1981). Nesse trabalho, fibras e esclereídes foram caracterizadas para sete espécies de acordo com presença/ausência dessas células.

O gênero *Alibertia* A. Richard ex DC. (Rubiaceae) inclui 120 espécies sendo todos os membros do grupo arbustos ou árvores, com flores brancas ou esbranquiçadas, frutos indeiscentes e carnosos (Pereira e Barbosa 2004). Espécies desse gênero são popularmente conhecidas como ‘marmelo’ ou ‘marmelinho-do-cerrado’, possuem importância alimentícia e medicinal para as populações da região onde ocorrem (Rodrigues e Carvalho 2001).

Estudos em anatomia da madeira para o gênero são escassos. O gênero é citado em um manual de identificação de madeiras do Peru (Williams 1936) e em trabalhos publicados por Koek-Noorman (1969a, 1969b, 1972). No Brasil, Marcati *et al.* (2006a), estudaram *A. concolor* (Cham.) K. Schum. do cerrado paulista e afirmam que a espécie apresenta camadas de crescimento bem definidas no lenho, demarcadas por faixas marginais de parênquima axial. Não há conhecimento de trabalhos que abordem a caracterização do floema secundário para o gênero.

Diante do exposto, esse trabalho tem como objetivo contribuir para o conhecimento em anatomia do sistema vascular de Rubiaceae, particularmente

caracterizar xilema e floema secundários em *A. concolor* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados cinco espécimes adultos de *A. concolor* em fragmento natural de floresta estacional semidecidual no Jardim Botânico da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Botucatu, São Paulo (22°53'152''S e 48°29'938''O). A espécie foi escolhida por apresentar camadas de crescimento bem demarcadas no lenho. Material vegetal fértil de cada espécime foi coletado e incorporado à coleção do Herbário Dra. “Irina Delanova de Gemtchujnicov” (BOTU), do Instituto de Biociências de Botucatu, SP, sob os números BOTU 027342 a 027346. As amostras do lenho foram depositadas na Xiloteca “Maria Aparecida Mourão Brasil” (BOTw) da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) da UNESP, Campus de Botucatu, SP, sob os números BOTw 2224 a 2228.

Destes espécimes foi coletado o ramo mais desenvolvido da copa, a cada dois meses, durante o ano de 2010, a partir de fevereiro, totalizando seis coletas. As coletas foram realizadas em ramos por restrições a métodos destrutivos em área de reserva. Amostras retiradas da porção basal dos ramos foram fixadas em CRAF III (Sass 1958). Para anatomia do lenho, cortes transversais, longitudinais tangenciais e radiais foram obtidos com auxílio de micrótomo de deslize, com cerca de 12µm de espessura. Posteriormente, seguiu-se as técnicas usuais em anatomia da madeira. Dissociação dos elementos celulares do lenho foi realizado pelo método de Franklin (1945, modificado por Kraus e Arduin 1997). Para estudo do floema secundário, fragmentos menores com cerca de 1cm³ foram desidratados em série alcoólica e infiltrados em historresina-metacrilato. As secções seriadas obtidas com 4 a 6 µm de espessura foram coradas com azul de toluidina 0,05%, em tampão acetato, pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1964 modificado) e

montadas em água somente para análise. Foi realizada maceração pelo método de Franklin (1945, modificado por Kraus e Arduin 1997) para visualização e mensuração dos elementos celulares do floema, permanecendo na estufa por 6 horas. Para a análise macroscópica do xilema secundário, amostras dos ramos foram polidas manualmente com série de lixas convencionais.

As análises qualitativas e quantitativas para caracterização do xilema secundário foram realizadas nos três planos de corte já descritos, seguindo as normas propostas pela IAWA Committee (1989). Os dados quantitativos foram obtidos com um sistema de análise de imagens, programa Axiovision[®], capturadas por câmera Axio Cam MRC acoplada em um microscópio de luz Zeiss[®], e transferidos para o programa excel para serem efetuados os cálculos de média e desvio padrão para cada um dos parâmetros analisados em cada espécime. A descrição qualitativa e quantitativa de floema secundário seguiu o proposto por Richter *et al.* (1996). Os resultados obtidos foram registrados digitalmente, utilizando-se câmera Olympus[®] acoplada a microscópio de luz Olympus[®].

RESULTADOS

Xilema secundário

Camadas de crescimento: presentes, demarcadas por faixas marginais de parênquima axial (Fig. 1-3), com mais de três células de largura (Fig. 3) e ocasionalmente, menos de três células de largura (Fig. 3). Estas faixas podem se bifurcar (Fig. 1) ou ainda não completarem toda a circunferência do ramo, ficando com terminações cegas (Fig. 2).

Vasos: porosidade difusa (Fig. 3), o arranjo radial é visível nas camadas próximas à medula (Fig. 4). Alguns vasos estão circundados pelas células do parênquima axial das faixas marginais (Fig. 3). Os elementos de vaso possuem placas de perfuração simples (Fig. 5), pontoações intervasculares areoladas alternas (Fig. 6) e pontoações raio-vasculares semelhantes às intervasculares (Fig. 7). Os tilos e os conteúdos orgânicos são escassos (Fig. 8).

Fibras: possuem pontoações areoladas distintas (fibrotraqueídes) em suas paredes tangenciais (Fig. 9) e radiais (Fig. 10). Foram observadas também fibras gelatinosas em todos os espécimes (Fig. 11).

Parênquima axial: faixas marginais (Fig. 1, 2). Ocorre também o tipo apotraqueal difuso e o paratraqueal escasso (Fig. 12). Estão distribuídas predominantemente de três a quatro células na série parenquimática (Fig. 13), vistas em secção longitudinal tangencial.

Raios: predominantemente unisseriados a bisseriados (Fig. 14). Dois tipos de raios foram observados: (i) corpo central de células procumbentes com mais de quatro células quadradas e/ou eretas na margem (Fig. 15) e (ii) por células procumbentes, quadradas e eretas misturadas através do raio (Fig. 16). Células perfuradas de raio estão presentes em todos os espécimes (Fig. 15, 17-20). Possuem placas de perfuração

simples (Fig. 15, 17-20) e são pouco maiores que as células parenquimáticas radiais (Fig. 15, 17-20). Estas células podem estar localizadas na margem de células quadradas (Fig. 15), como também no corpo do raio.

Estrutura estratificada: ausente. *Elementos secretores e variantes cambiais:* ausentes. *Inclusões orgânicas:* poucas em alguns vasos (Fig. 8). *Inclusões inorgânicas:* ausentes. *Máculas:* ausentes.

Os dados quantitativos referentes a cada característica analisada são mostrados nas tabelas 1 a 3. Esses resultados demonstram que os elementos de vaso são longos ($> 350\mu\text{m}$) e de diâmetro reduzido em todos os espécimes ($< 50\mu\text{m}$). A frequência de vasos foi de 5 a 20 vasos/ mm^2 em todos os espécimes. As pontoações intervasculares são diminutas, com diâmetro menor que $4\mu\text{m}$. Os vasos são solitários em maioria, seguidos de geminados e seus múltiplos (de 3, 4 e 5). As fibras são de comprimento médio ($> 900\mu\text{m}$ - $1600\mu\text{m}$) e variam de finas a espessas como mostra a tabela 2. Raios são baixos em todos os espécimes e variam de 4 a 5 raios por mm. As pontoações raio-vasculares são diminutas e semelhantes às pontoações intervasculares (Tab. 3).

Floema secundário

Aspecto geral: O floema secundário é composto por tubos crivados, células companheiras, fibras e parênquima axial e radial (Fig 21). Começando pela região adjacente à zona cambial, há células vivas intercaladas por faixas tangenciais estreitas de fibras com uma até duas células de largura (Fig. 21, 22). As camadas de células vivas apresentam de um a dois elementos de tubo crivado por grupo (Fig. 22), misturados às células de parênquima axial. Nessas camadas, a condutividade do floema é visualizada através da abertura das placas crivadas dos elementos de tubo crivado (Fig. 23).

Elementos de tubo crivado: Os elementos de tubo crivado são arredondados irregularmente em secção transversal (Fig. 22), distribuindo-se de forma solitária ou também em pequenos grupos, geralmente dois em cada grupo (Fig. 22). Cada tubo crivado está associado a uma célula companheira (Fig. 24) visto em secção transversal, possuem placas crivadas simples predominantemente transversais (Fig. 23-25), são mais estreitos que as células parenquimáticas que os circundam (Fig. 25) e curtos ($\leq 250\mu\text{m}$) (Tab. 4). Proteína-P é visualizada acumulada perto da placa crivada (Fig. 25) próxima à calose que aparece nessa figura como um envoltório transparente.

Células companheiras: As células companheiras localizam-se junto ao tubo crivado e são menores em largura que esses, vistas em secção transversal (Fig. 22). As células companheiras acompanham, em comprimento, mais de um a até quatro elementos de tubo crivado (Fig. 26).

Fibras: Ocorrem em faixas tangenciais (Fig. 21, 27-28), são curtas a longas e de lúmen reduzido (Tab. 5). As faixas tangenciais, em sua maioria, circundam todo o cilindro de floema. Entretanto, em algumas regiões, geralmente em direção ao floema não condutor, há faixas descontínuas (Fig. 28), mais curtas, mas que se mantêm na mesma orientação tangencial e podem ser interrompidas pelas células de parênquima radial. As camadas de células vivas floemáticas são alternadas pelas faixas de fibras, e é possível contar as camadas de células vivas entre uma faixa e outra (Fig. 21, 27-28). São visíveis também fibras gelatinosas nas faixas tangenciais (Fig. 28).

Parênquima axial: As células de parênquima axial apresentam distribuição difusa (Fig. 22). Apresentam conteúdo orgânico de coloração variada por toda a camada e em todos os espécimes (Fig. 22, 24, 25, 27-28). Há expansão tangencial das células do parênquima axial no floema não-condutor (Fig. 28).

Raios: Uni a bisseriados (Fig. 29) e, igualmente às células de parênquima axial, também contêm conteúdos orgânicos em seu interior. Dilatam-se ligeiramente em sentido tangencial no floema não-condutor, algumas vezes interrompendo as faixas de fibras (Fig. 28).

Floema não-condutor: O floema não-condutor é caracterizado pelo aumento da expansão tangencial das células parenquimáticas (Fig. 28) e deposição de calose definitiva nos crivos (Fig. 30). Nesse estado, em secção transversal, já não é possível distinguir a maioria dos elementos de tubo crivado e suas células companheiras, pois estes estão colapsados (Fig. 28).

DISCUSSÃO

Xilema secundário

Em todos os espécimes de *A. concolor*, camadas de crescimento foram facilmente distinguíveis, em níveis macro e microscópico, pois seus limites são demarcados por faixas marginais de parênquima axial, o que também foi observado em outras espécies de Rubiaceae (Koek-Noorman, 1969a, 1969b; Jansen *et al.* 1997, 1999; Jansen *et al.* 2002). Entretanto, muitas espécies da família não apresentam camadas de crescimento bem demarcadas, como é o caso do gênero *Virectaria* spp. (Dessein *et al.* 2001) e do gênero *Simira* spp. (Callado e Silva-Neto 2003). Apesar da distribuição do parênquima axial ser definida na literatura como de valor taxonômico, nota-se grande variação de uma espécie para outra dentro da família. No gênero *Alibertia*, porém, as espécies estudadas até agora apresentam camadas de crescimento dispostas em faixas (Koek-Noorman 1969b).

Descrições de camadas de crescimento em espécies arbóreas são baseadas na distinção dos tecidos formados pelo câmbio vascular (Coradin 2000) e alguns trabalhos

relatam a ocorrência e a distinção de camadas de crescimento no lenho de espécies brasileiras (Mainieri 1958; Fedalto *et al.* 1989; Marcati *et al.* 2006a; Barros *et al.* 2001a, b). Na maior parte das espécies estudadas, as camadas de crescimento são distinguíveis por diversos tipos de limites, e em alguns casos, há a presença de camadas irregulares ou falsos marcadores, que se caracterizam por não terem seus limites definidos (Coradin 2000). Segundo Luchi (1998), as faixas falsas de parênquima axial são assim denominadas por não terem continuidade lateral e apresentarem terminações cegas. Neste trabalho, também foram observados marcadores com terminação cega, sem limite definido, sendo marcadores falsos.

As características dos vasos concordam, em geral, com as de outras espécies do gênero estudadas, como *A. sessilis* e *A. myrciifolia* (Koek-Noorman 1969b) e também com as de outras espécies de Rubiaceae (Koek-Noorman, 1969a; Jansen *et al.* 1997, 1999; Piesschaert *et al.* 2001; Callado e Silva-Neto 2003). A porosidade difusa é comum entre as eudicotiledôneas (Metcalf e Chalk 1950, 1983) e as placas de perfuração simples e pontoações alternas são também características comuns para vasos (Carlquist 2001). Alves e Angyalossy-Alfonso (2000), pesquisando a flora brasileira, registraram placas de perfuração simples na madeira de 95% das espécies estudadas e relacionaram este tipo de placa com ambientes secos e quentes. Wheeler e Baas (1991) consideram que as placas de perfuração simples sejam mais eficientes quanto à demanda do intenso fluxo de água, imposta pelas altas taxas de transpiração. Em regiões secas e quentes, as plantas tendem a apresentar características que as auxiliem na sobrevivência em situações adversas. No caso do presente trabalho, a área de estudo apresenta de quatro a seis meses de seca, solo arenoso com pouca retenção de água, pH ácido e presença de alumínio. Assim, as placas de perfuração simples nos vasos são importantes na passagem livre da água e reposição hídrica rápida no período de chuvas.

No presente trabalho, os vasos em *A. concolor* foram estreitos e numerosos. Em estudo realizado com *Prosopis argentina* (Mimosoidae – Fabaceae), os autores observaram que em área de déficit hídrico em decorrência do solo arenoso, a espécie apresentou vasos mais estreitos, quando comparada à *P. alpataco*, crescendo em outra situação edáfica (Villagra e Roig-Juñent 1997). Vale ressaltar que a espécie deste estudo apresenta vasos estreitos e está num solo com alumínio que é um forte redutor do crescimento vegetal em solos ácidos (Foy *et al.* 1978) afetando até a divisão celular, em especial na organização dos microtúbulos (Blancaflor *et al.* 1998; Frantzios *et al.* 2001). No trabalho de Koek-Noorman (1969b), a autora estudou amostras coletadas em ambientes diferentes e percebeu diferenças entre os vasos pequenos e numerosos para *A. sessilis* quando comparada à *A. myrciifolia*, que apresentou vasos solitários e grandes, entre outras características. A presença de vasos numerosos e estreitos contribui para aumentar a segurança na condutividade hidráulica, pois, em razão de seu menor diâmetro, ocorre maior adesão da água junto à parede, reduzindo a possibilidade de rompimento da coluna d'água e conseqüente formação de bolhas de ar. Porém, se mesmo assim, ocorrerem embolias em alguns vasos, o fluxo de seiva é garantido pelos outros encontrados em grande número (Denardi e Marchiori 2005). Foi observado neste trabalho em todos os espécimes, maior porcentagem de vasos solitários e geminados no lenho. Os vasos geminados podem contribuir com a segurança na condução hídrica, porque caso ocorra embolismo em um dos vasos, o outro que está em contato direto pode assumir a função do vaso embolizado (Alves 1995). Nota-se, dessa forma, que as plantas de *A. concolor* têm garantida a segurança da passagem de água por possuírem características que lhe conferem tal garantia, através de vasos estreitos, numerosos e múltiplos. A área de estudo do presente trabalho é considerada uma região que enfrenta seca de quatro a seis meses, o que torna ainda mais importante as adaptações no sentido

de melhorar as condições de sobrevivência da espécie, principalmente com relação à água.

Tilos e conteúdos orgânicos foram escassos nos vasos de *A. concolor*. Tilo é o crescimento de células parenquimáticas para o interior do lúmen de vasos através das pontoações, ocorrendo em elementos que sofreram cavitação (Cutter 1987). Neste estudo, observou-se que as pontoações intervasculares em *A. concolor* são diminutas, o que dificulta a formação de tilos e, além disso, são poucas as células parenquimáticas próximas aos vasos. Portanto, os tilos podem ter sido formados por injúria. Mecanismos de isolamento e impregnações de conteúdos no lúmen dos vasos e processos de lignificação da parede de células podem ocorrer no lenho de espécies que tenham sofrido injúria (Zimmermann 1983).

O parênquima axial dos espécimes analisados no presente estudo apresentou-se em faixas marginais, ocorrendo ainda o apotraqueal difuso e paratraqueal escasso, características também observadas por Sonsin (2010) para a mesma espécie. Para Carlquist (2001) faixas de parênquima marginal podem ter duas funções: (i) um estoque de fotoassimilados nas células de parênquima axial para produção rápida de folhas ou flores ou (ii) uma reserva a partir da qual os açúcares, por hidrólise, podem ser transferidos aos vasos. No caso de *A. concolor* sendo sempre-verde, essa espécie não perde efetivamente suas folhas, então a primeira hipótese seria mais remotamente aceita nesse trabalho. Ao passo que, todas as plantas devem, segundo Carlquist (2001), manter reservas para eventuais períodos desfavoráveis, o que corrobora à segunda função dada pelo autor às faixas marginais.

Fibras gelatinosas foram observadas no lenho da espécie em estudo. Esau (1965) relaciona estas fibras à presença de lenho de tração nas folhosas, que ocorre em troncos tortuosos e ramos. No caso das plantas de *A. concolor* aqui estudadas, a presença de

fibras gelatinosas possivelmente se deve ao fato do estudo ter sido conduzido em ramos. Estas fibras possuem uma camada interna espessa de parede celular constituída de celulose altamente cristalina (camada gelatinosa – denominada camada G), na qual a orientação das microfibrilas é aproximadamente paralela ao eixo da fibra (Du e Yamamoto 2007). Fibras gelatinosas também podem estar relacionadas à reserva de água devido à presença de uma camada da parede celular apenas constituída por celulose que é hidrofílica (Paviani 1974), principalmente em ambientes secos e quentes, como é o caso do ambiente em que se encontra a espécie em estudo.

Células perfuradas de raio são comuns para a família (Chalk e Chattaway 1933; Koek-Noorman 1969a, b; Detienne e Jacquet 1983). Ceccantini e Angyalossy-Alfonso (2000) observaram-nas em *Bathysa meridionalis* Smith & Downs (Rubiaceae), nas camadas de células quadradas e eretas. Cosmo *et al.* (2010) também encontrou células perfuradas de raio no lenho de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae) ocorrendo tanto nas células quadradas, quanto nas células eretas. Conforme os autores, a presença das células perfuradas de raio deve representar um incremento no transporte da água no sentido tangencial e propiciar maior interação entre vasos e raios. Essas células no lenho de *A. concolor* são maiores que as células parenquimáticas radiais e ficam entre essas células do raio. Este tipo de célula tem sido descrita em vários trabalhos, para diversos *taxa*. Botosso e Gomes (1982) observaram séries de células perfuradas de raio entre dois segmentos de vaso – denominados pelos autores como vasos radiais – em Annonaceae. Ocorrem ainda em várias espécies de Santalaceae (Rao *et al.* 1984), em Myrsinaceae e Loganiaceae (Dayal *et al.* 1984), no gênero *Rosa* (Rosaceae) (Eom e Chung 1995), em *Bixa arborea* Huber (Bixaceae) (Richter e Dallwitz 2000), em nove espécies de *Maytenus* (Celastraceae), presentes inclusive na raiz de *M. brasiliensis* Reissek e *M. obtusifolia* Mart. (Joffily *et al.* 2007).

Sonsin *et al.* (2008) descreveram essas células em raízes e ramos de espécies de cerrado, inclusive em *A. concolor*, e as autoras notaram que as mesmas tinham placas de perfuração semelhantes às daquelas dos vasos das espécies em que ocorriam. Para Carlquist (2001), se as espécies possuírem placas de perfuração simples nos vasos, por exemplo, essa característica se repetirá nas células perfuradas de raio. Marcon-Ferreira *et al.* (2009) observaram essas células ocorrendo individualmente ou, raramente em pares, sendo maiores que as células vizinhas em *Miconia ternatifolia* Triana (Melastomataceae). Assim, visto que são encontradas em várias famílias diferentes, pode-se dizer que as células perfuradas de raio têm valor ecológico na medida em que participam e aumentam o transporte de água, favorecendo esse transporte em direção radial.

Floema secundário

O floema de *A. concolor* é caracterizado por camadas de células vivas separadas por faixas tangenciais de fibras. Essa característica foi observada também em outras espécies (Evert 1963; Derr e Evert 1967; Davis e Evert 1968). Segundo Evert (1963), a presença de faixas tangenciais de fibras pode ser utilizada para delimitar a camada de crescimento, como no caso de *Pyrus malus* (Rosaceae) (Evert 1963) e tem considerável valor taxonômico (Metcalfe e Chalk 1983). Para espécies brasileiras, faixas tangenciais de fibras foram descritas para *Erythrina verna* (Papilionoidae – Fabaceae) (Costa *et al.* 1997) e *Cedrela fissilis* (Meliaceae) (Marcati *et al.* 2006b). Segundo Angyalossy (2006), a presença de uma faixa de fibras na camada de crescimento em *Cedrela fissilis* permite a delimitação do floema inicial e do floema tardio. Tal característica é encontrada em trabalhos com espécies da região temperada (Evert 1963; Tucker e Evert, 1969) e da região tropical (Deshpande e Rajendrababu 1985; Angyalossy 2006). Na

espécie em estudo as faixas de fibras foram os marcadores encontrados nos limites das camadas de crescimento do floema secundário.

A passagem do floema condutor para o não-condutor deu-se pela deposição da calose definitiva na placa crivada, colapso dos elementos de tubo crivado e de suas células companheiras e expansão tangencial das células parenquimáticas. Para Lawton (1976), a área do floema envolvida em translocação pode estar relacionada com a formação da calose sobre as placas crivadas, pois quando a calose envolve o crivo, o tubo crivado está conduzindo, porém essa calose nos elementos de tubo crivado mais velhos tampona as áreas crivadas, formando a calose definitiva. Neste trabalho, os elementos de tubo crivado foram observados com seus crivos abertos, com a calose ao redor destes no floema condutor.

Elementos de tubo crivado com placas crivadas simples foram encontrados em grupos de até dois cada em vista transversal, com uma célula companheira posicionada ao lado de cada um dos tubos crivados. Placas crivadas simples foram descritas para *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae) (Coelho *et al.* 2012), observadas em *Cedrela fissilis* (Meliaceae), em grande maioria em *Citharexylum myrianthum* (Verbenaceae), de simples a composta em *Styrax camporum* e *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) (Angyalossy 2006), e nas quatro espécies de *Miconia* (Melastomataceae) estudadas por Milanez (2007). Segundo Evert (1990), placas crivadas simples são comumente encontradas nos elementos de tubo crivado do floema das espécies, tanto de região temperada quanto tropical, e conforme Machado e Carmello-Guerreiro (2006) ao longo do tempo, parece ter ocorrido diminuição na inclinação das paredes terminais e aumento no diâmetro do poro da área crivada nestas regiões. Nesse caso, a área crivada passaria de inclinada a transversal, o que poderia facilitar a passagem de substâncias. No caso da espécie em estudo, as placas crivadas transversais simples podem facilitar o transporte

de substâncias nos tubos crivados, nutrindo todos os tecidos do corpo da planta e corroborando a sobrevivência da espécie.

Células companheiras foram observadas acompanhando no mínimo dois e até quatro elementos de tubo crivado longitudinalmente. Segundo Esau (1974), a relação entre os elementos de tubo crivado e as células companheiras sugere existir interdependência entre células nucleadas e não-nucleadas do floema. No caso de *A. concolor*, uma única célula companheira fornece subsídios necessários para a manutenção de até quatro elementos de tubo crivado. Conforme Evert (2006) considerando que no elemento de tubo crivado maduro falta o núcleo e ribossomos, há muito se assume que esses elementos dependem das células companheiras para sua subsistência, e que as moléculas informacionais, proteínas e ATP necessários para sua manutenção são liberados via plasmodesmos. Os elementos crivados e as células companheiras são relacionados ontogeneticamente, pois são derivados da mesma célula-mãe (Esau 1974; Evert 2006). Nesse trabalho, foi observado que uma única célula companheira está suprindo quatro elementos de tubo crivado. Há relatos na literatura de células companheiras do mesmo comprimento que o elemento de tubo crivado e menores que esses (Esau 1974; Evert 2006), porém nesse estudo foi observado célula companheira de comprimento maior que o elemento de tubo crivado. Sugere-se, nesse caso, que a inicial cambial produz uma célula derivada que se diferenciará em tubo crivado, mas antes dessa diferenciação ela se divide para produzir a sua célula companheira. Após essa divisão ela passa por sucessivas divisões anticlinais que darão origem a quatro elementos de tubo crivado com apenas uma célula companheira que não passa por essas divisões.

Concluindo, neste trabalho, foi possível traçar um paralelo entre as características do xilema e as do floema secundários, tais como: camadas de

crescimento demarcadas por faixas marginais de parênquima axial no xilema e demarcadas por faixas tangencias de fibras no floema secundário; porosidade difusa no xilema secundário e tubos crivados sem distinção de tamanho ao longo das camadas de células vivas; elementos de vaso com placa de perfuração simples e elementos de tubo crivado com placas crivadas simples; fibras gelatinosas e raios uni a bisseriados em ambos os tecidos.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado da primeira autora.

Referências

- Alves, E. S. 1995. The effects of the pollution on wood of *Cecropia glazioui* (Cecropiaceae). IAWA Journal 16 (1): 69--80.
- Alves, E.S.; Angyalossy-Alfonso, V. 2000. Ecological trends in the wood anatomy of some Brazilian species. I: Growth rings and vessels. IAWA Journal 21:3--30.
- Angyalossy, V. 2006. O floema secundário em espécies arbóreas. Livre-docência (Departamento de Botânica). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- APG III. 2009. The Angiosperm Phylogeny Group: An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Bot. Journ. Linn. Soc. 161 (2): 105--121.
- Barros, C. F.; Callado, C. H.; Marcon, M. L.; Costa, C. G.; Cunha, M.; Lima, H. R. P.; Marquete, O. 2001a. Madeiras da Mata Atlântica: anatomia do lenho de espécies ocorrentes nos remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro – Brasil. Volume II. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas do Rio de Janeiro,
- Barros, C. F.; Callado, C. H.; Cunha, M.; Ferreira, M. L. M; Tamaio, N.; Marquete, O.; Costa, C. G. 2001b. Madeiras da Mata Atlântica: anatomia do lenho de espécies ocorrentes nos remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro – Brasil. Volume III. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas do Rio de Janeiro.
- Blancaflor, E. B.; Jones, D. L.; Gilroy, S. 1998. Alterations in the cytoskeleton accompany aluminum-induced growth inhibition and morphological changes in primary roots of maize. Plant Physiol. 118: 159--172.
- Bremer, B.; Erikson, T. 2009. Time tree of Rubiaceae: phylogeny and dating family, subfamilies and tribes. Int. Journ. Plant. Sci. 170 (6):766--793.
- Botosso, P. C.; Gomes, A. V. 1982. Radial vessels and series of perforated ray cells in Annonaceae. IAWA Bull. 3 (1): 39--4.

- Callado, C. H.; Silva Neto, S. J. 2003. Anatomia do lenho de três espécies do gênero *Simira* Aubl. (Rubiaceae) da Floresta Atlântica no estado do Rio de Janeiro. Rodrig. 54 (83): 23--33.
- Carlquist, S. 2001. Comparative wood anatomy: systematic, ecological and evolutionary aspects of dicotyledon wood. Springer-Verlag, Berlin.
- Cavassan, O. 1990. Florística e fitossociologia da vegetação lenhosa em um hectare de cerrado no Parque Ecológico Municipal de Bauru (SP). Tese (Doutorado em Biologia Vegetal). Universidade de Campinas, Campinas.
- Ceccantini, G.; Angyalossy-Alfonso, V. 2000. Perforated ray cells in *Bathysa meridionalis* (Rubiaceae). IAWA J. 21 (1): 77--82.
- Chalk, L.; Chattaway, M. M. 1933. Perforated ray cells. Proceed. R. Soc. Lond. 113, 82--92.
- Coelho, V. P. M.; Leite, J. P. V.; Nunes, L. G.; Ventrella, M. C. 2012. Anatomy, histochemistry and phytochemical profile of leaf and stem bark of *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae). Aust. J. Bot 60: 49--60.
- Coradin, V. T. R. 2000. Formação de anéis de crescimento e sazonalidade cambial em dez espécies lenhosas do Cerrado. Tese. Doutorado em Ecologia. Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal.
- Cosmo, N. L.; Kuniyoshi, Y. S.; Botosso, P. C. 2010. Anatomia da madeira de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae): aspectos funcionais e ecológicos. Acta Bot. Bras. 24 (3): 747--755.
- Costa, C. G.; Coradin, V. T. R.; Czarneski, C. M.; Pereira, B. A. S. 1997. Bark anatomy of arborescent Leguminosae of Cerrado and gallery forest of central Brazil. IAWA J. 18 (4): 385--399.

- Cutter, E. G. 1987. Anatomia vegetal – parte II. Órgãos, experimentos e interpretação. Roca, São Paulo.
- Davis, J. D.; Evert, R. F. 1968. Seasonal development of the secondary phloem in *Populus tremuloides*. Bot. Gaz. 129 (1): 1--8.
- Dayal, R.; Rao, V. R.; Sharma, B. 1984. Perforated ray cells in woods of Indian Myrsinaceae and Loganiaceae. IAWA Bull. 5 (3): 225--228.
- Denardi, L.; Marchiori, J. N. C. 2005. Anatomia ecológica da madeira de *Blepharocalyx salicifolius* (H. B. K.) Berg. Cien. Fl. 15 (2): 119--127.
- Delprete, P. G. 1999. Rondeletieae (Rubiaceae). Flora Neotropica. Monograph 77. New York, The New York Botanical Garden Press, Bronx.
- Derr, W. F.; Evert, R. F. 1967. The cambium and seasonal development of the phloem in *Robinia pseudoacacia*. Am. J. Bot. 54 (2): 147--153.
- Deshpande, B. P.; Rajendrababu, T. 1985. Seasonal changes in the structure of the secondary phloem of *Grewia tiliaefolia*, a deciduous tree from India. Ann Bot. 56: 61--71.
- Dessein, S.; Jansen, S.; Huysmans, S.; Robbrecht, E.; Smets, E. 2001. A morphological and anatomical survey of *Virectaria* (African Rubiaceae), with a discussion of its taxonomic position. Bot. Journ. Linn. Soc. 137: 1--29.
- Detienne, P.; Jacquet, P. 1983. Atlas d'identification des bois de l'amazoine et des regions voisenes. Marne: Centre Technique Forestier Tropical. França.
- Du, S.; Yamamoto, F. 2007. An overview of the biology of reaction wood formation. J. Int. Pl. Biol. 49 (2): 131--143.
- Eom, Y. G.; Chung, Y. J. 1995. Perforated ray cells in Korean Rosaceae. Jour. Korean For. Soc. 84 (4): 432--436.
- Esau, K. 1965. Plant Anatomy. John Wiley and Sons, New York.

- Esau, K. 1974. Anatomia das plantas com sementes. Edgar Blücher, São Paulo.
- Evert, R. F. 1963. The cambium and seasonal development of the phloem in *Pyrus malus*. *Am. J. Bot.* 50: 149--159.
- Evert, R. F. 1990. Dicotyledons. In: Behnke, H, D.; Sjolund, R, D. (eds). 1990. Sieve elements – comparative structure, induction and development. Springer-Verlag, Berlin.
- Evert, R. F. 2006. Esau's Plant Anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body: their structure, function and development. 3 ed. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Fedalto, L. C.; Mendes, I. C. A.; Coradin, V. T. R. 1989. Madeiras da Amazônia. Ibama, Brasília.
- Foy, C. D.; Chaney, R. L.; White, M. C. 1978. The physiology of metal toxicity in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 29: 511--66.
- Frantzios, G.; Galatis, B.; Apostolakos, P. 2001. Aluminium effects on microtubule organization in dividing root-tips cells of *Triticum turgidum*. II. Cytokinetic cells. *J. Plant. Res.* 114: 157--170.
- IAWA COMMITTEE (International Association of Wood Anatomists Committee). 1989. List of microscopic features for hardwood identification. *IAWA Bull.* 10: 219--332.
- Jansen, S.; Robbrecht, E.; Beechman, H.; Smets, E. 1997. Comparative wood anatomy of African Coffeae (Rubiaceae – Ixoroidae). *Belg. J. Bot.* 130 (1): 47--58.
- Jansen, S.; De Block, P.; Beechman, H.; Smets, E. 1999. Wood anatomy of the Pavetteae (Rubiaceae – Ixoroidae). *Syst. Geogr. Pl.* 68: 113--133.
- Jansen, S. Lens, F.; Ntore, S.; Piesschart, F.; Robbrecht, E.; Smets, E.; 2001. Contributions to the wood anatomy of the Rubioidae (Rubiaceae). *J. Plant. Res.* 114: 269--289.

- Jansen, S.; Robbrecht, E.; Beechman, H.; Smets, E. 2002. A survey of the systematic wood anatomy of the Rubiaceae. IAWA J. 23 (1): 1--67.
- Joffily, A.; Domingues, D. F.; Vieira, R. C. 2007. Perforated ray cells in the root and stem of *Maytenus* (Celastroidae – Celastraceae). IAWA J. 28 (3): 311--314.
- Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F.; Donoghue, M. J. 2009. Sistemática vegetal: um enfoque filogenético. Artmed, Porto Alegre.
- Koek-Noorman, J. 1969a. A contribution to the wood anatomy of South American (chiefly Suriname) Rubiaceae. I. Acta Bot. Neerl. 18: 108--123.
- Koek-Noorman, J. 1969b. A contribution to the wood anatomy of South American (chiefly Suriname) Rubiaceae. II. Acta Bot. Neerl. 18: 377--395.
- Koek-Noorman, J. 1972. The wood anatomy of Gardenieae, Ixoreae and Mussaendeae (Rubiaceae). Acta Bot. Neerl. 21 (3): 301--320.
- Koek-Noorman, J. 1976. Juvenile characters in the wood of certain Rubiaceae with special reference to *Rubia fruticosa* Ait. IAWA Bull. 3: 38--42.
- Kraus, J.E.; Arduin, M. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Editora da Universidade Rural, Rio de Janeiro.
- Lawton, J. R. 1976. Seasonal variation in the secondary phloem from the main trunks of willow and sycamore trees. New Phytol. 77: 761--771.
- Lens, F.; Jansen, S.; Robbrecht, E.; Smets, E. 2000. Wood anatomy of the Vanguerieae (Ixoroidae – Rubiaceae), with special emphasis on some geofrutices. IAWA J. 21 (4): 443--455.
- Lima, G. S.; Moura, F. S.; Lemos, R. P. L. Conserva, L. M. 2009. Triterpenos de *Guettarda grazielae* M.R.V. Barbosa (Rubiaceae) Rev. Bras. Farmacog. 19 (1): 284--289.

- Lindorf, H. 2005. Bark and wood anatomy of *Uncaria guianensis* and *Uncaria tomentosa* (“cat’s claw”). IAWA J. 26 (2): 239--251.
- Luchi, A. E. 1998. Periodicidade de crescimento em *Hymenaea courbaril* L. e anatomia ecológica do lenho de espécies de mata ciliar. Tese. Doutorado em Ciências. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Mabberley, D. J. 1997. The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants. Cambridge University Press, Cambridge.
- Machado, S. R.; Carmello-Guerreiro, S. M. 2006. Floema. In: Apezato-da-Glória, B.; Carmello-Guerreiro, S. M. (eds). 2006. Anatomia Vegetal. Viçosa, Minas Gerais.
- Mainieri, C. 1958. Identificação das principais madeiras de comércio no Brasil. Instituto de Pesquisas Tecnológicas do estado de São Paulo, São Paulo.
- Marcati, C. R.; Oliveira, J. S.; Machado, S. R. 2006a. Growth rings in cerrado woody species: occurrence and anatomical markers. Biot. Neot. 6 (3): 1--31.
- Marcati, C. R.; Angyalossy, V.; Evert, R. F. 2006b. Seasonal variation in wood formation of *Cedrela fissilis* (Meliaceae). IAWA J. 27 (2): 199--211.
- Marcon-Ferreira, M. L.; Barros, C. F.; Costa, C. G. 2009. Perforated ray cells in *Miconia ternatifolia* – A first report for the family Melastomataceae. IAWA J. 30 (2): 163--164.
- Martínez-Cabrera, D.; Terrazas, T.; Ochoterena, H.; López-Malta, L. 2010. Bark and wood anatomy of the tribe Hamelieae (Rubiaceae). IAWA J. 31 (4): 425--442.
- Metcalf, C. R.; Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons. Clarendon Press, Oxford.
- Metcalf, C. R.; Chalk, L. 1983. Anatomy of the dicotyledons. Vol. II. Wood structure and conclusion of the general introduction. 2nd Ed. Clarendon Press, Oxford.

- Milanez, C. R. D. 2007. Estudos anatômicos e ultrastruturais em Melastomataceae de Cerrado. Tese (Doutorado em Botânica). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo.
- O'Brien, T. P.; Feder, N.; McCully, M.; E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59, 368--373.
- Paviani, T. I. 1974. Sobre a ocorrência de fibras gelatinosas em *Plathymenia reticulata* Benth. *Ciênc. Cult.* 26: 783--786.
- Pereira, M. S.; Barbosa, M. R. V. 2004. A família Rubiaceae na Reserva Biológica Guariba, Paraíba, Brasil. Subfamílias Antirheoideae, Cinchonoideae e Ixoroideae. *Acta Bot. Bras.* 18 (2): 305--318.
- Piesschart, F.; Jansen, S.; Jaimes, I.; Robbrecht, E.; Smets, E.; 2001. Morphology, anatomy, and taxonomic position of *Pagameopsis* (Rubiaceae-Rubioideae). *Britt.* 53 (4): 490--504.
- Pinheiro, M. H. O. 2000. Levantamento florístico e fitossociológico da floresta estacional semidecidual do Jardim Botânico Municipal de Bauru, São Paulo. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal). Universidade de Campinas, Campinas.
- Rao, R. V.; Sharma, B.; Dayal, R. 1984. Occurrence of perforated ray cells in Santalaceae. *IAWA Bull.* 5 (4): 313--315.
- Richter, H. G.; Mazzoni-Viveiros, S. C.; Alves, E. S.; Luchi, A. E.; Costa, C. G. 1996. Padronização de critérios para a descrição anatômica da casca: lista de características e glossário de termos. *IF Série Registros* 16: 1--25.
- Richter, H. G.; Dallwitz, M. J. 2000. Commercial timbers: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. Disponível em: <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/wood/english/bixbiarb.htm>. Acesso em: 30 jan 2012.

- Rodrigues, V. E. G.; Carvalho, D. A. 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do Cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. *Ciênc. Agrotec.* 25: 102--123.
- Roth, I. 1981. Structural patterns of tropical barks. Berlin, Gebrüder Borntraeger.
- Sass, J. E. 1958. Botanical microtechnique. Ed. 3. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.
- Silva, I. D. D.; Aragão, C. F. S. 2009. Avaliação de parâmetros de extração da *Cinchona* Vahl por métodos farmacopéicos e não farmacopéicos. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19 (3): 776--780.
- Sonsin, J. O. Machado, S. R.; Marcati, C. R. 2008. Perforated ray cells in the wood of roots and branches of Cerrado species from Brazil. *IAWA J.* 29 (3): 291--299.
- Sonsin, J. 2010. Anatomia da madeira de espécies de cerrado *sensu lato* do estado de São Paulo. Tese (Doutorado em Ciência Florestal). Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, Botucatu.
- Schumann, K. M. 1889. Rubiaceae. In: Martius, C. F. P.; Eichler, A. W. & Urban, I. *Flora Brasiliensis. Monachii et Lipsiae.* v. 6, n. 6. 466 p.
- Tucker, C. M.; Evert, R. F. 1969. Seasonal development of secondary phloem in *Acer negundo*. *Am. J. Bot* 56: 275--284.
- Villagra, P. E.; Roig-Juñent, F. A. 1997. Wood structure of *Prosopis alpataco* and *P. argentina* growing under different edaphic conditions. *IAWA J.* 18 (1): 37--51.
- Wheller, E; Bass, P. 1991. A survey of the fossil record for dicotyledonous wood and its significance for evolutionary and ecological wood anatomy. *IAWA Bull.* 12 (3): 275--332.
- Williams, L. 1936. Woods of northeastern Peru. *Field. Mus. Nat. Hist., Bot. ser.* 15: 1--587. Chicago.

Zimmermann, M. H. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Berlin, Springer-Verlag.

Tabela 1 -- Características anatômicas quantitativas (média \pm desvio padrão) dos vasos do xilema secundário nos cinco espécimes de *Alibertia concolor* (Rubiaceae).

Intervasc.= intervasculares.

Espécimes	Vasos					Agrupamento (em %)				
	Comprimento (μm)	Diâmetro (μm)	Frequência (n°/mm)	Diâmetro das pontoações intervasc. (μm)	Solitários	Geminados	Múltiplos de 3	Múltiplos de 4	Múltiplos de 5	
BOTw 2224	613,0 \pm 127,0	7 \pm 1	5 \pm 1,4	3,0 \pm 0	58,1	30,2	10,0	1,2	0,2	
BOTw 2225	625,0 \pm 103,0	8 \pm 2	6 \pm 1,5	4,0 \pm 0	47,0	36,1	12,8	3,0	1,0	
BOTw 2226	1260,0 \pm 213,0	11 \pm 2	8 \pm 1,4	2,0 \pm 0	80,5	13,1	4,0	1,4	1,0	
BOTw 2227	1232,0 \pm 324,0	32 \pm 5	7 \pm 1,3	4,0 \pm 0	72,1	22,2	4,5	0,9	0,2	
BOTw 2228	744,0 \pm 307,0	37 \pm 6	6 \pm 1,5	3,0 \pm 1	59,6	25,3	12,0	2,4	0,6	

Tabela 2 -- Características anatômicas quantitativas (média \pm desvio padrão) das fibras do xilema secundário nos cinco espécimes de *Alibertia concolor* (Rubiaceae). Esp.= espessura.

Fibras				
Espécimes	Comprimento (μm)	Diâmetro total (μm)	Diâmetro do lume (μm)	Esp. fibra (μm)
BOTw 2224	1107 \pm 167	71, 22 \pm 9,83	14,5 \pm 5,27	28 \pm 5
BOTw 2225	764 \pm 260	70,95 \pm 8,42	15,13 \pm 6,39	27 \pm 6
BOTw 2226	1096 \pm 118	19,53 \pm 2,46	4,33 \pm 1,29	8 \pm 1
BOTw 2227	1097 \pm 199	73,6 \pm 8,28	18,0 \pm 5,27	28 \pm 4
BOTw 2228	1036 \pm 168	19,03 \pm 2,31	4,34 \pm 1,29	7 \pm 1

Tabela 3 -- Características anatômicas quantitativas (média \pm desvio padrão) dos raios do xilema secundário nos cinco espécimes de *Alibertia concolor* (Rubiaceae). Ptc. raio-vasc.= pontuações raio-vasculares.

Raios			
Espécimes	Altura (μm)	Frequência (n ^o /mm)	Diâmetro das ptc. raio-vasc. (μm)
BOTw 2224	232,32 \pm 54,7	4,1 \pm 1	2 \pm 1
BOTw 2225	309,22 \pm 107,2	5,0 \pm 1	3 \pm 1
BOTw 2226	271,59 \pm 44,0	5,0 \pm 1	2 \pm 0
BOTw 2227	286,31 \pm 64,22	4,0 \pm 1	3 \pm 1
BOTw 2228	326,34 \pm 90,9	5,0 \pm 1	3 \pm 1

Tabela 4 -- Características anatômicas quantitativas (média \pm desvio padrão) dos elementos de tubo crivado do floema secundário nos cinco espécimes de *Alibertia concolor* (Rubiaceae).

Elementos de tubo crivado		
Espécimes	Comprimento (μm)	Diâmetro total (μm)
BOTw 2224	152,43 \pm 56,4	9,71 \pm 3,0
BOTw 2225	109,70 \pm 34,8	7,41 \pm 2,0
BOTw 2226	161,11 \pm 43,8	8,15 \pm 1,75
BOTw 2227	176,65 \pm 70,6	7,04 \pm 1,87
BOTw 2228	110,0 \pm 35,9	7,93 \pm 2,21

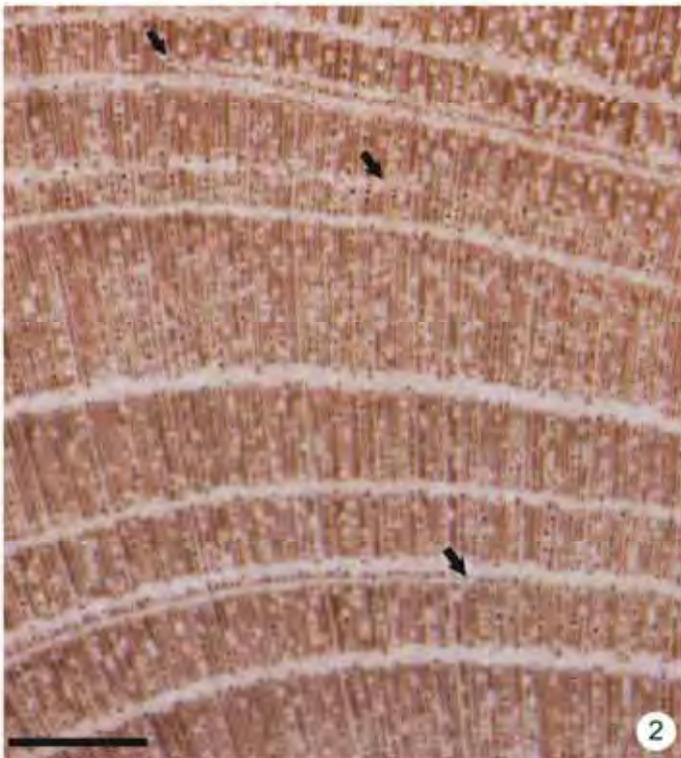
Tabela 5 -- Características anatômicas quantitativas (média \pm desvio padrão) das fibras do floema secundário nos cinco espécimes de *Alibertia concolor* (Rubiaceae). Esp. = espessura.

Fibras				
Espécimes	Comprimento (μm)	Diâmetro total (μm)	Diâmetro do lume (μm)	Esp. da fibra (μm)
BOTw 2224	817,99 \pm 161,6	13,13 \pm 3,2	4,61 \pm 1,9	4,25 \pm 1,6
BOTw 2225	972,79 \pm 183,5	13,71 \pm 2,0	4,70 \pm 1,3	4,50 \pm 0,9
BOTw 2226	956,25 \pm 373,1	13,06 \pm 2,1	4,77 \pm 2,0	4,14 \pm 1,2
BOTw 2227	1065,00 \pm 322,6	13,38 \pm 2,7	4,83 \pm 1,81	4,27 \pm 1,0
BOTw 2228	952,80 \pm 242,1	13,77 \pm 2,0	4,65 \pm 1,42	4,56 \pm 1,0

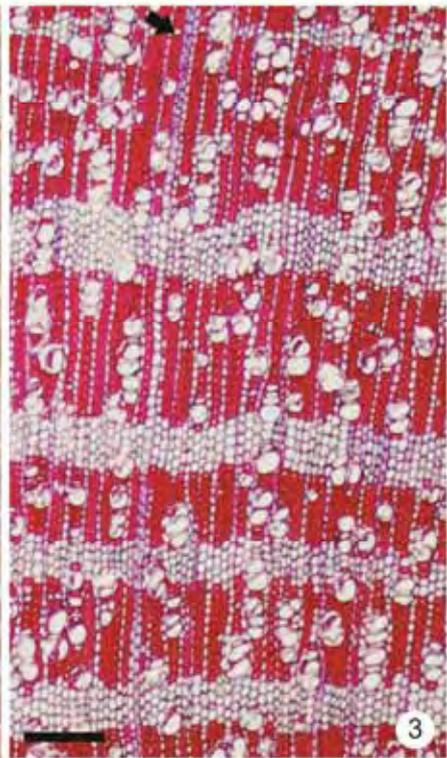
Fig. 1-3: Aspecto geral do lenho em *Alibertia concolor*. -- **1-3:** Secções transversais. -- **1:** Disco completo mostrando irregularidade nos marcadores das camadas de crescimento e medula excêntrica no espécime BOTw 2227. Seta aponta um limite da camada de crescimento que bifurca (seta). -- **2:** Detalhe das faixas marginais, sendo algumas descontínuas (setas), com terminação cega no espécime BOTw 2224. -- **3:** Vista microscópica mostrando as faixas marginais de parênquima axial, vasos pequenos circundados pelas células destas faixas e porosidade difusa no espécime BOTw 2224. Notar, na parte superior da foto, faixa estreita com menos de três células de largura (seta). -- **Barras: 1:** 1cm. **2-3:** 50 µm.



1



2



3

Fig. 4--8: Características do xilema secundário. -- **4:** Secção transversal mostrando arranjo radial visível próximo à medula em BOTw 2224 -- **5, 6:** Secções longitudinais tangenciais. -- **5:** Placa de perfuração simples no vaso em BOTw 2224 -- **6:** Pontoações intervasculares areoladas alternas na parede do vaso em BOTw 2225 -- **7:** Secção longitudinal radial. Pontoações raio-vasculares semelhantes às intervasculares em BOTw 2225 -- **8:** Secção transversal mostrando tilos (*) e conteúdos orgânicos (setas) que são escassos em BOTw 2224. -- **Barras: 4, 8:** 50 µm. **5--7:** 20 µm.

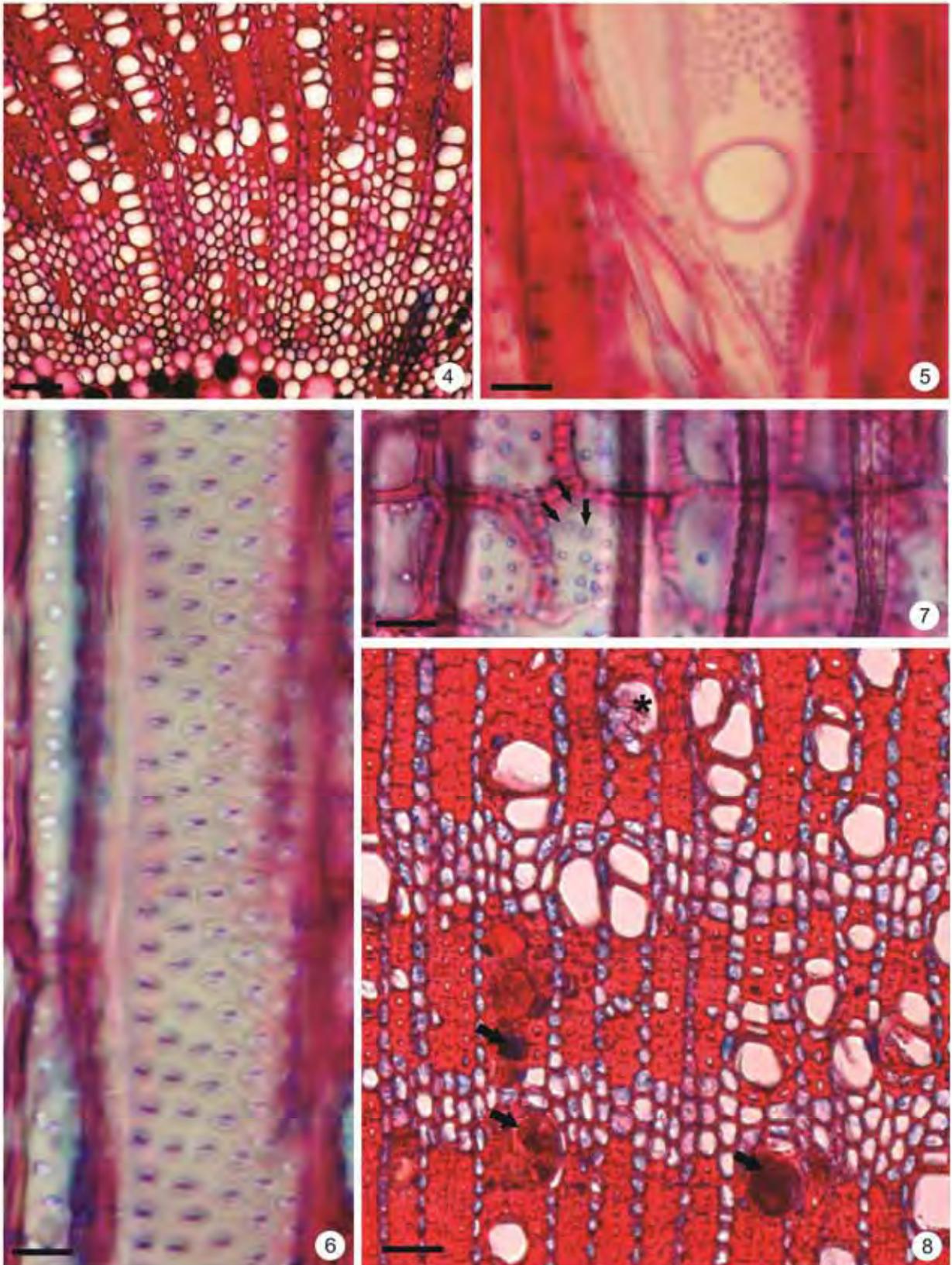


Fig. 9-13. Fibras e parênquima axial. -- **9:** Pontoações areoladas (setas) nas paredes tangenciais das fibras em BOTw 2226 -- **10:** Pontoações areoladas (setas) nas paredes radiais das fibras em BOTw 2225 - - **11-12:** Secções transversais. -- **11:** Fibras gelatinosas no lenho no espécime BOTw 2227. Notar a camada gelatinosa interna corada em um tom arroxeadado pelo azul de toluidina. -- **12:** Parênquima axial do tipo paratraqueal escasso (setas brancas) e parênquima axial apotraqueal difuso (setas pretas) no espécime BOTw 2224. -- **13:** Secção longitudinal tangencial. Série parenquimática com predominância de três a quatro células em BOTw 2224. -- **Barras:** **9, 10:** 20 μ m. **11, 12:** 50 μ m. **13:** 100 μ m.

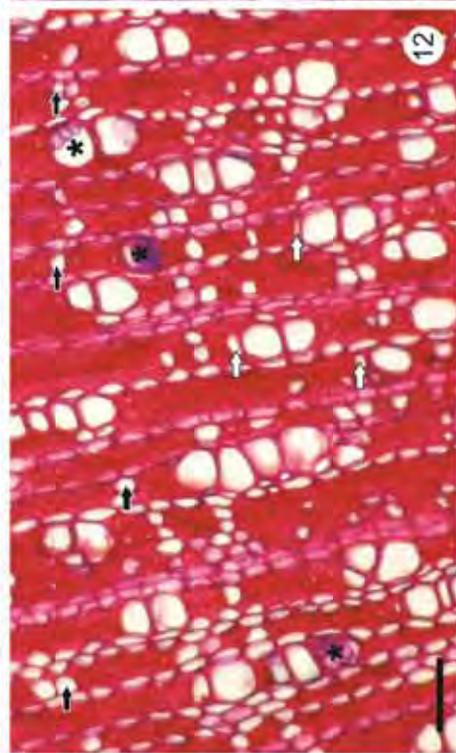
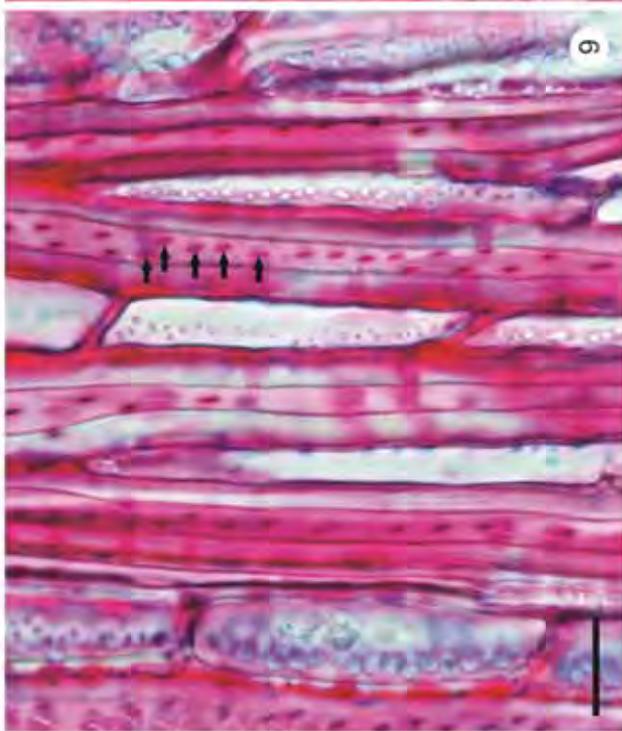
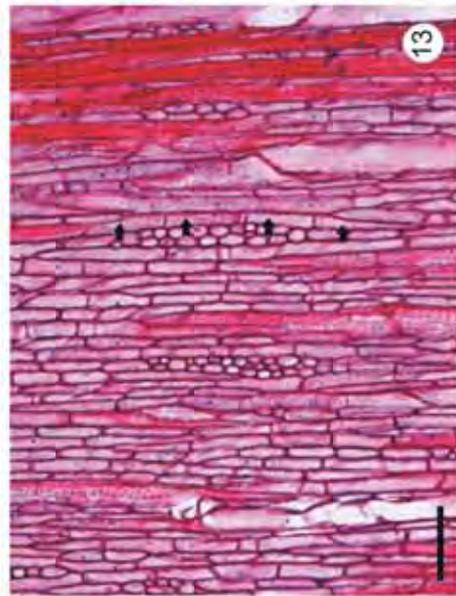
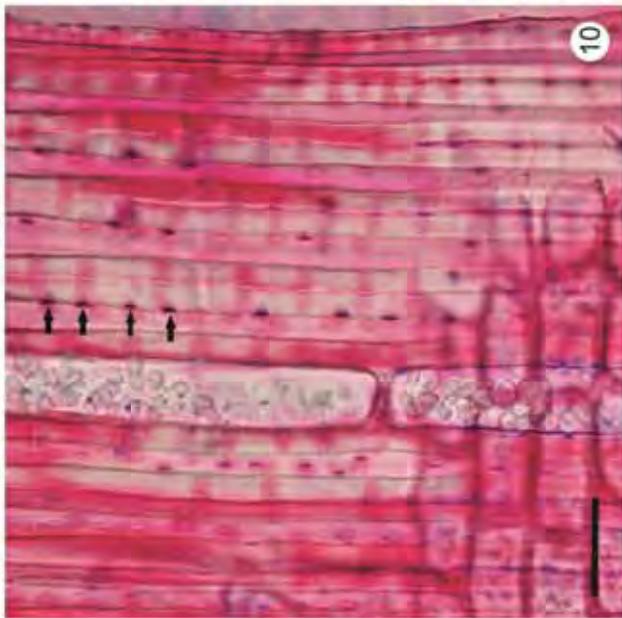
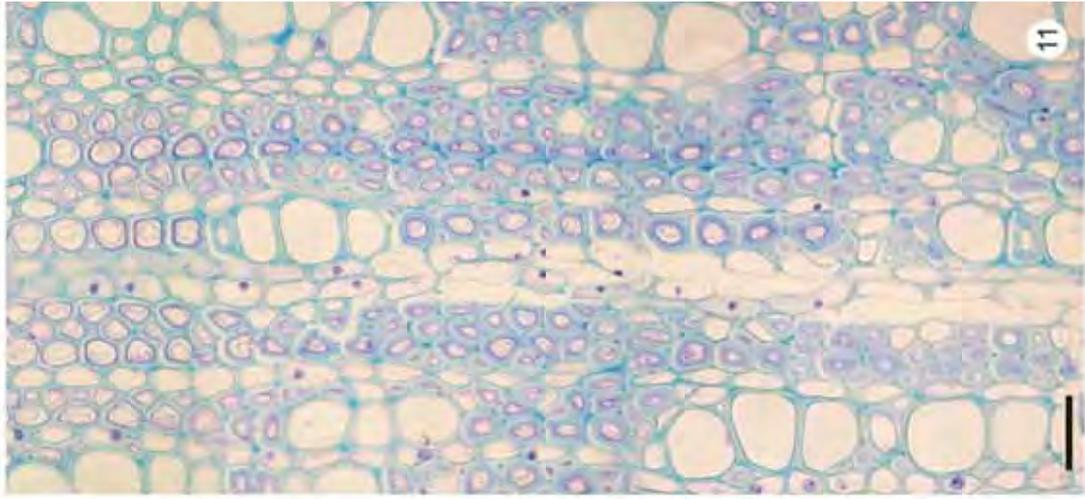


Fig. 14--20. Parênquima radial e células perfuradas de raio. -- **14:** Raios unisseriados e bisseriados em secção longitudinal tangencial em BOTw 2224. -- **15:** Raio composto por corpo central de células procumbentes e margem com quatro fileiras de células quadradas e/ou eretas em secção longitudinal radial. Notar a célula perfurada de raio na margem (*) em BOTw 2226. -- **16:** Secção longitudinal radial. Corpo de células procumbentes, quadradas e eretas misturadas através do raio em BOTw 2226. -- **17--20:** Células perfuradas de raio em BOTw 2224. -- **Barras:** **14:** 100 μm . **15--18:** 50 μm . **19, 20:** 20 μm .

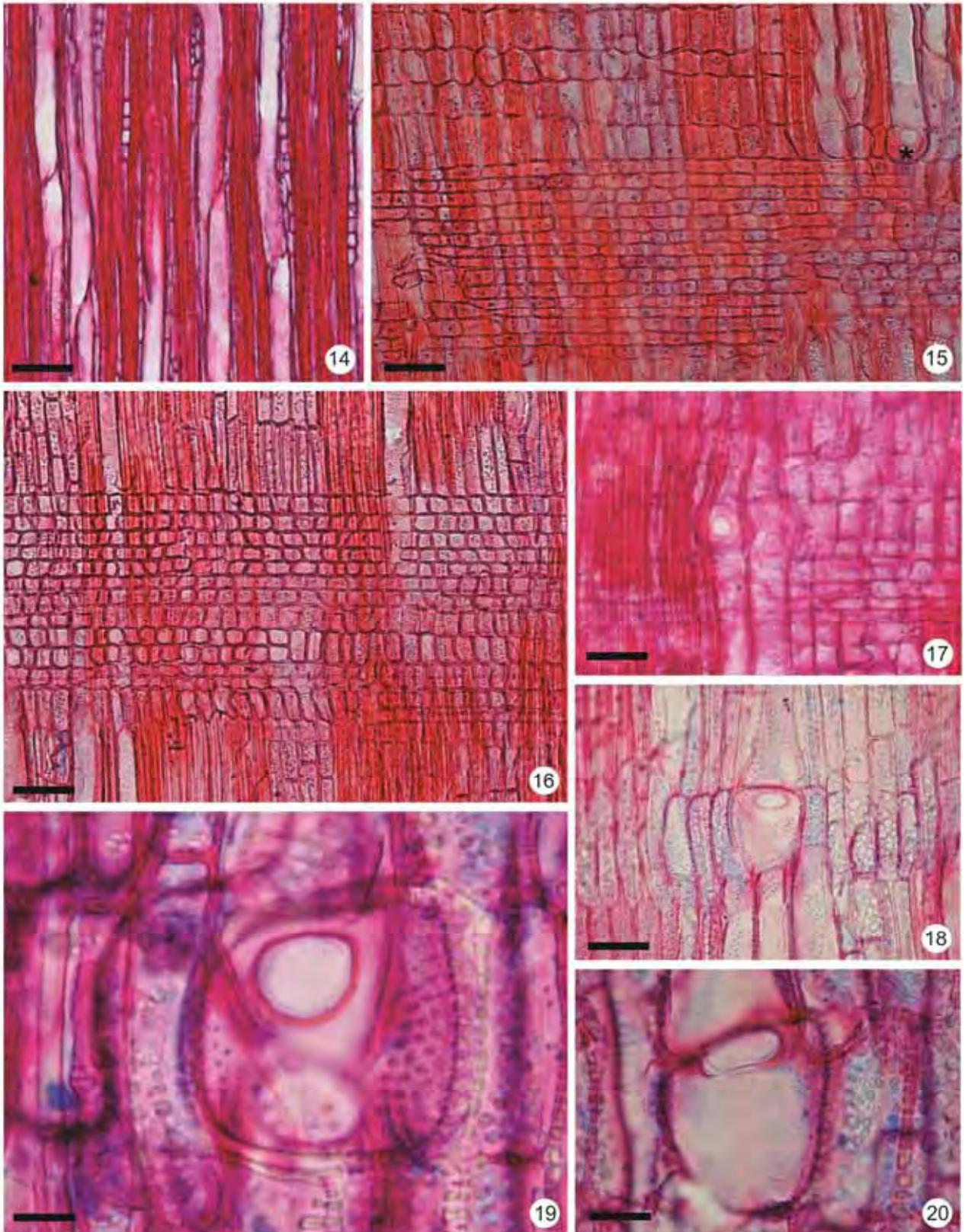


Fig. 21--23: Floema secundário. -- **21:** Vista geral em secção transversal mostrando o floema condutor e o floema não condutor em BOTw 2228. -- **22:** Vista transversal de tubos crivados (*) em grupos de até dois e também solitários, com uma célula companheira ao lado de cada um deles (setas). Faixa tangencial de fibras com as paredes espessas coradas em azul separa as camadas de células vivas floemáticas em BOTw 2228. -- **23:** Tubo crivado (série de dois elementos) com crivos abertos da placa crivada transversal permitindo a condução. A calose aparece como um envoltório transparente ao redor dos crivos em BOTw 2224. **FNC**= floema não condutor. **FC**= floema condutor. **Xi**= xilema secundário. **Zc**= zona cambial. **ETC**= elemento de tubo crivado. **CC**= célula companheira. -- **Barras:** **21:** 50µm. **22:** 20µm. **23:** 50µm.

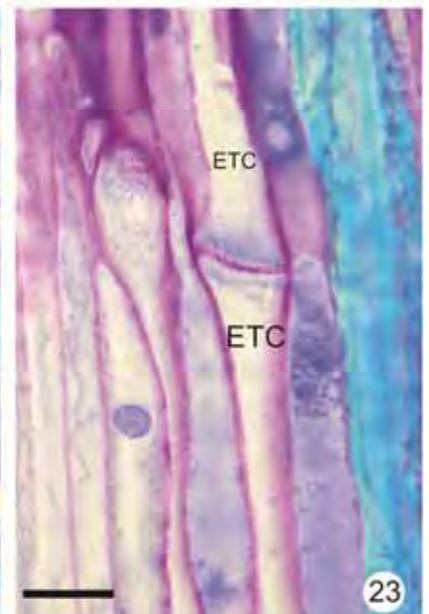
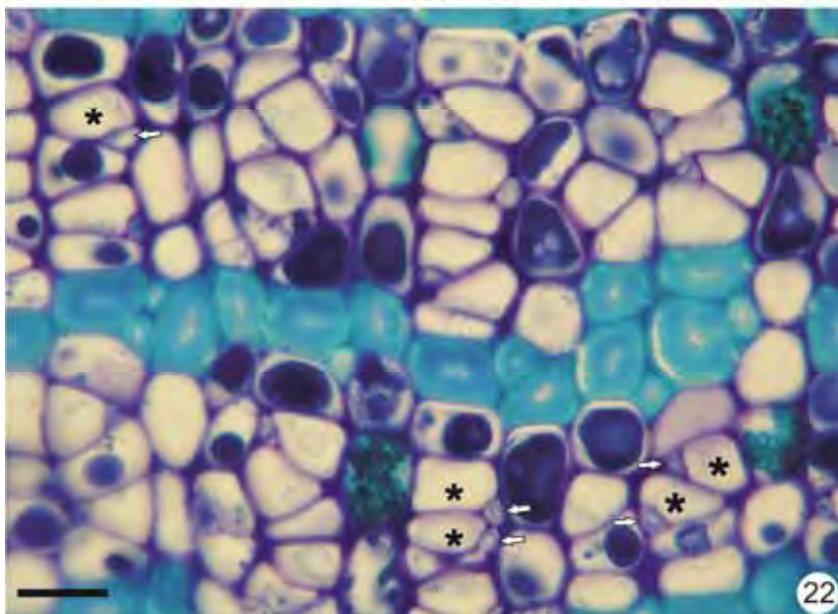
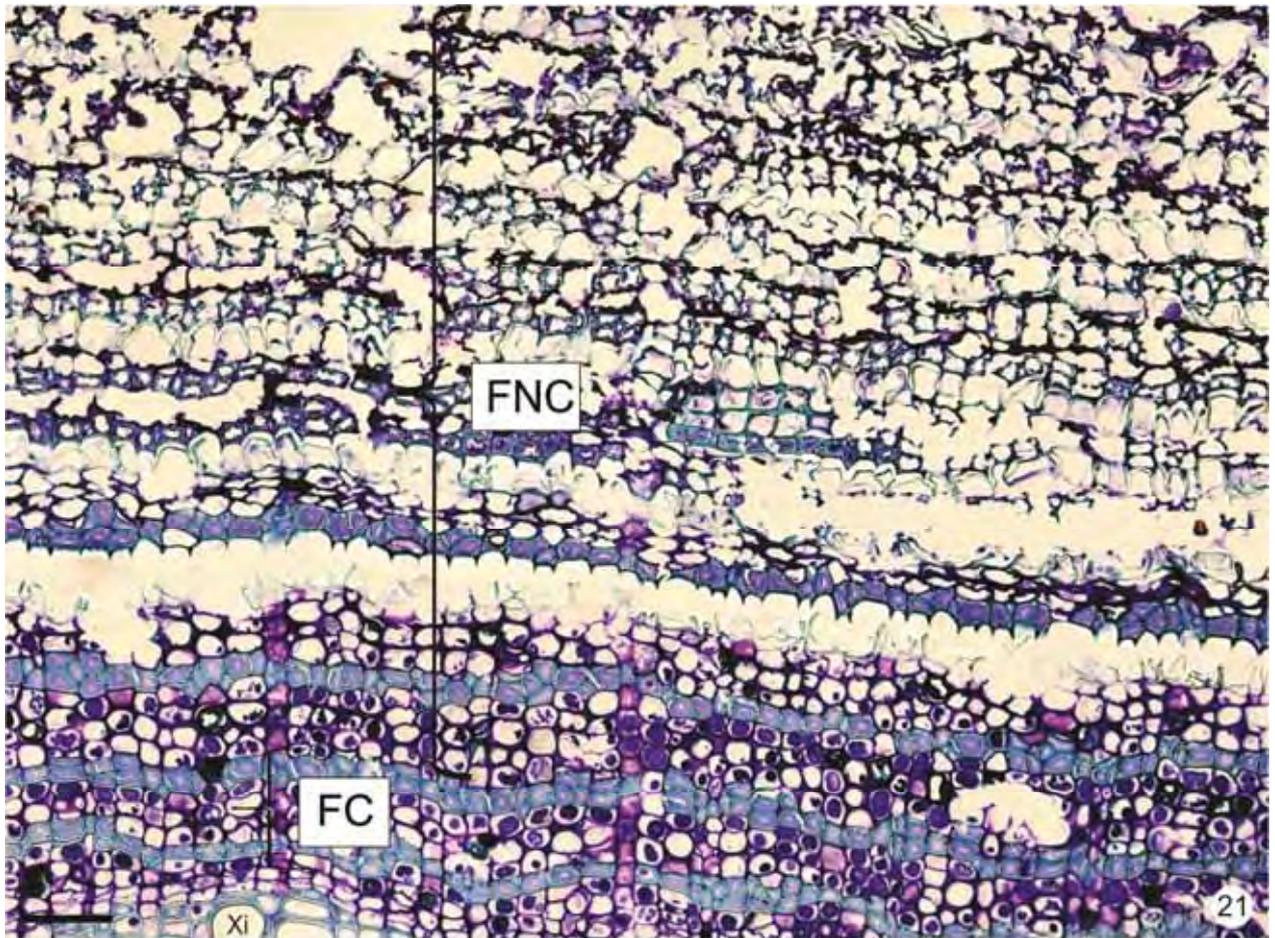


Fig. 24--26: Elementos de tubo crivado e célula companheira no espécime BOTw 2224. -- **24, 25:** Secções longitudinais radiais. -- **24:** Dois elementos de tubo crivado em contato e a célula companheira do lado esquerdo com a terminação junto à placa crivada que liga os dois elementos de tubo crivado. -- **25:** Três tubos crivados evidenciando as placas crivadas abertas, calose e depósito de proteína-P (setas pretas). Notar as células parenquimáticas mais largas que os tubos crivados (setas brancas). -- **26:** Uma célula companheira (seta branca) acompanhando quatro elementos de tubo crivado, longitudinalmente, em macerado. As setas pretas apontam os limites (placas crivadas) dos elementos de tubo crivado. **Zc**= zona cambial. **CC**= célula companheira. **ETC**= elemento de tubo crivado. -- **Barras:** **24, 25:** 20 μm . **26:** 50 μm .

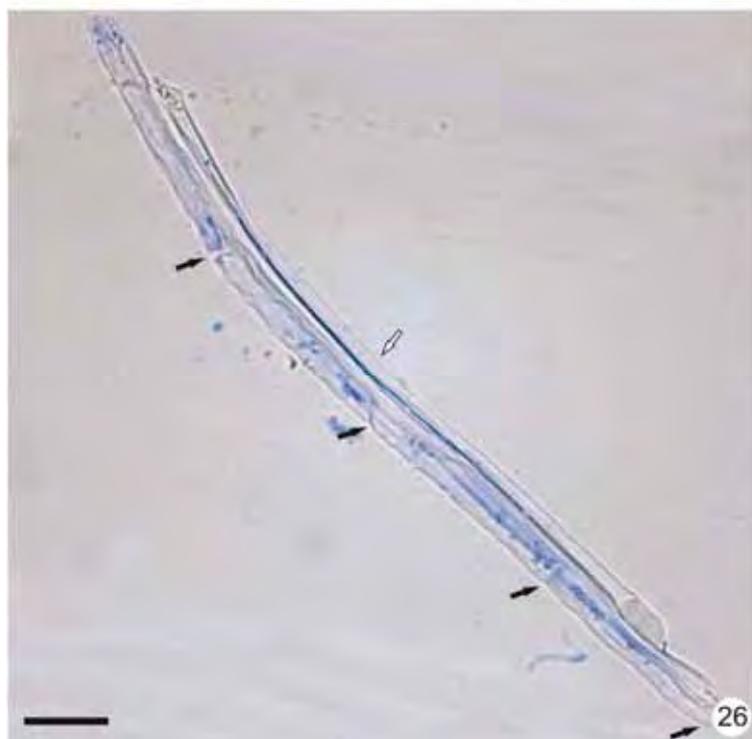
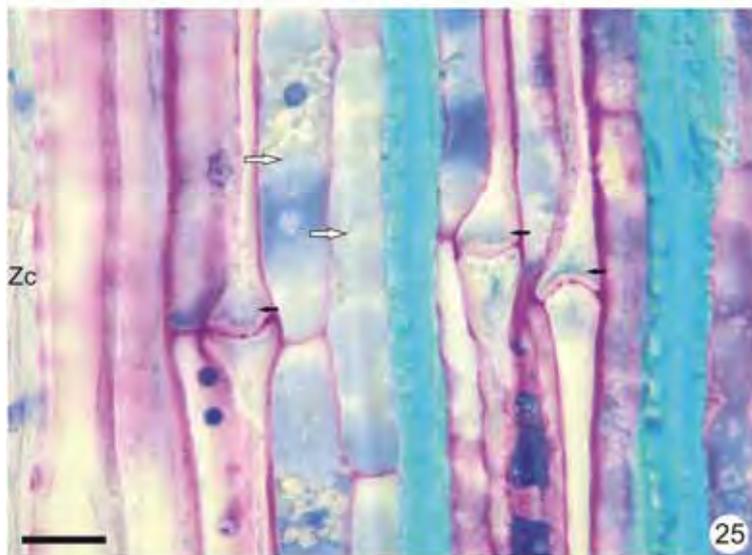
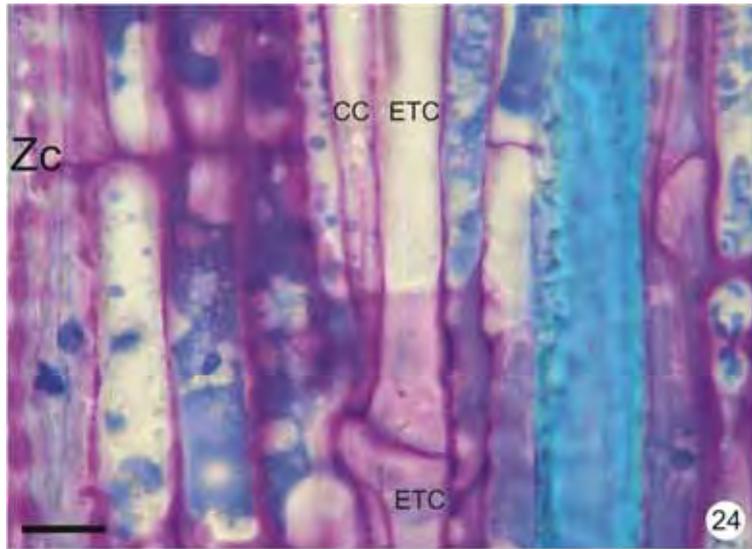
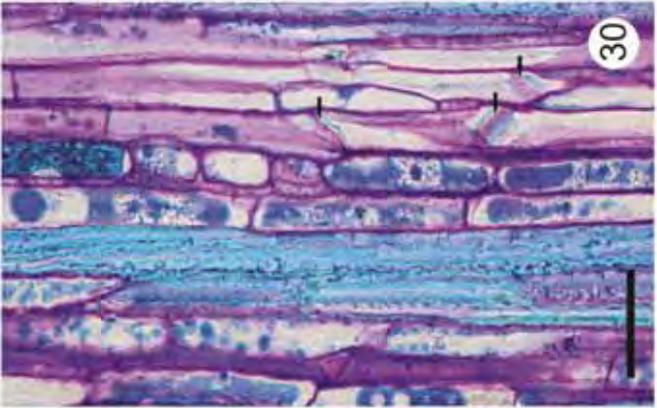
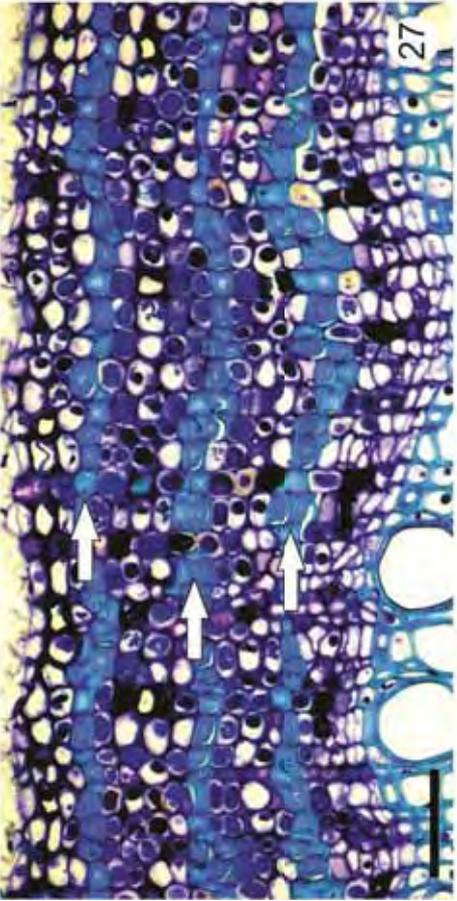
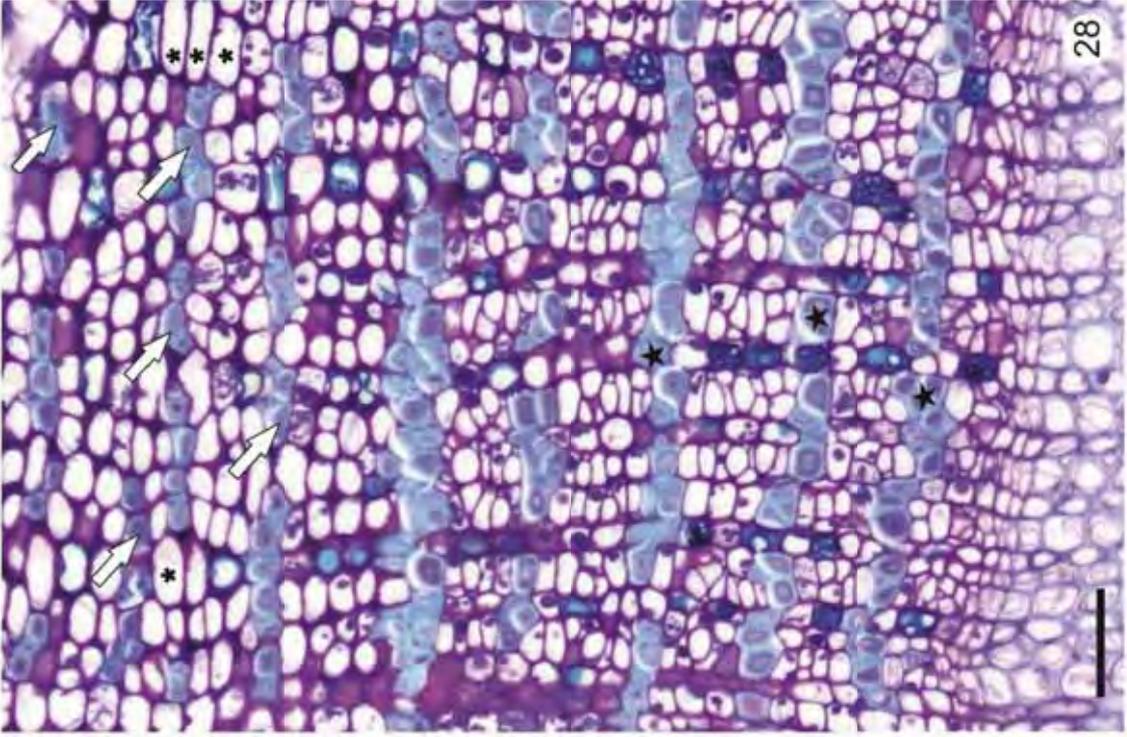
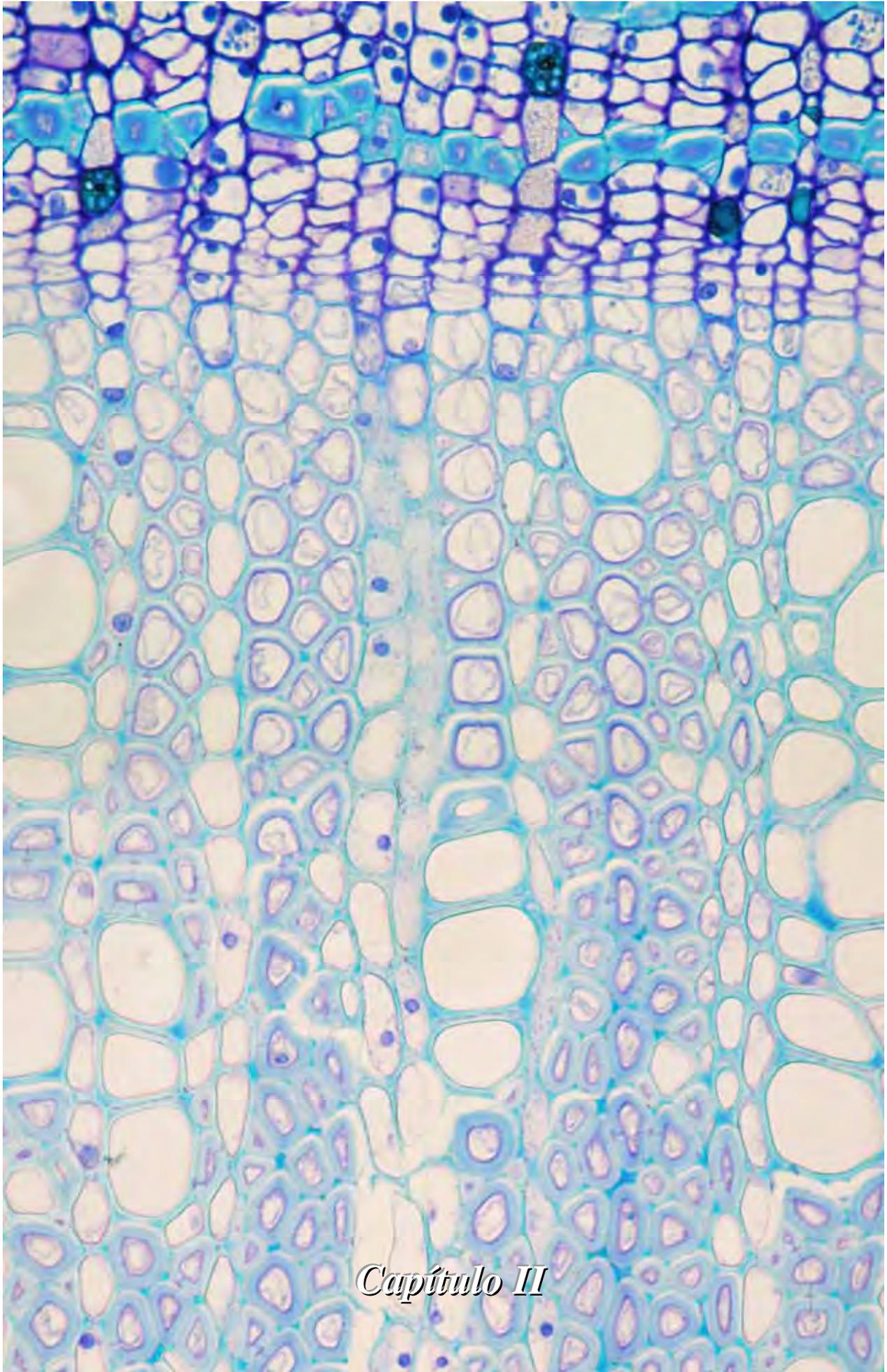


Fig. 27--30: Fibras e raios no floema secundário. -- **27, 28:** Secções transversais do espécime BOTw 2228. -- **27:** Faixas tangenciais de fibras (setas) circundam todo o floema e são os únicos marcadores visíveis das camadas de crescimento neste tecido. -- **28:** Algumas dessas fibras interrompem-se, principalmente em direção ao floema não condutor, ficando em grupos (setas), devido à expansão tangencial das células parenquimáticas (*), porém mantendo a orientação tangencial das faixas. Fibras gelatinosas são evidenciadas na faixa de fibras (★) pela camada mais interna gelatinosa dessas fibras. -- **29:** Raios uni e bisseriados no floema secundário (setas) em BOTw 2226. -- **30:** No floema não-condutor, a calose definitiva juntamente com proteína-P tampona os crivos, impedindo a passagem de substâncias pelo elemento condutor (setas) em BOTw 2224. -- **Barras:** 50 µm.





Capítulo II

**ATIVIDADE CAMBIAL E DIFERENCIAÇÃO CELULAR EM *ALIBERTIA*
CONCOLOR (CHAM.) K. SCHUM. (RUBIACEAE)**

NATÁLIA OLIVEIRA TOTTI DE LARA¹ e CARMEN REGINA MARCATI²

RESUMO

A atividade cambial em espécies arbóreas tropicais tem sido mais recentemente estudada a fim de identificar os padrões de comportamento e estabelecer relações entre a atividade do câmbio vascular e fatores de interferência nessa atividade. Neste trabalho, analisou-se a atividade cambial e os padrões de diferenciação celular de xilema e floema secundários e sua relação com a fenologia da espécie e a temperatura e precipitação do local do estudo. Foram estudados cinco espécimes de *Alibertia concolor* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae), em seis coletas no ano de 2010, sendo o material processado usualmente para microscopia de luz. Gemas em expansão e brotação foram visualizadas em dezembro, floração em fevereiro e folhas adultas durante todo o ano, caracterizando a espécie como sempre-verde. Observou-se início da atividade cambial em dezembro, acompanhando a brotação, expansão de gemas e início das chuvas. O término da atividade cambial ocorreu ainda em período de chuva, em fevereiro. Nesse mês, ainda havia diferenciação de ambos os tecidos vasculares, xilema e floema secundários, que ainda estavam se diferenciando em abril, mas já completamente diferenciados em junho. A faixa de fibras no floema foi diferenciada no final do período de atividade do câmbio vascular, ou seja, é terminal. Esses comportamentos são relevantes no sentido de entender o desenvolvimento dos tecidos vasculares secundários em espécies de regiões secas e quentes, como é o caso do ambiente em estudo.

Palavras-chave: câmbio vascular, diferenciação celular, fenologia, tecidos vasculares.

1- Parte da dissertação da primeira autora. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, s/n, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. [E-mail: natotti@gmail.com] 2- Departamento de Recursos Naturais/Ciências Ambientais, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, CP 237, CEP 18603-970, Brasil. [E-mail: carmen@fca.unesp.br].

SUMMARY

The cambial activity in tropical tree species has been currently studied in order to identify patterns and establish relationships between the activity of cambium and factors affecting the activity. In this study, we analyzed the cambial activity and secondary xylem and phloem differentiation related to the phenology, and temperature and precipitation of the studied region. We studied five specimens of *Alibertia concolor* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae) collecting six samples in each specimen in different periods in 2010 and the material was processed for light microscopy. Expanding buds and sprouting were observed in December, flowering in February and mature leaves throughout the year as the species is an evergreen. The beginning of cambial activity was observed in December, following the sprouting, expanding buds and the first rains. The cambial activity ended in February, still rainy season. In this month, there was differentiation of cells in both vascular tissues, xylem and phloem, which continued differentiating in April, but fully differentiated in June. In the secondary phloem, the fiber bands were differentiating by the end of the period of cambium activity which means that these bands are terminal. These pathways are important in order to understand the development of secondary vascular tissues in species that grow in dry and warm regions, such as the environment where the studied species grew.

Key words: cell differentiation, phenology, vascular cambium, phenology, vascular tissues.

INTRODUÇÃO

A atividade cambial é sensivelmente influenciada por diversas variáveis, sejam elas de caráter ambiental ou fisiológico das plantas. Diversos estudos têm demonstrado que o câmbio vascular tem a habilidade de tornar-se ativo ou dormente em condições adversas e que, dessa forma, desempenha papel importante na sobrevivência de espécies arbóreas em ambientes desfavoráveis (Schrader *et al.* 2004). O ritmo da atividade cambial determina os diferentes padrões de produção dos tecidos vasculares secundários (Ajmal e Iqbal, 1987).

Os principais trabalhos referentes à atividade cambial são com espécies de regiões temperadas (ver Evert 1961, 1963; Gregory e Romberger, 1975; Farrar e Evert, 1997; Funada *et al.* 2002; Oribe *et al.* 2003; Rossi *et al.* 2006; Begum *et al.* 2010; Prislán *et al.* 2011). Em espécies arbóreas de clima temperado, a atividade cambial está geralmente relacionada à temperatura e ao comprimento do dia (Borchert 1980, 1999). Segundo o autor, as temperaturas muito baixas e sazonais nesses ambientes induzem a dormência nas gemas. Em consequência desse fenômeno, há a parada da atividade cambial até a próxima estação de crescimento (primavera), após a brotação de novas folhas (Borchert 1999).

Em ambientes tropicais, todavia, a sazonalidade pluviométrica é o fator determinante da atividade cambial. Worbes (1985), trabalhando na região Amazônica, afirma que inundações periódicas podem induzir a dormência do câmbio vascular, ao passo que a variação da precipitação menor que 60 mm, também pode induzir essa dormência. Rao e Rajput (2001) explicam que em casos de estresse hídrico há a inibição das divisões celulares por redução da pressão de turgor das células cambiais. O déficit hídrico, ainda segundo os autores, pode reduzir o crescimento das folhas, afetar o desenvolvimento do meristema apical e, por conseguinte, o fornecimento de hormônios,

gerando ao final dessa cascata de eventos, a dormência do câmbio vascular (Rao e Rajput 2001).

Kramer (1964) afirma que os requisitos mais importantes para a manutenção da atividade cambial são (i) temperatura apropriada para um nível ótimo de atividade metabólica, (ii) suprimento de carboidratos advindos dos fotoassimilados e (iii) água em nível suficiente para manter as células cambiais em condição de turgescência. Essas condições são as mesmas para todas as plantas, contudo os fatores ambientais e os processos fisiológicos são distintos entre os diferentes tipos de ambientes (Coradin 2000).

Trabalhos sobre atividade cambial em espécies do Brasil vêm aumentando com o passar do tempo, devido ao interesse em diagnosticar quais fatores interferem diretamente na atividade do câmbio vascular (Luchi 1998; Coradin 2000; Amano 2002, 2008, Angyalossy 2006; Marcati *et al.* 2006, 2008). Esses trabalhos relacionam a atividade cambial com fatores ambientais, fenologia e variáveis climáticas (temperatura e precipitação). Segundo os autores, a atividade do câmbio vascular inicia-se após a brotação de novas folhas, que geralmente vem acompanhada do início do período chuvoso.

O presente estudo teve como objetivo investigar a atividade cambial e correlacioná-la com os aspectos fenológicos da espécie e ainda com os fatores ambientais (precipitação e temperatura) da região de estudo e estudar a diferenciação celular de xilema e floema secundários.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados cinco espécimes de *Alibertia concolor* (Cham.) K. Schum. (Rubiaceae) adultos e saudáveis, localizados no Jardim Botânico da Universidade Estadual

Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP (22°53’152’’S e 48°29’938’’O). A espécie foi escolhida por apresentar camadas de crescimento bem demarcadas no lenho, importantes em estudo para acompanhamento do período de formação do marcador de crescimento. Material vegetal fértil de cada espécime foi coletado e incorporado à coleção do Herbário Dra. “Irina Delanova de Gemtchujnicov” (BOTU), do Instituto de Biociências de Botucatu, SP. As amostras do lenho foram depositadas na Xiloteca “Maria Aparecida Mourão Brasil” (BOTw) da Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA) da UNESP, Campus de Botucatu, SP.

Foi coletado o ramo mais desenvolvido da copa, a cada dois meses, durante o ano de 2010, a partir de fevereiro, totalizando seis coletas. As amostras foram retiradas de ramos por restrições ao uso de métodos destrutivos em área de reserva. Amostras retiradas da porção basal dos ramos foram fixadas em CRAF III (Sass 1958), permanecendo nesse fixador de 10 a 20 dias, com auxílio da bomba a vácuo. Fragmentos menores contendo xilema secundário, câmbio vascular e floema secundário, com cerca de 1cm³ foram retirados para desidratação em série etanólica crescente e infiltradas em historresina metacrilato. As secções transversais, longitudinais tangenciais e radiais seriadas foram obtidas com cerca de 4 a 6 µm de espessura e coradas com azul de toluidina 0,05% em tampão fosfato 4,7 (O’Brien *et al.* 1964, modificado) e montadas em água somente para observação. Os resultados obtidos foram registrados digitalmente, utilizando-se câmera Olympus acoplada a microscópio de luz Olympus.

As observações fenológicas foram realizadas quinzenalmente durante o ano de 2010, nos cinco espécimes, a partir de fevereiro. Considerou-se como as principais fenofases: brotação de folhas novas, folhas verdes novas (não completamente expandidas), folhas maduras (completamente expandidas), queda foliar, botões florais,

floração e frutificação. Essas observações foram correlacionadas com resultados de atividade cambial dos cinco espécimes do estudo. Os dados climáticos, temperatura e precipitação, do ano de 2010 e alguns meses de 2009 e 2011 foram obtidos da Estação Meteorológica da Faculdade de Ciências Agrônômicas (FCA) da UNESP, Campus de Botucatu, SP.

RESULTADOS

Aspectos fenológicos de *Alibertia concolor* (Rubiaceae) e variações de temperatura e precipitação do local de estudo

De acordo com as observações em campo, de uma forma geral, os cinco espécimes apresentaram sincronia nas fenofases observadas (Tab. 1). Os dados de temperatura e precipitação encontram-se na Fig. 1.

No mês de outubro um espécime apresentou poucas gemas intumescidas (Tab. 1, Fig.2), mas em novembro todos os espécimes apresentavam muitas gemas, diminuindo a intensidade no mês de dezembro. A brotação foi visível em todos os espécimes também a partir de novembro (Tab. 1, Fig. 3) permanecendo no mês de dezembro, mas em menor intensidade.

Em relação ao estado das folhas observou-se que as folhas novas em início de desenvolvimento estavam evidentes em todos os espécimes nos meses de novembro e dezembro de 2010 (Tab. 1, Fig. 4, 5), juntamente com a observação de gemas intumescidas e brotação.

As primeiras chuvas ocorreram nos meses de setembro e outubro (set/10 = 63 mm, out/10 = 56 mm), mas intensificaram-se nos meses de novembro e dezembro (nov/10 = 139 mm, dez/10 = 243 mm), quando observou-se muitas gemas intumescidas,

brotação e folhas novas em início de desenvolvimento e as não completamente expandidas, em todos os espécimes.

Folhas maduras (Tab. 1) foram observadas durante todo o ano de 2010, em todos os espécimes, fato que caracteriza a espécie como sempre-verde. Nos meses de abril e maio, os espécimes apresentaram folhas amareladas e senescentes, porém não houve queda significativa dessas folhas.

Os meses de maio a agosto foram os mais secos (Fig. 1), com valores menores que 60mm (mai/10 = 39,5, jun/10 = 22,8, jul/10 = 55,3), sendo agosto o mês que não choveu (0 mm).

Botões florais e floração (Fig. 6, 7) foram observados em janeiro de 2011 e poucos em fevereiro de 2010 (Tab. 1) em todos os espécimes. Não foi observada frutificação em nenhum dos espécimes depois da floração.

O pico de chuvas ocorreu no mês de janeiro (jan/10 = 351 mm, jan/11 = 712 mm) (Fig. 1). A temperatura média nos meses de setembro e outubro não variou (set/10 e out/10 = 20,6°C) aumentando nos meses de novembro e dezembro (nov/10 = 20,9°C, dez/10 = 24,4°C) e janeiro de 2011 (jan/11 = 24,5°C). A temperatura mínima mostra que agosto foi o mês mais frio (ago/10 = 12,3°C) e a temperatura máxima demonstra que fevereiro foi o mês mais quente (fev/10 = 29,4°C).

Atividade cambial e diferenciação celular

A tabela 2 mostra um resumo dos eventos ocorridos durante os períodos de coleta. O câmbio vascular estava dormente em abril (Fig 8), junho (Fig 9), agosto (Fig 10) e outubro (Fig 11), em início de atividade em dezembro (Fig 12) e término de atividade em fevereiro de 2010 (Fig 13). Independente do período, a zona cambial em *Alibertia concolor* é constituída por duas a três células iniciais dispostas radialmente,

vistas em secção transversal. Em secção longitudinal tangencial, as células iniciais fusiformes não estão alinhadas entre si, o que evidencia que o câmbio vascular é do tipo não-estratificado (Fig. 14).

Em período dormente, as células cambiais apresentaram-se expandidas, retangulares, com suas paredes radiais mais espessas do que as tangenciais, e não apresentaram divisões celulares ou mesmo paredes recém-formadas (Fig. 8-11). Foram observados campos de pontoação primária conspícuos nas paredes tangenciais das células iniciais fusiformes (Fig. 14,15) assemelhando-se a “contas de rosário”, característica que evidencia o espessamento das paredes das células iniciais (Fig. 15).

Em período de início de atividade, as células iniciais apresentaram-se mais estreitas radialmente (Fig. 12), suas paredes tangenciais tornaram-se ainda mais finas do que as radiais (Fig. 12) quando comparadas ao período de dormência.

Em período de término de atividade cambial observou-se, em secção transversal, as células iniciais cambiais completamente dormentes (Fig.16) na maioria das regiões do ramo, entretanto, algumas regiões do mesmo ramo ainda apresentavam células da zona cambial em divisão e células do xilema e do floema em diferenciação (Fig. 17).

Em abril, a zona cambial estava dormente e somente um dos espécimes (BOTU 027346) apresentou uma ou outra fibra e/ou parênquima axial imaturos junto à zona cambial (Fig. 18) e também fibras gelatinosas e alguns elementos de vaso imaturos (Fig. 19) no xilema secundário. Em secção longitudinal tangencial observou-se em vaso em diferenciação ainda com núcleo (Fig. 20) e também parede primária espessada no local da futura placa de perfuração (Fig. 21) entre dois elementos de vaso. Os outros espécimes apresentaram células xilemáticas totalmente diferenciadas (Fig. 8). Para o lado do floema secundário, também se observou células imaturas nesse período (Fig. 18).

Em junho o câmbio vascular também estava em dormência (Fig. 9). Todos os elementos celulares, de ambos os tecidos vasculares secundários, estavam diferenciados.

Em agosto e outubro os espécimes apresentaram zona cambial dormente com as mesmas características dos períodos anteriores (Fig. 10, 11). O xilema e o floema secundários neste período estavam totalmente diferenciados (Fig. 10, 11).

No mês de dezembro, o câmbio vascular estava em início de atividade e todos os espécimes apresentaram células iniciais fusiformes com paredes periclinais recém formadas muito finas (Fig. 12) quando vistas em secção transversal em comparação ao período de dormência. Foram observados também diversos tipos de alterações no núcleo das células iniciais fusiformes e radiais (Fig. 22-24). Para o lado do xilema, todos os elementos celulares estavam completamente diferenciados. Para o lado do floema secundário, observou-se elemento de tubo crivado já diferenciado, juntamente com a sua célula companheira próximos à zona cambial (Fig. 25).

Em fevereiro observou-se, em alguns espécimes, zona cambial dormente e células adjacentes totalmente diferenciadas em algumas regiões do ramo (Fig. 16), enquanto que em outras porções ainda havia zona cambial com término de atividade e poucas células em diferenciação adjacentes a essa zona cambial (Fig. 17). Nessas regiões pôde-se observar a diferenciação de elementos de vaso, fibras e parênquima axial do lado do xilema e elementos de tubo crivado, células parenquimáticas e fibras em diferenciação do lado do floema secundário (Fig. 17). Nos outros espécimes, a zona cambial estava dormente e todas as células próximas à zona cambial estavam totalmente diferenciadas.

DISCUSSÃO

O início de atividade cambial em *Alibertia concolor* foi concomitante ao período de início de chuvas, expansão de gemas e brotação de folhas novas. Embora a espécie

seja sempre-verde, existe um período de brotação marcante registrado em dezembro com queda de folhas em abril e maio. Os períodos de brotação e expansão de folhas novas possuem importante função na iniciação da atividade do câmbio vascular devido à síntese de hormônios necessários para induzir essa atividade (Lachaud 1989). Dessa forma, observou-se nos espécimes deste trabalho que a atividade cambial acompanhou aspectos fenológicos como brotação e expansão de gemas. Isso se deve ao fato de que para dar início à sua atividade o câmbio vascular necessita de um estímulo que, na maioria das vezes, é dado pela auxina produzida nas gemas em desenvolvimento. No momento em que as células do câmbio vascular iniciam sua atividade, essas células ficam mais sensíveis à auxina (Lachaud 1989). Já, a dormência cambial não pode ser atribuída a uma deficiência no nível de auxina, mas sim a uma correspondente diminuição na sensibilidade das células do câmbio vascular para este hormônio (Lachaud 1989). Esses dados concordam com outros trabalhos na literatura que relacionam fenologia e início de atividade cambial em espécies tropicais (Aljaro *et al.* 1972; Venugopal e Krishnamurthy 1987; Coradin 2000; Rao e Rajput 2001).

Com relação às chuvas, observou-se que em outubro de 2010 a precipitação ainda era pouca (56 mm), quando comparada ao mesmo período do ano anterior (142 mm). Assim, em 2010, as primeiras chuvas ocorreram só a partir de novembro e a atividade cambial teve início em dezembro junto com a brotação de folhas. Trabalhos realizados para espécies da região (Marcati 2000; Marcati *et al.* 2006; Marcati *et al.* 2008) mostram que a atividade cambial geralmente acompanha o início das chuvas, da mesma forma que foi observado neste trabalho. Segundo Borchert (1994, 1999), os processos que envolvem expansão de células, como atividade cambial e divisão celular são fortemente dependentes da água. Assim, o início das chuvas favorece o início da atividade cambial, visto que as células iniciais necessitam de teor de água

suficientemente ótimo para a manutenção do seu metabolismo. Vale ressaltar ainda que o solo da área de estudo é arenoso, com baixa retenção de água, o que sugere a necessidade das chuvas para o início da atividade cambial. Por outro lado, observou-se que não houve correlação entre o término da atividade cambial e o término de chuvas, pois a atividade cambial finalizou-se em plena estação chuvosa. Esse comportamento também foi observado em dez espécies de cerrado da região estudadas por Marcati (comunicação pessoal), ou seja, as espécies não apresentaram correlação entre o término de atividade cambial e o término de estação chuvosa, demonstrando que mesmo durante a estação de chuvas o câmbio vascular pode tornar-se dormente. Ainda, com relação às chuvas, o período de excedente hídrico visto em fevereiro foi correspondente também à floração, além de final de diferenciação das células de xilema e floema secundários. Ao longo do ano de 2010, os elementos celulares completaram seu processo de diferenciação e o câmbio vascular manteve-se em dormência.

Com relação à floração, observou-se que os espécimes em *A. concolor* apresentaram pouca ou nenhuma atividade em período reprodutivo. As plantas em fase reprodutiva têm maior consumo de atividade metabólica para a manutenção de suas flores, ao contrário, plantas em fase vegetativa têm maior quantidade de metabólitos para nutrir o tecido meristemático. Os trabalhos de Wilton e Roberts (1936) e Wilton (1938) demonstram essa situação. Os autores Chou e Chiang (1973) estudando *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) perceberam que o período de atividade cambial nessa espécie foi longo, com diminuição da atividade em período desfavorável, porém sem relação direta com a floração. Nota-se dessa forma, que nem todas as plantas apresentam pouca atividade cambial ou dormência em período reprodutivo, portanto não há relação direta entre floração e atividade cambial.

No presente trabalho, o número de células iniciais da zona cambial não variou ao longo dos períodos analisados, sendo de duas a três células iniciais. Dessa forma, comparando-se os períodos de dormência e atividade do câmbio vascular, o número de células iniciais da zona cambial não fornece informações significativas sobre sua atividade. O mesmo resultado foi encontrado por Amano (2002) em *Cordia trichotoma*, onde a autora afirma que a zona cambial não apresentou diferenças quanto ao número de camadas celulares entre o período ativo e o dormente. Marcati (comunicação pessoal) estudou dez espécies de cerrado paulista e observou o mesmo número de células na zona cambial, tanto para período dormente quanto para período ativo em todas as espécies. Porém, esse é um importante parâmetro considerado em outros trabalhos realizados, como Dave e Rao (1982), Siddiqi (1991), Farrar e Evert (1997), Rajput e Rao (1999), Marcati *et al.* (2008), Begum *et al.* (2010) e Prislán *et al.* (2011). Nestes estudos, os autores observaram variação no número de camadas de células da zona cambial de acordo com a atividade do câmbio vascular, geralmente aumentando o número de células em período ativo. É importante salientar que o número de células na zona cambial não deve ser considerado como parâmetro que indique atividade do câmbio vascular, pois essa característica varia entre as espécies, independente de estarem em atividade cambial ou não. Comparando-se o número de células na zona cambial das espécies analisadas nos estudos da literatura consultada, pode-se dizer que a zona cambial em *A. concolor* é relativamente estreita. O fato de ter sido estudado o ramo, mesmo que mais desenvolvido dos espécimes, e também uma espécie de porte relativamente pequeno pode ter sido a razão por haver zona cambial assim estreita.

Em todos os espécimes de *A. concolor*, a dormência do câmbio vascular é facilmente identificada com suas células retangulares, expandidas e com paredes espessas e ainda aspecto de “contas de rosário”. O câmbio vascular dormente, segundo

Coradin (2000), é mais organizado que o câmbio vascular ativo, sendo mais fácil definir seus limites. Conforme Evert (2006), as células do câmbio vascular dormente são caracterizadas pela densidade de seus protoplastos e pela espessura de suas paredes, mais notavelmente das suas paredes radiais, que tem uma aparência de contas quando vistas nas secções tangenciais. Esta aparência de “contas de rosário”, segundo Evert (2006), revela que a parede está se espessando e entre este espessamento há campos de pontuação primária em depressões. Em secções longitudinais tangenciais em *A. concolor*, observou-se claramente a presença de “contas de rosário”, indicando a dormência do câmbio vascular nos meses de abril a outubro.

Nesse estudo, observou-se que em diferentes porções dos ramos coletados em dezembro, em todos os espécimes, o câmbio vascular já estava ativo. O início de atividade cambial foi evidente, marcado pela visualização de paredes periclinais recém-formadas, muito finas, ausência da aparência de “contas de rosário” e núcleos proeminentes. Apesar de Evert (2006) afirmar que somente a presença de figuras mitóticas e/ou fragmoplastos pode seguramente indicar a atividade do câmbio vascular, Fahn e Werker (1990) por sua vez, comentam que a espessura da parede e o diâmetro radial das células da zona cambial também são critérios para indicar dormência ou atividade cambial. Essas características foram as que ofereceram melhores condições na identificação da atividade cambial na espécie do presente trabalho. Mesmo encontrando dormência cambial em algumas partes do ramo, ficou evidente o início da atividade cambial no mês de dezembro, visto que todos os espécimes apresentaram início de atividade do câmbio vascular nesse período.

Em estudo com dez espécies de cerrado realizado por Coradin (2000), a autora comenta os diferentes tipos de ritmos na atividade cambial nessas espécies, pois nem sempre os marcadores de crescimento são anuais, eles podem também serem formados a

cada dois anos ou mais. Durante o ano de 2010 não foi observada a formação da faixa parenquimática no xilema secundário nos espécimes analisados, isto é, nesse ano não houve a formação do marcador de crescimento nestes espécimes. Dessa forma, não foi possível determinar se a faixa parenquimática é terminal ou inicial.

Já, as fibras do floema aparecem em diferenciação em fevereiro, ainda com as paredes expandindo-se e se espessando, como também observado em *Cedrela fissilis* (Angyalossy 2006). Neste trabalho, observou-se que a faixa de fibras é o marcador de crescimento no floema, sua diferenciação e maturação ocorrem no floema condutor, caracterizando-as como fibras verdadeiras do floema. Essa característica foi observada igualmente por Evert (1963) e Angyalossy (2006). O fato de as fibras estarem se diferenciando no final do período de atividade cambial, em fevereiro, indica que as faixas de fibras do floema secundário são terminais.

Observou-se que a diferenciação das células do xilema secundário ocorreu no mesmo período que a diferenciação das células do floema secundário, sendo o período de fevereiro a abril o término de diferenciação das células nos dois tecidos. O final da diferenciação das células do xilema secundário concomitante ao final da diferenciação das células do floema secundário já foi descrito em alguns trabalhos, como os de Artschwager (1950), Derr e Evert (1967) e Davis e Evert (1968). É possível que pelo fato da diferenciação de xilema e floema secundários ter ocorrido concomitantemente, os tecidos vasculares secundários da espécie tenham apresentado um paralelo entre suas características anatômicas, conforme visto no Capítulo I.

O padrão de diferenciação dos vasos em *A. concolor* é semelhante a outras angiospermas (Butterfield 1995; Marcati *et al.* 2006, 2008). Elementos de vaso com paredes finas e irregulares em secção transversal ainda com presença de núcleo e espessamento da parede primária no local de ocorrência de futura placa de perfuração

simples antes da total deposição da parede secundária em secção tangencial foram observados neste trabalho. Em final de diferenciação, as paredes laterais dos vasos apresentam deposição de parede secundária, percebendo-se já as pontoações intervasculares, porém as porções de parede primária que posteriormente serão perfuradas não são recobertas pela parede secundária (Esau 1965). Após a deposição de parede secundária nas paredes laterais, a célula sofre autólise, afetando seu protoplasto e partes da parede não compreendidas pela camada lignificada, que podem ser porções das pontoações intervasculares e a parede primária no local da futura placa de perfuração entre os elementos de vaso. Com o início da perda do protoplasto, há o rompimento da membrana do vacúolo que libera enzimas hidrolíticas capazes de degradar os componentes não-celulósicos da parede primária espessada que desaparece como um todo (Evert 2006). Segundo Esau (1965), os remanescentes do protoplasto morto formam um revestimento ao longo das paredes dos elementos traqueais.

No presente estudo, a diferenciação do floema secundário foi observada através do aspecto irregular de elementos de tubo crivado, células companheiras e fibras em secção transversal, próximas à zona cambial. A diferenciação das células floemáticas envolve uma série de eventos citológicos ímpares (Esau 1974). Nos elementos de tubo crivado em desenvolvimento, nota-se proteína-P não dispersa, chamada de “corpos de proteína-P” (Angyalossy 2006). Segundo a autora, na maioria das angiospermas essa proteína-P dispersa durante a diferenciação dos elementos crivados. Neste trabalho, não foi possível visualizar essa fase de desenvolvimento, pois foi observada proteína-P somente próxima à placa crivada, em secções longitudinais. Esse acúmulo de proteína-P também foi observado em *Cedrela fissilis* e *Citharexylum myrianthum* (Angyalossy 2006).

Em resumo, a atividade cambial nos ramos de *Alibertia concolor* foi curta, com dormência entre 9 a 10 meses, sendo o início da atividade relacionado ao início das chuvas; o término da atividade cambial não foi relacionado ao término do período de chuvas, mas terminou antes, em pleno período chuvoso; a diferenciação celular foi concomitante no xilema e floema secundários ocorrendo de fevereiro a abril; as faixas de fibras do floema secundário são terminais.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado da primeira autora.

Referências

- Ajmal, S.; Iqbal, M. 1987. Annual rhythm of cambial activity in *Strebulus asper*. IAWA Bull. 8 (3): 275--283.
- Aljaro, M. E.; Avila, G.; Hoffman, A.; Kummerow, J. 1972. The annual rhythm of cambial activity in two woody species of the Chilean "Matorral". Am. J. Bot. 59 (9): 879--885.
- Amano, E. 2002. Sazonalidade da atividade cambial em *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex. Steud. Boraginaceae. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Botânica). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Amano, E. 2008. Sazonalidade da atividade cambial de Pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae). Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Botânica). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Angyalossy, V. 2006. O floema secundário em espécies arbóreas. Livre-docência (Departamento de Botânica). Universidade de São Paulo.
- Artschwager, E. 1950. The time factor in the differentiation of secondary xylem and phloem in pecan. Am. J. Bot. 37 (1): 15--24.
- Begum, S.; Nakaba, S.; Oribe, Y.; Kubo, T.; Funada, R. 2010. Cambial sensitivity to rising temperatures by natural condition and artificial heating from late winter to early spring in the evergreen conifer *Cryptomeria japonica*. Trees 24: 43--52.
- Borchert, R. 1980. Phenology and ecophysiology of tropical trees: *Erythrina poeppigiana* O. F. Cook. Ecology 61 (5): 1065--1074.
- Borchert, R. 1994. Water status and development of tropical trees during seasonal drought. Trees 8: 115--125.
- Borchert, R. 1999. Climatic periodicity, phenology and cambial activity in tropical dry forest trees. IAWA J 20 (3): 239--247.

- Butterfield, B. G. 1995. Vessel element differentiation. *In*: Iqbal, M. (ed). The cambial derivatives. Gerb. Borntraeger, Berlin, 93--106.
- Chou, T.; Chiang, S, T. 1973. Seasonal changes of cambial activity in the young branch of *Psidium guajava* L. *Taiw* 18: 35--41.
- Coradin, V. T. R 2000. Formação de anéis de crescimento e sazonalidade cambial em dez espécies lenhosas do Cerrado. Tese (Doutorado em Ecologia). Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal.
- Dave, Y. S.; Rao, K. S. 1982. Seasonal activity of the vascular cambium in *Gmelina arborea* Roxb. *IAWA Bull.* 3 (1): 59--65.
- Davis, J. D.; Evert, R. F. 1968. Seasonal development of the secondary phloem in *Populus tremuloides*. *Bot. Gaz.* 129 (1): 1--8.
- Derr, W. F.; Evert, R. F. 1967. The cambium and seasonal development of the phloem in *Robinia pseudoacacia*. *Am. J. Bot.* 54 (2): 147--153.
- Esau, K. 1965. *Plant Anatomy*. John Wiley and Sons, New York.
- Esau, K. 1974. *Anatomia das plantas com sementes*. Edgar Blücher, São Paulo.
- Evert, R. F. 1961. Some aspects of cambial development in *Pyrus communis* L. *Am. J. Bot* 48: 479--488.
- Evert, R. F. 1963. The cambium and seasonal development of the phloem in *Pyrus malus*. *Am. J. Bot* 50: 149--159.
- Evert, R. F. 2006. *Esau's Plant Anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body: their structure, function and development*. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Fahn, A.; Werker, E. 1990. Seasonal cambial activity. *In*: The vascular cambium (M. Iqbal, ed.). Research Studies Press Ltd., England, p.139--157.
- Farrar, J. J.; Evert, R. F. 1997. Seasonal changes in the ultrastructure of the vascular cambium of *Robinia pseudoacacia*. *Trees* 11: 191--202.

- Funada, R.; Kubo, T.; Sugiyama, T.; Fusitani, M. 2002. Changes in levels of endogenous plant hormones in cambial regions of stems of *Larix kaempferi* at the onset of cambial activity in springtime. *J. Wood Sci.* 48: 75--80.
- Gregory, R. A.; Romberger, J. A. 1975. Cambial activity and height of uniseriate vascular rays in conifers. *Bot. Gaz.* 136 (3): 246--253.
- Kramer, P. J. 1964. The role of water in wood formation. In: Zimmermann, M. H. 1964 (ed.). *The formation of Wood in Forest trees*. Academic Press, New York.
- Lachaud, S. 1989. Participation of auxin and abscisic acid in the regulation of seasonal variations in cambial activity and xylogenesis. *Trees* 3: 125--137.
- Luchi, A. 1998. Periodicidade de crescimento em *Hymenaea courbaril* L. e anatomia ecológica do lenho de espécies de mata ciliar. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Marcati, C. R. 2000. Sazonalidade cambial em espécies tropicais. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Marcati, C. R.; Milanez, C. R. D.; Machado, S. R. 2008. Seasonal development of secondary xylem and phloem in *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Leguminosae: Caesalpinioideae). *Trees* 22: 3--12.
- O'Brien, T. P.; Feder, N.; McCully, M.; E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59, 368--373.
- Oribe, Y.; Funada, R.; Kubo, T. 2003. Relationships between cambial activity, cell differentiation and the localization of starch in storage tissues around the cambium in locally heated stems of *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. *Trees* 17: 185--192.
- Prislan, P.; Schimtt, U.; Koch, G.; Gricar, J.; Cufar, K. 2011. Seasonal ultrastructural changes in the cambial zone of beech (*Fagus sylvatica*) grown at two different altitudes. *IAWA J.* 32 (4): 443--459.

- Rajput, K. S.; Rao, K. S. 1999. Structural and developmental studies on cambial variant in *Pupalia lappacea* (Amaranthaceae). *Ann. Bot. Fennici* 36: 137--141.
- Rao, K. S.; Rajput, K. S. 2001. Relationship between seasonal cambial activity, development of xylem and phenology in *Azadirachta indica* growing in different forests of Gujarat State. *Ann For Sci* 58: 691--698.
- Rossi, S.; Deslauriers, A.; Anfodillo, T. 2006. Assessment of cambial activity and xilogenesis by microsampling tree species: an example at the alpine timberline. *IAWA J.* 27 (4): 383--394.
- Sass, J. E. 1958. *Botanical microtechnique*. Ed. 3. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.
- Schrader, J.; Moyle, R.; Bhalerao, R.; Hertzberg, M.; Lundeberg, J.; Nilsson, P.; Bhalerao, R. P. 2004. Cambial meristem dormancy in trees involves extensive remodelling of the transcriptome. *The Plant Journal* 40: 173--187.
- Siddiqi, T. O. 1991. Impact of seasonal variation on the structure and activity of vascular cambium in *Ficus religiosa*. *IAWA Bull.* 12 (2): 177--185.
- Venugopal, N.; Krishnamurthy, K. V. 1987. Seasonal production of secondary xylem in the twigs of certain tropical trees. *IAWA Bull.* 8 (1): 31--40.
- Wilton, O. C.; Roberts, R. H. 1936. Anatomical structure of stems in relation to the production of flowers. *Bot Gaz* 98: 45--64.
- Wilton, O. C. 1938. Correlation of cambial activity with flowering and regeneration. *Bot Gaz* 99: 854--864.
- Worbes, M. 1985. Structural and other adaptations to long-term flooding by trees in central Amazonia. *Amazoniana* 9: 459--484.

Tabela 1 -- Dados fenológicos dos cinco espécimes analisados no período de fevereiro de 2010 a janeiro de 2011. • = gemas intumescidas; ♣ = brotação; ▲ = folhas verdes novas (não completamente expandidas); ▲ = folhas maduras (completamente expandidas); ▼ = folhas senescentes; ⚙ = botões florais; ⚙ = floração. ↓ = coletas. Símbolo duplicado refere-se a maior intensidade do estado fenológico.

		2010												2011		
Meses		F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J			
Espécimes		↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓			
BOTU 027342	⚙	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	♣	▲	⚙
BOTU 027343	⚙	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	♣	♣	▲	♣	▲	⚙
BOTU 027344	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	♣	♣	▲	♣	▲	⚙
BOTU027345	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	♣	♣	▲	♣	▲	⚙
BOTU 027346	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	▲	♣	♣	▲	♣	▲	⚙

Tabela 2 -- Dados climáticos da área de coleta, aspectos fenológicos, atividade cambial e diferenciação celular nos períodos analisados no ano de 2010. **TA** = término de atividade, **D**= dormente, **IA**= início de atividade, **Xd**= xilema secundário em diferenciação, **X**= xilema secundário diferenciado, **Fd**= floema secundário em diferenciação, **F**= floema secundário diferenciado.

Meses de coleta	Fevereiro	Abril	Junho	Agosto	Outubro	Dezembro
Fenologia	Folhas maduras					Folhas maduras
	Botões florais	Folhas adultas e senescentes	Folhas maduras	Folhas maduras	Folhas maduras	Folhas verdes novas
	Floração					Gemas
						Brotação
Pluviosidade (mm)	179,9	71,7	22,8	0,0	56,1	243,16
Temperatura mínima (°C)	20,1	17,1	12,4	12,3	13,4	18,3
Temperatura máxima (°C)	29,4	26,3	25,5	27,5	27,7	28,7
Temperatura média (°C)	21,9	21,7	18,5	19,9	15,4	23,7
Atividade do câmbio vascular	TA D		----- D -----			IA
Diferenciação do xilema secundário	X Xd	X Xd	X	X	X	X
Diferenciação do floema secundário	F Fd	F Fd	F	F	F	F

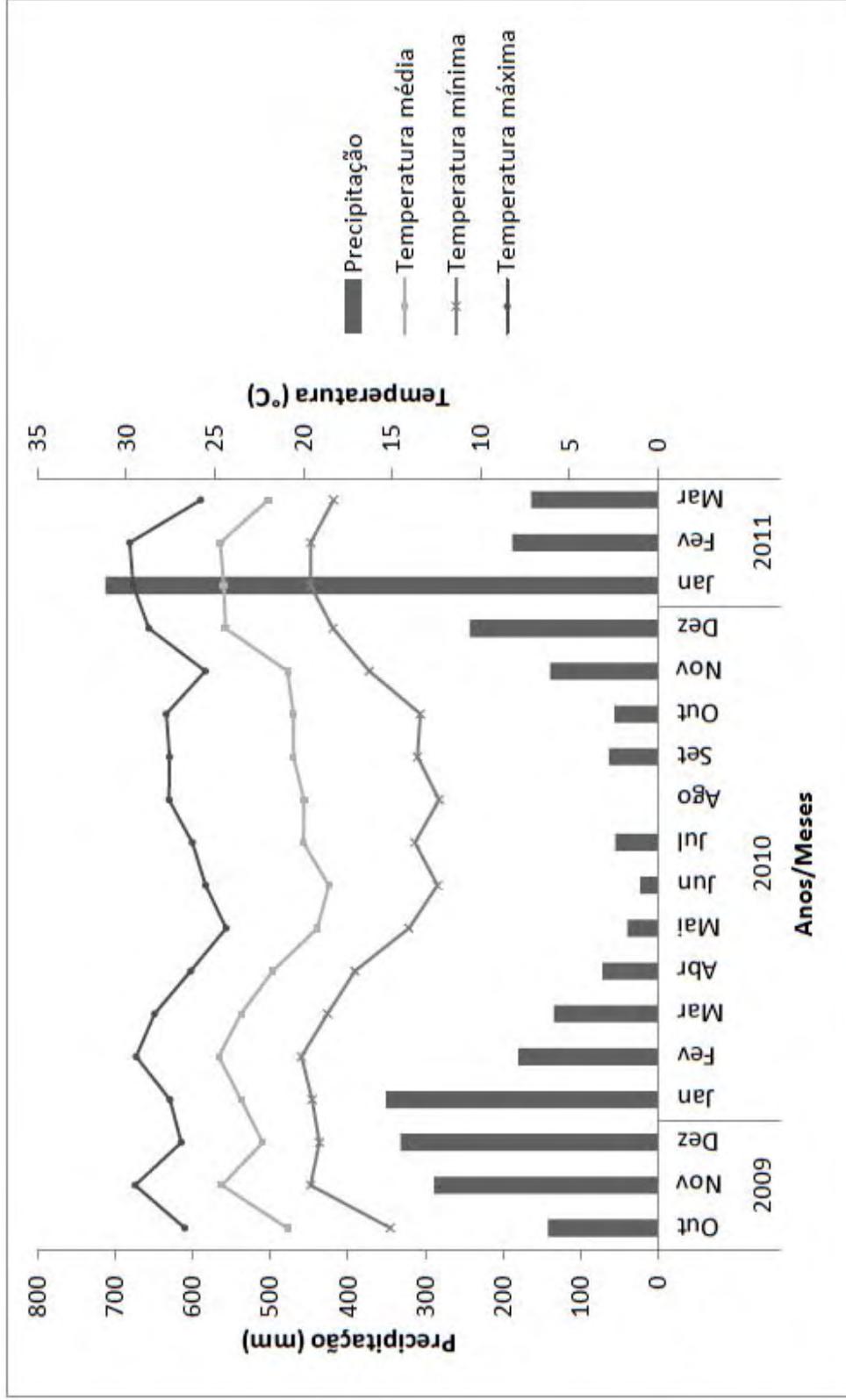


Fig. 1 -- Dados de temperatura e precipitação para a cidade de Botucatu, SP nos anos de 2009, 2010 e 2011.

Fig. 2--7: *Alibertia concolor*. -- **2:** Gema intumescida (seta) não completamente expandida. -- **3:** Brotação de folhas novas (seta) em BOTw 2224. -- **4:** Folhas novas não completamente expandidas em início de desenvolvimento em BOTw 2224. -- **5:** Folhas maduras expandidas em BOTw 2225. -- **6:** Botões florais em BOTw 2224. -- **7:** Floração em BOTw 2226.



Fig. 8--11. Aspectos gerais em secções transversais de xilema secundário, zona cambial e floema secundário nos períodos de dormência do câmbio vascular em 2010. -- **8:** Abril (BOTU 027344). -- **9:** Junho (BOTU 027345). -- **10:** Agosto (BOTU 027346). -- **11:** Outubro (BOTU 027344). **Zc=** zona cambial. **X=** xilema secundário. **F=** floema secundário. -- **Barras:** 50µm.

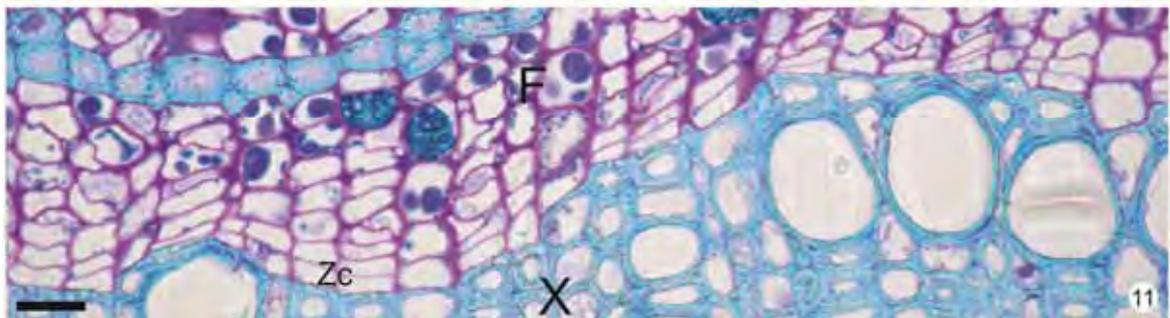
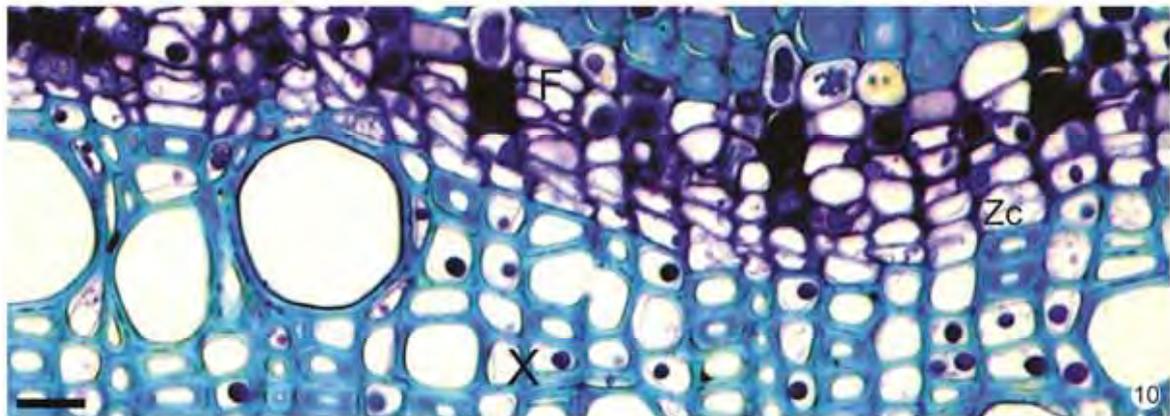
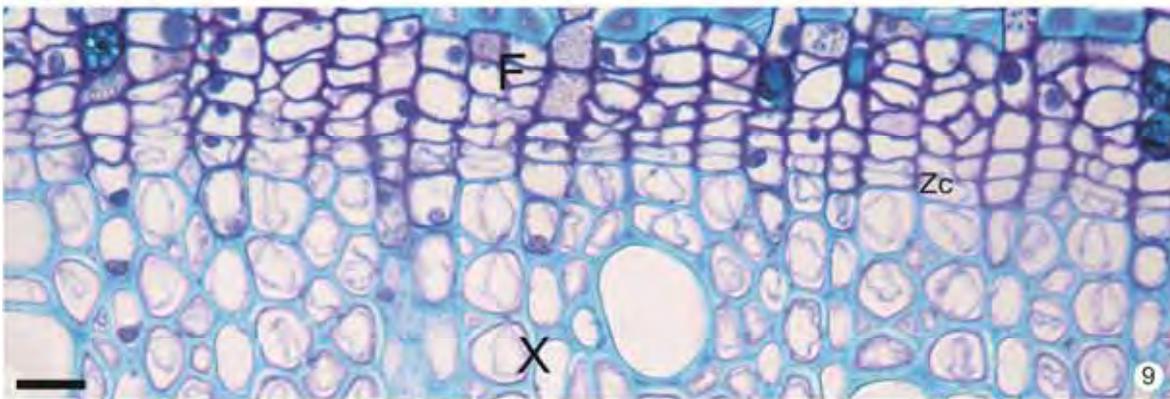
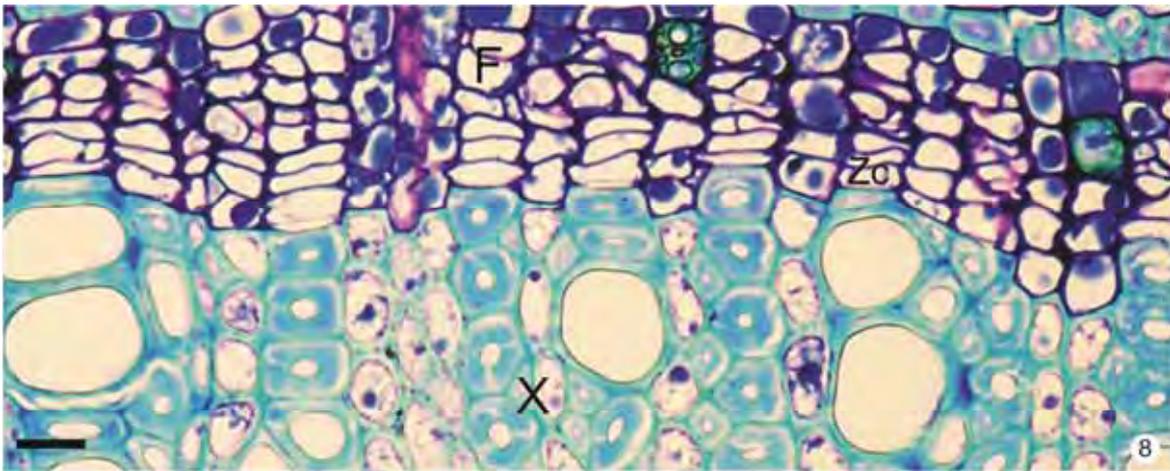


Fig. 12--15. Características de diferentes etapas da atividade cambial. -- **12, 13:** Secções transversais. -- **12:** Início de atividade em dezembro no espécime BOTU 027342. Setas apontam para as paredes tangenciais recém-formadas finas das iniciais fusiformes. A zona cambial nesse período, quando comparada com o período de dormência, evidencia início de atividade cambial. -- **13:** Término de atividade em fevereiro no espécime BOTU 027346. Setas apontam para paredes finas das iniciais fusiformes. -- **14, 15:** Secções longitudinais tangenciais em BOTU 027344. -- **14:** Aspecto do câmbio vascular não estratificado. -- **15:** Campos de pontoação primária (setas), indicando espessamento da parede da inicial fusiforme em período de dormência do câmbio vascular. -- **Barras:** **12, 13:** 20 μm . **14:** 100 μm . **15:** 50 μm .

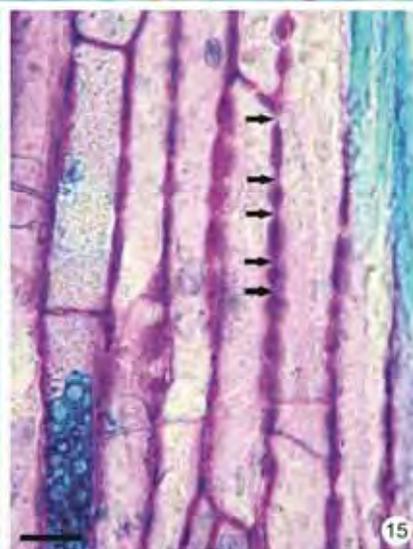
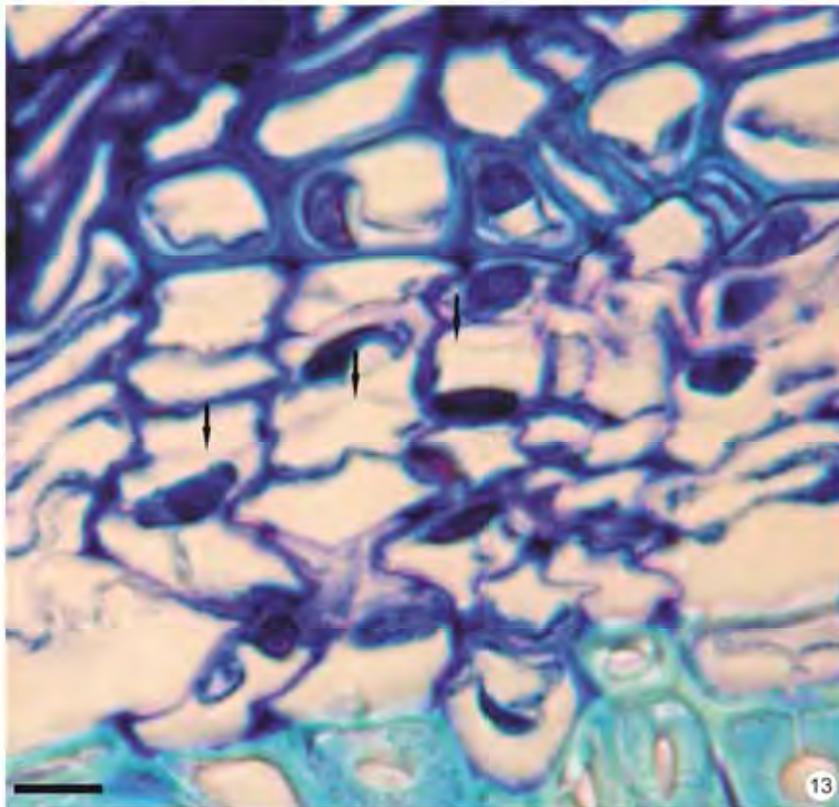
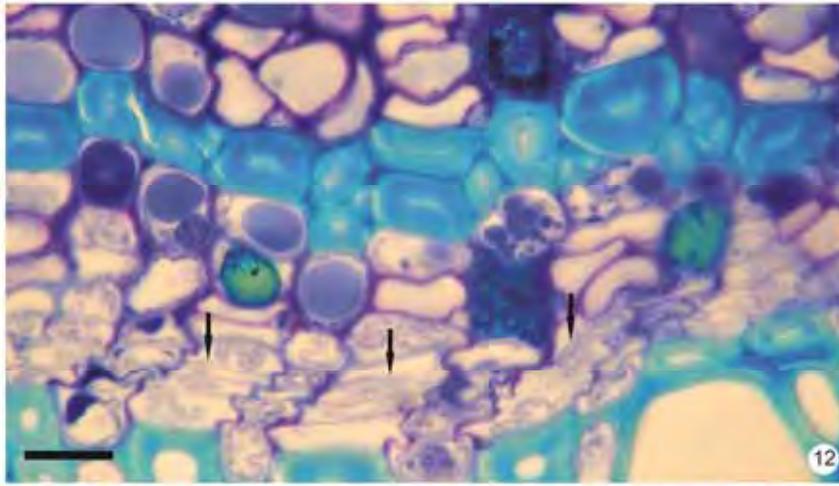


Fig. 16-21. Períodos de fevereiro e abril. -- **16-19:** Secções transversais. -- **20, 21:** Secções longitudinais tangenciais. -- **16:** Dormência do câmbio vascular evidenciada em um lado do ramo do espécime BOTU 027346 em fevereiro. -- **17:** No mesmo espécime BOTU 027346, em outra parte do ramo, o câmbio vascular ainda permanece ativo (setas). Nota-se ainda que, nesses mesmos locais que ainda estão ativos está ocorrendo a diferenciação de vasos e fibras do xilema secundário e também diferenciação de células do lado do floema secundário. -- **18:** Câmbio vascular dormente em abril. Observa-se diferenciação de vasos, fibras e/ou parênquima axial (*). Seta branca aponta elemento de tubo crivado e célula companheira imaturas para o lado do floema em BOTw 2226. -- **19:** Células em diferenciação (*) no mês de abril em BOTw 2228. -- **20:** Vaso adjacente à zona cambial, ainda com presença de núcleo em seu interior, com parede secundária sendo depositada, no período de abril em BOTw 2228. -- **21:** Intumescimento da região de futura placa de perfuração simples (seta) entre dois elementos de vaso em final de diferenciação em BOTw 2228. **Zc** = zona cambial. **X**= xilema secundário. **F**= floema secundário. **Evd**= elemento de vaso em diferenciação. **Fi** = fibra. **Fid**= fibra em diferenciação. **Nu**= núcleo. -- **Barras:** **16:** 50 µm. **17:** 100 µm. **18-21:** 50 µm.

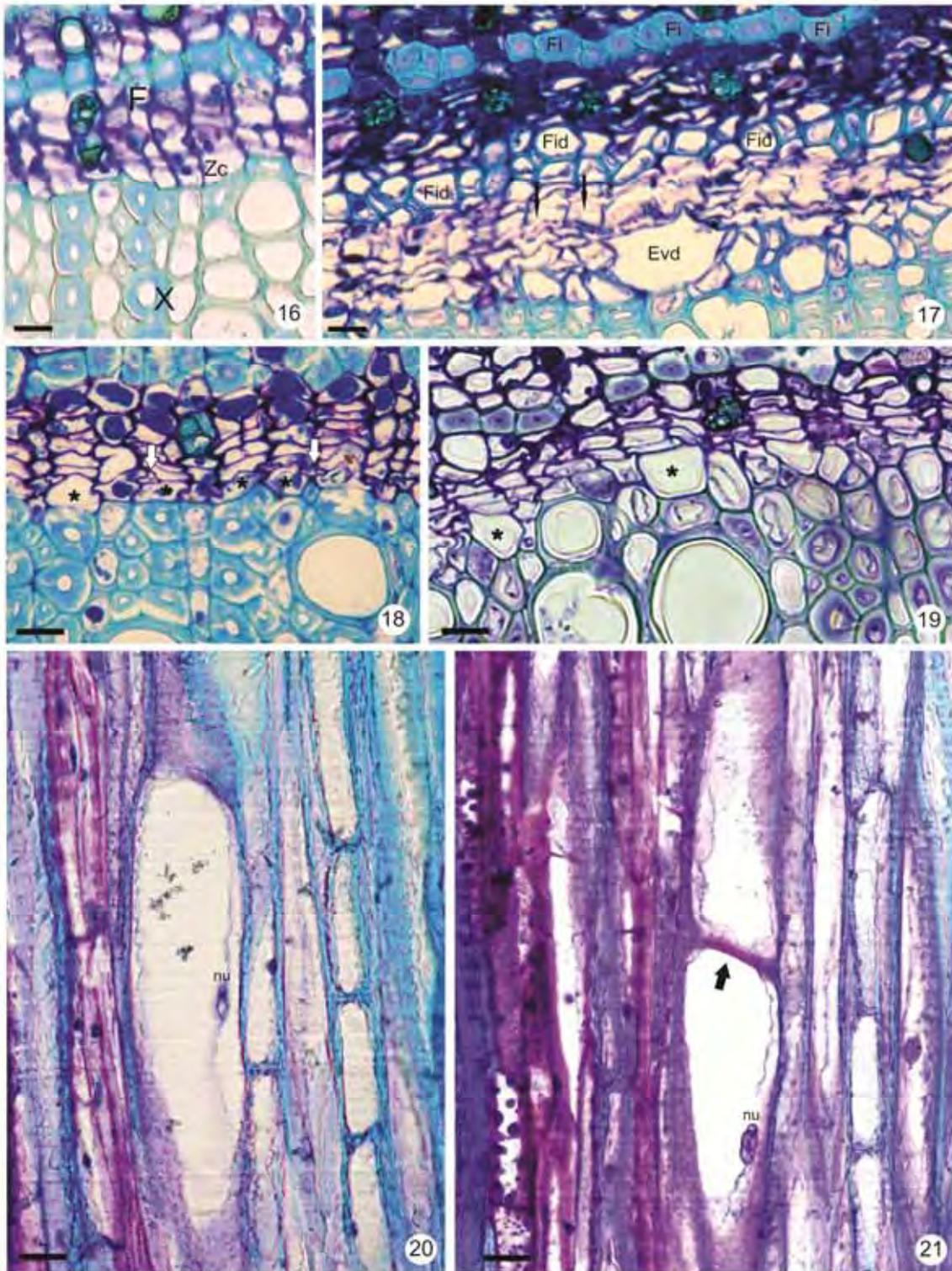
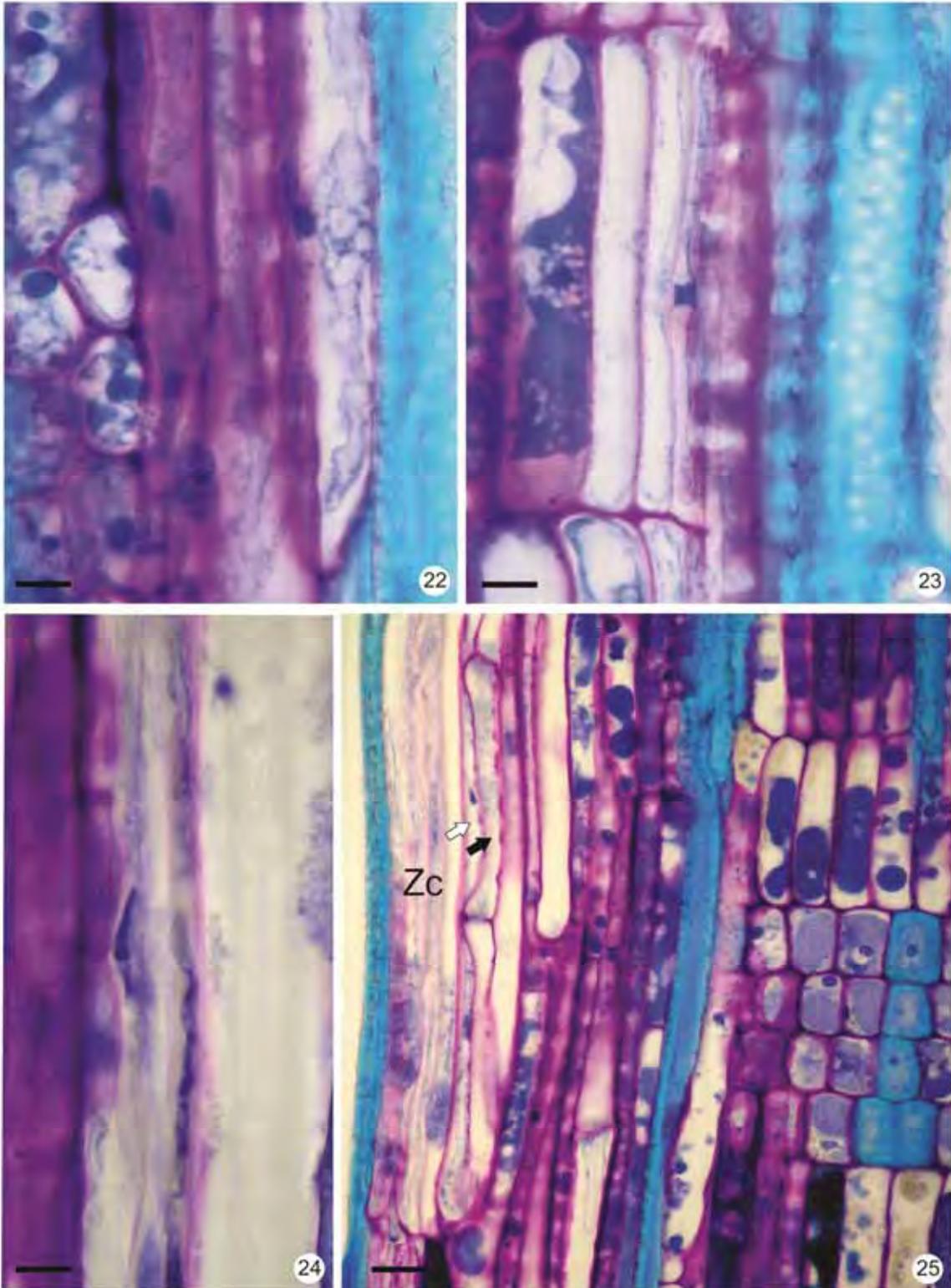
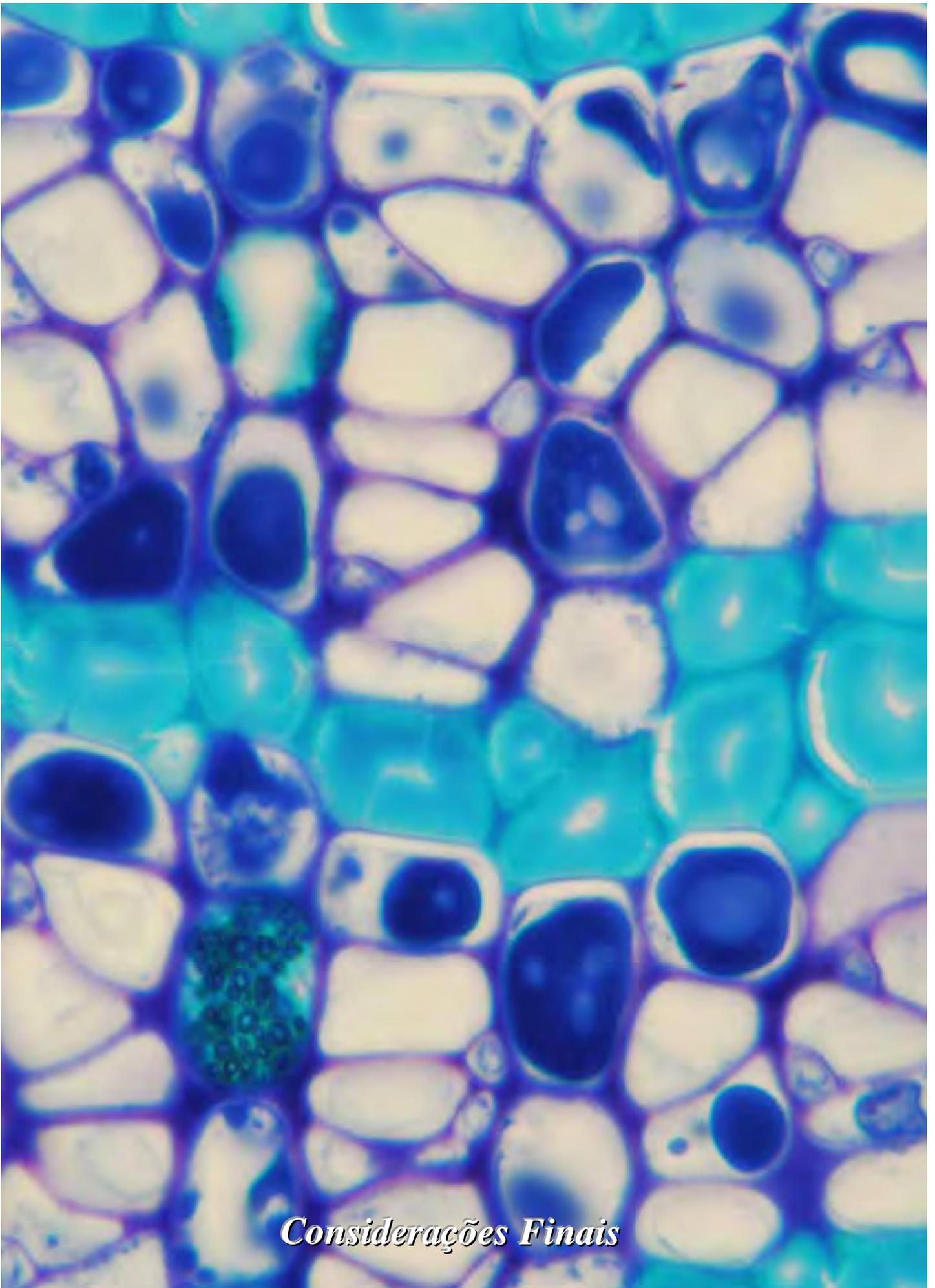


Fig. 22--25. Período de dezembro de 2010. Secções longitudinais radiais. -- **22-24:** Alterações do núcleo das células iniciais fusiformes em período de início de atividade cambial no espécime BOTw 2224. -- **25:** Paredes finas das células iniciais na zona cambial e elemento de tubo crivado recém-diferenciado (seta preta) e célula companheira (seta branca) adjacentes à zona cambial em BOTw 2228. **Zc**= zona cambial. -
- **Barras:** 20 μ m.





Considerações Finais

Considerações Finais

A estrutura anatômica do xilema e floema secundários apresentou paralelo em suas características: elementos de vaso com placa de perfuração simples e elementos de tubo crivado com placas crivadas simples; camadas de crescimento são demarcadas por faixas marginais de parênquima axial no xilema secundário e por faixas tangenciais de fibras no floema secundário; predomínio de raios uni e bisseriados nos dois tecidos. Essa analogia entre os tecidos vasculares secundários é levada pouco em consideração nos trabalhos já realizados com outras espécies e este trabalho mostra a importância de se estudar os dois tecidos vasculares secundários juntos, para melhor compreensão do sistema vascular das espécies arbóreas.

O período de atividade cambial nos ramos de *Alibertia concolor* foi curto no ano de 2010, pois a dormência cambial iniciou em fevereiro e o início da atividade cambial foi observada apenas em dezembro.

O início da atividade do câmbio vascular na espécie estudada está relacionado principalmente à precipitação (início das chuvas), bem como à brotação e expansão de gemas. Por outro lado, o término de atividade cambial ocorreu em plena estação chuvosa, portanto não há relação entre o término da atividade cambial e término do período chuvoso, tampouco relação entre atividade cambial e floração.

A diferenciação dos tecidos vasculares (xilema e floema secundários) foi sincronizada, ou seja, aconteceu simultaneamente. A faixa de fibras no floema secundário estava se diferenciando no final do período de atividade cambial o que indica ser faixa terminal de fibras.

Os resultados obtidos neste trabalho de um ano de coleta (2010) não permitiram esclarecer o período de formação da faixa parenquimática do xilema secundário. Este trabalho constitui o primeiro relato sobre o floema secundário da espécie e abre novas

possibilidades ao estudo estrutural como base para o entendimento da formação dos tecidos vasculares em espécies arbóreas tropicais.



Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

ABBE, L. B.; CRAFTS, A. S. Phloem of white pine and other coniferous species. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 100, n. 4, p. 695-722, 1939.

AJMAL, S.; IQBAL, M. Annual rhythm of cambial activity in *Streblus asper*. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 8, n. 3, p. 275-283, 1987.

ALONI, R. Role of cytokinin in differentiation of secondary xylem fibers. **Plant physiology**, Waterbury, v. 70, p. 1631-1633, 1982.

ALONI, R., BAUM, S. F., PETERSON, C. The role of cytokinin in sieve tube regeneration and callose production in wounded *Coleus* internodes. **Plant physiology**, Waterbury, v. 93, p. 982-989, 1990.

ALONI, R. The control of vascular differentiation. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 153, p. 90-92, 1992.

ANGYALOSSY, V. **O floema secundário em espécies arbóreas**. 2006. 184f. Livredocência (Departamento de Botânica) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

ANGYALOSSY, V.; MARCATI, C. R. Câmbio. In: APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. 2006. **Anatomia Vegetal**. Viçosa: Editora UFV, 2006, 430p.

AMANO, E. **Sazonalidade da atividade cambial em *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab ex. Steud Boraginaceae**. 2002. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Botânica) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

AMANO, E. **Sazonalidade da atividade cambial de Pau-brasil (*Caesalpineaechinata* Lam., Leguminosae)**. 2008. 101f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Botânica) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

APG III. The Angiosperm Phylogeny Group: An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 161, n. 2, 105-121, 2009.

ARBEX, Y. R. **O Orquidário do Jardim Botânico, IBB/UNESP: guia ilustrado**. 2008. 18f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2008.

ARCHER, R. H.; VAN WYK, A. E. Bark structure and intergeneric relationships of some southern African Cassinoidae (Celastraceae). **IAWA Journal**, Leuven, v. 14, n. 1, p. 35-53, 1993.

ARTSCHWAGER, E. The time factor in the differentiation of secondary xylem and phloem in pecan. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 37, n. 1, p. 15-24, 1950.

BAILEY, I. W. The cambium and its derivative tissues. II. Size variations of cambial initials in gymnosperms and angiosperms. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 7, n. 9, p. 305-354, 1920.

BARROS, C. F.; CALLADO, C. H.; MARCON, M. L.; COSTA, C. G.; CUNHA, M.; LIMA, H. R. P.; MARQUETE, O. **Madeiras da Mata Atlântica: anatomia do lenho de espécies ocorrentes nos remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro – Brasil**. Volume II. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas do Rio de Janeiro, 2001a, 94 p.

BARROS, C. F.; CALLADO, C. H.; CUNHA, M.; FERREIRA, M. L. M; TAMAIO, N.; MARQUETE, O.; COSTA, C. G. **Madeiras da Mata Atlântica: anatomia do lenho de espécies ocorrentes nos remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro – Brasil**. Volume III. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas do Rio de Janeiro, 2001b, 103 p.

BARREIRO, D. P. **Coléteres dendróides em *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum. (Rubiaceae)**. 2006. 80f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual Paulista 'Julio de Mesquita Filho'. Botucatu, 2006.

BARREIRO, D. P.; MACHADO, S. R. Coléteres dendróides em *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum., uma espécie não-nodulada de Rubiaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 387-399, 2007.

BEGUM, S.; NAKABA, S.; ORIBE, Y.; KUBO, T.; FUNADA, R. Cambial sensitivity to rising temperatures by natural condition and artificial heating from late winter to early spring in the evergreen conifer *Cryptomeria japonica*. **Trees**, Berlin, v. 24, p. 43-52, 2010.

BHAT, K. M. Anatomy, basic density and shrinkage of birch bark. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 3, n. 3-4, p. 207-212, 1982.

BOLZANI, V. S.; TREVISAN, L. M. V.; YOUNG, C. M. Caffeic acid esters and triterpenes of *Alibertia macrophylla*. **Phytochemistry**, Ontario, v. 30, n. 6, p. 2089-2091, 1991.

BORCHERT, R. Phenology and ecophysiology of tropical trees: *Erythrina poeppigiana* O. F. Cook. **Ecology**, Nova York, v. 61, n. 5, p. 1065-1074, 1980.

BORCHERT, R. Climatic periodicity, phenology and cambial activity in tropical dry forest trees. **IAWA Journal**, Leuven, v. 20, n. 3, p. 239-247, 1999.

BREMER, B.; JANSEN, R. K. Comparative restriction site mapping of chloroplast DNA implies new phylogenetic relationships within Rubiaceae. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 78, p. 198-213, 1991.

BREMER, B.; ANDREASSEN, K.; OLSSON, D. Subfamilial and tribal relationships in the Rubiaceae based on rbcL sequence data. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Missouri, v. 82, p. 383-397, 1995.

BREMER, B.; ERIKSON, T. Time tree of Rubiaceae: phylogeny and dating family, subfamilies and tribes. **International Journal of Plant Science**, Chicago, v. 170, n. 6, p. 766-793, 2009.

BROCHINI, C. B.; MARTINS, D.; ROQUE, N. F.; BOLZANI, V. S. An oleanane acid from *Alibertia edulis*. **Phytochemistry**, Ontario, v. 36, n. 5, p. 1293-1295, 1994.

CALLADO, C. H.; SILVA NETO, S. J. Anatomia do lenho de três espécies do gênero *Simira* Aubl. (Rubiaceae) da Floresta Atlântica no estado do Rio de Janeiro. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v. 54, n. 83, p. 23-33, 2003.

CARLQUIST, S. Wood and bark anatomy of Empetraceae; comments on paedomorphosis in woods of certain small shrubs. **Aliso**, Claremont, v. 12, p. 497-515, 1989.

CARLQUIST, S. Wood and bark anatomy of the New World species of *Ephedra*. **Aliso**, Claremont, v. 12, n. 3, p. 441-483, 1990.

CARLQUIST, S. Wood and bark anatomy of *Ticodendron*: comments on relationship. **Annual Missouri Botanical Garden**, Missouri, v. 78, p. 96-104, 1991.

CARLQUIST, S. Wood and bark anatomy of Aristolochiaceae: systematic and habitat correlations. **IAWA Journal**, Leuven, v. 14, n. 4, p. 341-357, 1993.

CARLQUIST, S. Wood and bark anatomy of the African species of *Gnetum*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 118, n. 2, p. 123-137, 1995.

CARLQUIST, S. Wood, bark and stem anatomy of Gnetales: a summary. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 157, n. 6, p. 58-76, 1996.

CARLQUIST, S. Wood and bark anatomy of Schisandraceae: implications for phylogeny, habit and vessel evolution. **Aliso**, Claremont, v. 18, n. 1, p. 45-55, 1999.

CARLQUIST, S. Wood and bark anatomy of Muntingiaceae: A phylogenetic comparison within Malvales s. l. **Brittonia**, Nova York, v. 57, n. 1, p. 59-67, 2005.

CARLQUIST, S. Wood and bark anatomy of lianoid Indomalaysian and Asiatic species of *Gnetum*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 121, n. 1, p. 1-24, 2008.

CATESSON, A. Cambial ultrastructure and biochemistry: changes in relation to vascular tissue differentiation and the seasonal cycle. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 155, n. 3, p. 251-261, 1994.

CHAN, L. L. The anatomy of bark of *Libocedrus* in New Zealand. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 6, n. 1, p. 23-34, 1985.

CHAN, L. L. The anatomy of the bark of *Agathis* in New Zealand. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 7, n. 3, p. 229-241, 1986.

CHAVAN, R. R.; SHAH, J. J.; PATEL, K. R. Isolated sieve tubes elements in the barks of some angiosperms. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 4, n. 4, p. 255-263, 1983.

CHIQUEIRI, A., DI MAIO, F. R.; PEIXOTO, A. L. A distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss. na Flora Brasiliensis de Martius. **Rodriguesia**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 84, p. 47-57, 2004.

CHRYSLER, M. A. Vascular tissues of *Microcycas calocoma*. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 82, n. 3, p. 233-252, 1926.

COELHO, V. P. M.; LEITE, J. P. V.; NUNES, L. G.; VENTRELLA, M. C. Anatomy, histochemistry and phytochemical profile of leaf and stem bark of *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae). **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v. 60, p. 49-60, 2012.

CONSOLARO, H. N. **A distília em espécies de Rubiaceae do Bioma Cerrado**. 2008. 115f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

CORADIN, V. T. R. **Formação de anéis de crescimento e sazonalidade cambial em dez espécies lenhosas do Cerrado**. 2000. 124f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2000.

CORREA, A. M. **Estudo cromossômico em espécies de Rubiaceae (A. L. de Jussieu) de Cerrado**. 2003. 69f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

COSTA, C. G.; CALLADO, C. H.; CORADIN, V. T. R.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. Xilema. In: APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia Vegetal**. Viçosa: Editora UFV, 2006, 430p.

CUMBIE, B. G. Developmental changes in the vascular cambium of *Polygonum lapathifolium*. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 56, n. 2, p. 139-146, 1969a.

CUMBIE, B. G. Developmental changes in the xylem and vascular cambium of *Apocynum sibiricum*. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, Columbia, v. 96, n. 6, p. 629-640, 1969b.

CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, Botucatu, v. 14, p. 1-11, 2009.

CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal** – parte II. Órgãos, experimentos e interpretação. São Paulo: Roca, 1987, 336 p.

DAVIS, J. D.; EVERT, R. F. Seasonal development of the secondary phloem in *Populus tremuloides*. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 129, n. 1, p. 1-8, 1968.

DELPRETE, P. G. Rondeletieae (Rubiaceae). **Flora Neotropica**. Monograph 77. New York: The New York Botanical Garden Press Bronx, 1999, 229 p.

DERR, W. F.; EVERT, R. F. The cambium and seasonal development of the phloem in *Robinia pseudoacacia*. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 54, n. 2, p. 147-153, 1967.

DESHPANDE, B. P. **Initiation of cambial activity and its relation to primary growth in *Tilia americana* L.** 1967. 59f. Thesis (Doctor of Philosophy) - University of Wisconsin, Madison. 1967.

DONGHUA, L.; XINZENG, G. Comparative anatomy of the secondary phloem of ten species of Rosaceae. **IAWA Journal**, Leuven, v. 14, n. 3, p. 289-298, 1993.

ESAU, K. **Plant Anatomy**. New York: John Wiley and Sons, 1965, 767 p.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Edgar Blücher, 1974, 276p.

EVERT, R. F. Phloem structure in *Pyrus communis* L. and its seasonal changes. **University California Publication Botanical**, Berkeley, v. 32, p. 127-194, 1960.

EVERT, R. F. Some aspects of cambial development in *Pyrus communis* L. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 48, p. 479-488, 1961.

EVERT, R. F. The cambium and seasonal development of the phloem in *Pyrus malus*. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 50, p. 149-159, 1963.

EVERT, R. F. **Esau's Plant Anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body: their structure, function and development**. 3 ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006, 601 p.

EWERS F. W., ALONI, R. Effects of applied auxin and gibberellin on phloem and xylem production in needle leaves of *Pinus*. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 146, p. 466-471, 1985.

FAHN, A. **Plant anatomy**. 4 ed. New York: Pergamon Press, 1990. 588p.

FARRAR, J. J.; EVERT, R. F. Seasonal changes in the ultrastructure of the vascular cambium of *Robinia pseudoacacia*. **Trees**, Berlin, v. 11, p. 191-202, 1997.

FRANKSTEIN, C.; ECKSTEIN, D.; SCHMITT, U. The onset of cambium activity – A matter of agreement? **Dendrochronologia**, Bimensdorf, v. 23, 57-62, 2005.

FURUNO, T. Bark structure of deciduous broad-leaves trees grown in the San'in Region, Japan. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 11, n. 3, p. 239-254, 1990.

GALHEGO, A. A. **Levantamento florístico da vegetação natural do Jardim Botânico do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Campus Botucatu/Botucatu**. 1998. 109f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1998.

GALWAY, M. E.; MCCULLY, M. E. The time course of the induction of callose in wounded pea roots. **Protoplasma**, Wien, v. 139, p. 77-91, 1987.

GÓMEZ-VAZQUEZ, B. G.; ENGLEMAN, E. M. Bark anatomy of *Bursera longipes* (Rose) Standley and *Bursera copallifera* (Sessé & Moc.) Bullock. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 5, n. 4, p. 335-340, 1984.

GREGORY, R. A.; ROMBERGER, J. A. Cambial activity and height of uniseriate vascular rays in conifers. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 136, n. 3, p. 246-253, 1975.

HALL, J. W. The phloem of *Heterangium americanum*. **American Midland Naturalist**, Notre Dame, v. 47, n. 3, p. 763-768, 1952.

HEMENWAY, A. Studies on the phloem of the dicotyledons. I. Phloem of the Juglandaceae. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 51, n. 2, p. 131-135, 1911.

HUGHES, J. E.; GUNNING, B. E. S. Glutaraldehyde-induced deposition of callose. **Canadian Journal of Botany**, Guelph, v. 58, p. 250-258, 1980.

IQBAL, M.; JURA-MORAWIEC, J.; WLOCH, W.; MAHMOODUZZAFAR, M. Foliar characteristics, cambial activity and wood formation in *Azadirachta indica* A. Juss. as affected by coal–smoke pollution. **Flora**, Würzburg, v. 205, p. 61-71, 2009.

IAWA COMMITTEE (International Association of Wood Anatomists Committee). List of microscopic features for hardwood identification. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 10, p. 219-332, 1989.

JANSEN, S.; ROBBRECHT, E.; BEECHMAN, H.; Smets, E. A survey of the systematic wood anatomy of the Rubiaceae. **IAWA Journal**, Leuven, v. 23, n. 1, p. 1-67, 2002.

JORGE, L. A. B.; MOREIRA, M. P. Padrões de fragmentação do habitat na Cuesta de Botucatu (SP). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 10, p. 141-157, 2000.

JORGE, T. C. M. **Estudo químico e farmacológico de duas espécies da família Rubiaceae: *Cephalanthus glabratus* e *Palicourea crocea***. 2005. 247f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, 612 p.

KARLSSON, M. **Molecular factors involved in the formation of secondary vascular tissues and lignification in higher plants**. 2003. 47f. Thesis (Doctorate in Plant Physiology) - Swedish University of Agricultural Sciences. Umea, 2003.

KENRICK, P.; CRANE, P. R. The origin and early evolution of plants on land. **Nature**, London, v. 389, n. 4, p. 33-39, 1997.

KOEK-NOORMAN, J. A contribution to the wood anatomy of South American (chiefly Suriname) Rubiaceae. I. **Acta Botanica Neerlandica**, Utrecht, v. 18, n. 1, p. 108-123. 1969a.

KOEK-NOORMAN, J. A contribution to the wood anatomy of South American (chiefly Suriname) Rubiaceae. II. **Acta Botanica Neerlandica**, Utrecht, v. 18, n. 2, p. 377-395. 1969b.

KOEK-NOORMAN, J. A contribution to the wood anatomy of Cinchoneae, Coptosapelteae and Naucleaeae (Rubiaceae). **Acta Botanica Neerlandica**, Utrecht, v. 19, n. 2, p. 154-164. 1970.

KOEK-NOORMAN, J. The wood anatomy of Gardeniaae, Ixoreae and Mussaendeae (Rubiaceae). **Acta Botanica Neerlandica**, Utrecht, v. 21, n. 3, p. 301-320, 1972.

KOEK-NOORMAN, J. The wood anatomy of Vanguerieae, Cinchoneae, Condamineae and Rondeletieae (Rubiaceae). **Acta Botanica Neerlandica**, Utrecht, v. 23, n. 5-6, p. 627-653, 1974.

KÖEPPEN, W. **Climatologia**. México: Fondo de Cultura Económica, 1948, 317 p.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Editora da Universidade Rural do Rio de Janeiro, 1997. 195p.

LACHAUD, S.; CATESSON, M.; BONNEMAIN, J. L. Structure and functions of the vascular cambium. **Comptes rendus de l'Académie des sciences**. Série III, Sciences de la vie, Paris, v. 322, p. 633-50, 1999.

LARSON, P. R. **The vascular cambium: development and structure**. New York: Springer-Verlag, 1994, 400p.

LEV-YADUN, S.; ALONI, R. Differentiation of the ray system in woody plants. **Botanical Review**, Nova York, v. 61, n. 1, p. 45-84, 1995.

LINDORF, H. Bark and wood anatomy of *Uncaria guianensis* and *Uncaria tomentosa* ("cat's claw"). **IAWA Journal**, Leuven, v. 26, n. 2, p. 239-251, 2005.

LISI, C. S. **Estudo dendrocronológico e da biomassa de carbono em anéis de crescimento do tronco de árvores de Mata Atlântica**. Relatório. Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2007, 27 p.

LUCIANO, J. H. S.; LIMA, M. A. S.; SOUZA, E. B.; SILVEIRA, E. R. Chemical constituents of *Alibertia myrciifolia* Spruce ex K. Schum. **Biochemical Systematics and Ecology**, Edinburgo, v. 32, p. 1227-1229, 2004.

LUCIANO, J. H. S.; LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R. Antifungal iridoids, triterpenes and phenol compounds from *Alibertia myrciifolia* Sprunge ex. Schum. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 292-294, 2010.

LUCHI, A. **Periodicidade de crescimento em *Hymenaea courbaril* L. e anatomia ecológica do lenho de espécies de mata ciliar**. 1998. 236f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 1998.

MABBERLEY, D. J. **The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997, 858p.

MAJUNDER, S. K.; LEOPOLD, C. Callose formation in response to low temperature. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 8, p. 775-778, 1967.

MARCATI, C. R. **Sazonalidade cambial em espécies tropicais**. 2000. 147f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

MARCATI, C. R.; OLIVEIRA, J. S.; MACHADO, S. R. Growth rings in cerrado woody species: occurrence and anatomical markers. **Biota Neotropica**, São Paulo, v. 6, n. 3, p. 1-31, 2006.

MARTINÉZ-CABRERA, D.; TERRAZAS, T.; OCHOTERENA, H.; LÓPEZ-MATA, L. Bark and wood anatomy of the tribe Hamelieae (Rubiaceae). **IAWA Journal**, Leuven, v. 31, n. 4, p. 425-442, 2010.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 1950, 806p.

MOLL, J. W.; JANSSONIUS, H. H. **Mikrographie des Holzes der auf Java vorkommenden Baumarten**. Leiden: IV. E. J. Brill, 1926, 569 p.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.; E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma**, Wien, v. 59, p. 368-373, 1964.

OLEA, R. S. G.; ROQUE, N. F.; BOLZANI, V. S. Acylated flavonol glycosides and terpenoids from the leaves of *Alibertia sessilis*. **Journal Brazilian Chemistry Society**, São Paulo, v. 8, n. 3, p. 257-259, 1997.

OLIVEIRA, J. B.; CAMARGO, M. N.; ROSSI, M.; CALDERAN FILHO, M. **Mapa pedológico do estado de São Paulo**. Campinas: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1999.

ORIBE, Y.; FUNADA, R.; KUBO, T. Relationships between cambial activity, cell differentiation and the localization of starch in storage tissues around the cambium in locally heated stems of *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. **Trees**, Berlin, v. 17, p. 185-192, 2003.

PARAMESWARAN, N.; CONRAD, H. Wood and bark anatomy of *Balanites aegyptiaca* in relation to ecology and taxonomy. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 3, n. 2, p. 75-88, 1982.

PEREIRA, M. S.; BARBOSA, M. R. V. A família Rubiaceae na Reserva Biológica Guariba, Paraíba, Brasil. Subfamílias Antirheoideae, Cinchonoideae e Ixoroideae. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 18, n. 2, p. 305-318, 2004.

PEREIRA, G. F. **A família Rubiaceae Juss. na vegetação ripária de um trecho do alto rio Paraná, Brasil, com ênfase na tribo Spermaceae**. 2007. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2007.

PHELPS, J. E.; ISEBRANDS, J. G.; TECLAW, R. M. Raw material quality of short-rotation, intensively cultured *Populus clones*. II. Wood and bark from first-rotation stems and stems grown from coppice. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 8, n. 2, p. 182-186, 1987.

PRISLAN, P.; SCHIMTT, U.; KOCH, G.; GRICAR, J.; CUFAR, K. Seasonal ultrastructural changes in the cambial zone of beech (*Fagus sylvatica*) grown at two different altitudes. **IAWA Journal**, Leuven, v. 32, n. 4, p. 443-459, 2011.

RAJPUT, K. S.; RAO, K. S. Structural and developmental studies on cambial variant in *Pupalia lappacea* (Amaranthaceae). **Annales Botanici Fennici**, Helsinki, v. 36, p. 137-141, 1999.

RAJPUT, K. S.; RAO, K. S. Secondary growth in the stem of some species of *Alternanthera* and *Achyranthes aspera* (Amaranthaceae). **IAWA Journal**, Leuven, v. 21, n. 4, p. 417-424, 2000.

RAJPUT, K. S.; RAO, K. S. Cambial variants and xylem structure in the stem of *Cocculus hirsutus* (Menispermaceae). **IAWA Journal**, Leuven, v. 24, n. 4, p. 411-420, 2003.

RAO, K. S.; DAVE, Y. S. Ultrastructure of active and dormant cambial cells in teak (*Tectona grandis* L.) **New Physiologist**, Lancaster, v. 93, p. 447-456, 1983.

RAO, K. S.; RAJPUT, K. S. Seasonal behavior of vascular cambium in teak (*Tectona grandis*) growing in moist deciduous and dry deciduous forests. **IAWA Journal**, Leuven, v. 20, n. 1, p. 85-93, 1999.

RAO, K. S.; RAJPUT, K. S. Relationship between seasonal cambial activity, development of xylem and phenology in *Azadirachta indica* growing in different forests of Gujarat State. **Annals of Forest Sciences**, Champenoux, v. 58, p. 691-698, 2001.

RICHTER, H. G. Wood and bark anatomy of Lauraceae. II. *Licaria* Aublet. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 6, n. 3, p. 187-199, 1985.

RICHTER, H. G.; VAN WYK, A. E. Wood and bark anatomy of Lauraceae. IV. *Dahlgrenodendron* J.J.M. Van Der Merwe & Van Wyk. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 11, n. 2, p. 173-182, 1990.

ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Belgica**, Boechout Domain, v. 1, p. 1-271, 1988.

ROBERTS, A. G.; OPARKA, K. J. Plasmodesmata and the control of symplastic transport. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 26, p. 103-124, 2003.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do Cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, p. 102-123, 2001.

ROTH, I. **Structural patterns of tropical barks**. Berlin: Gebrüder Borntraeger. 1981, 589 p.

SAMISH, R. M. Dormancy in woody plants. **Annual Review Plant Physiology**, Stanford, v. 5, p. 183-204, 1954.

SCHUMANN, K. M. Rubiaceae. In: MARTIUS, C. F. P.; EICHLER, A. W.; URBAN, I. **Flora Brasiliensis**, São Paulo, v. 6, n. 6, 1889, 466 p.

SHAH, J. J.; NAIR, G. M.; KOTHARI, I. L. Ultrastructural changes in the gum-resin ducts of the bark of *Commiphora wightii* (Arnott) Bhandari induced by mechanical injury. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 3 n. 3-4, p. 185-192, 1982.

SILVA, V. C.; SILVAB, G. H.; BOLZANI, V. S.; LOPES, M. N. Isolation of lignans glycosides from *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum. (Rubiaceae) by preparative high-performance liquid chromatography. **Eclética Química**, Araraquara, v. 31, n. 4, p. 55-58, 2006.

SILVA, V. C.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; LOPES, M. N. A new antifungal phenolic glycoside derivative, iridoids and lignans from *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum. (Rubiaceae). **Journal Brazilian Chemistry Society**, São Paulo, v. 18, n. 7, p. 1405-1409, 2007.

SILVA, I. D. D.; ARAGÃO, C. F. S. Avaliação de parâmetros de extração da *Cinchona* Vahl por métodos farmacopéicos e não farmacopéicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 19, n. 3, p. 776-780, 2009.

SILVA, G. C.; RABELO, G. R.; CUNHA, M. Anatomia do lenho de *Alseis pickelli* Pilger et Shmale (Rubiaceae) na Estação Ecológica de Guaxindiba (Mata do Carvão), Rio de Janeiro. **Anais. II CONFICT - Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica**, Rio de Janeiro, 2010.

SILVA, I. C. **Caracterização fisionômica de fragmentos vegetacionais do distrito de Rubião Júnior, município de Botucatu, São Paulo**. 2010. 117f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2010.

SITBON, F.; EKLÖF, S.; RINDING, R. T.; SANDBERG, G.; OLSSON, O.; LITTLE, C. H. A. Patterns of protein synthesis in the cambial region of Scots pine shoots during reactivation. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 87, p. 601-608, 1993.

SOUZA, V.; C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Plantarum, 2005, 640 p.

SONSIN, J. **Variações estruturais do lenho de espécies de cerrado do estado de São Paulo**. 2006. 135f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2006.

SONSIN, J. **Anatomia da madeira de espécies de cerrado sensu lato do estado de São Paulo**. 2010. 161f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal). Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, Botucatu, 2010.

SPIRANDELLI-CRUZ, E. F. Anfíbios anuros de remanescentes de mata atlântica na região de Botucatu. In: UIEDA, W; PALEARI, L. M. (org). **Flora e Fauna: um dossiê ambiental**. São Paulo: Editora UNESP, 2004, 91-98p.

TOMAZELLO FILHO, M., LISI, C. S.; HANSEN, N.; CURY, G. Anatomical features of increment zones in different tree species in the State of São Paulo, Brazil. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 66, p. 46-55, 2004.

TROKENBRODT, M.; PARAMESWARAN, N. A contribution to the taxonomy of the genus *Inga* Scop. (Mimosaceae) based on the anatomy of the secondary phloem. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 7, n. 1, 62-71, 1986.

VERDCOURT, B. Remarks on the classification of the Rubiaceae. **Bulletin du Jardin botanique de l'Etat**, Bruxelles, v. 28, n. 3, p. 209-290, 1958.

VENUGOPAL, N.; LIANGKUWANG, M. G. Cambial activity and annual rhythm of xylem production of elephant apple tree (*Dillenia indica* Linn.) in relation to phenology and climatic factor growing in sub-tropical wet forest of northeast India. **Trees**, Berlin, v. 21, p. 101-110, 2007.

VETTER, R. E.; BOTOSSO, P. C. Remarks on age and growth rate determination of Amazonian trees. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 10, n. 2, p. 133-145. 1989.

WANI, B. A.; KHAN, A. Effect of cement dust pollution on the vascular cambium of *Juglans regia* (L.). **Journal of Ecology and the Natural Environment**, India, v. 2, n. 10, p. 225-229, 2010.

WORBES, M. Structural and other adaptations to long-term flooding by trees in central Amazonia. **Amazoniana**, Manaus, v. 9, p. 459-484, 1985.

WORBES, M. Growth rings, increment and age of trees in inundation forests, savannas and a mountain forest in the neotropics. **IAWA Bulletin**, Utrecht, v. 10, n. 2, p. 109-122, 1989.

YOUNG, M. C. M.; BRAGA, M. R.; DIETRICH, S. M. C.; GOTTLIEB, H. E.; TREVISAN, L. M. V.; BOLZANI, V. S. Fungitoxic non-glycosidic iridoids from *Alibertia macrophylla*. **Phytochemistry**, Ontario, v. 31, n. 10, p. 3433-3435, 1992.