

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

Sandra Heliany Obando Polo

Estrutura e Desenvolvimento de Sementes de
***Paullinia* L. (Sapindaceae)**

Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas
para obtenção do Título de Mestre em
Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Maria Carmello-Guerreiro

Co-Orientador: Ph.D. Pedro Acevedo-Rodríguez

Campinas, Agosto de 2006

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

P766e

Polo, Sandra Heliany Obando
Estrutura e desenvolvimento de sementes de *Paullinia* L.
(Sapindaceae) / Sandra Heliany Obando Polo. -- Campinas,
SP: [s.n.], 2006.

Orientadora: Sandra Maria Carmello-Guerreiro.
Co-orientador: Pedro Acevedo-Rodríguez.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Sapindaceae. 2. *Paullinia*. 3. Envoltório seminal.
4. Sementes - Anatomia. 5. Ontogenia I. Carmello-
Guerreiro, Sandra Maria. II. Acevedo-Rodríguez, Pedro.
III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Biologia. IV. Título.

(scs/ib)

Título em inglês: Seed structure and development of *Paullinia* L. (Sapindaceae).

Palavras-chave em inglês: Sapindaceae; *Paullinia*; Seed coat; Seeds – Anatomy; Ontogeny.

Área de concentração: Biologia Vegetal.

Titulação: Mestre em Biologia Vegetal.

Banca examinadora: Sandra Maria Carmello-Guerreiro, Adelita Aparecida Sartori Paoli, Ana Paula Santos Gonçalves.

Data da defesa: 01/08/2006.

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal.

Campinas, 01 de agosto de 2006

BANCA EXAMINADORA:

Profª. Drª. Sandra Maria Carmello-Guerreiro



Profª. Drª. Adelita Aparecida Sartori Paoli



Drª. Ana Paula Santos Gonçalves



Profª. Drª. Marília de Moraes Castro

Profª. Drª. Solange Cristina Mazzoni-Viveiros

"La verdad de las cosas no son las cosas mismas, sino como nos acercamos a ellas"
[F. Pessoa.]

*A mis amados padres, Carmen y Sigifredo,
Su ejemplo constante de amor, esfuerzo, paciencia
y honestidad son mi mayor tesoro.
Gracias por las alas y la complicidad,
A ustedes debo todo lo que soy y todos
los frutos – logros les pertenecen.*

*A mis queridas hermanas, Nataly y Diana,
Mis siempre amigas, mi constante apoyo.*

*A mi princesa Sara,
su existencia amorosa ilumina nuestras vidas
de alegría, ternura y novedad.*

Agradecimentos

Este logro não seria possível sem o apoio, estímulo e generosidade de diversas instituições e inúmeras pessoas, da minha amada terra Colômbia, do meu Brasil querido de sempre e da minha entranhável América Latina.

Agradeço profundamente a todos os científicos, professores, familiares, colegas, amigos, e as pessoas que permanecem sempre por perto. Todos vocês de alguma maneira têm contribuído e formado parte deste processo iniciado vários anos atrás. Muito obrigada pela ajuda dia a dia na exploração do caminho da Botânica como uma opção para o entendimento da vida.

Agradeço à Red Latinoamericana de Botánica (RLB) e ao Comitê Científico pela bolsa de mestrado (ref. RLB-04-M1) e pela bolsa de auxílio parcial de tese outorgadas para o desenvolvimento da pesquisa e da minha formação de Mestrado.

Agradeço ao Departamento de Botânica e ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas pelas facilidades, recursos e infra-estrutura concedidas para desenvolver os estudos de Pós-graduação.

À minha querida Profa. Dra. Sandra Maria Carmello – Guerreiro, com o afeto e o agradecimento mais profundo ao possibilitar o início de uma nova fase da minha vida. Sempre serei grata ao aceite receptivo desde o primeiro contato para iniciar os estudos de pós-graduação no Laboratório da Anatomia Vegetal. Pela orientação no Mestrado e nas diferentes fases da pesquisa. Pelas sugestões, correções e comentários para melhoras do manuscrito. Pela transmissão dos valiosos conhecimentos na área da morfo-anatomia de frutos e sementes e da anatomia vegetal. Agradeço seu interesse, confiança e incentivos permanentes para qualificar minha formação acadêmica. Principalmente sou grata por brindar sua constante e valiosa amizade. Seu apoio, firmeza, generosidade e sinceridade no aspecto pessoal e acadêmico sempre facilitaram minha estadia no Brasil.

Ao Dr. Pedro Acevedo – Rodríguez meu mais sincero agradecimento, quem desde a primeira mensagem de contato me alentou ao estudo das Sapindáceas e dos frutos e sementes, e tal vez sem sabê-lo, seu exemplo e seus agradáveis e interessantes comentários sempre foram motivos para persistir na vocação botânica. Muito obrigada pelo envio de material bibliográfico e as sugestões e troca de idéias para desenvolver a pesquisa. Pela co-orientação, discussões e aportes valiosos à tese de Mestrado. Pela amizade, alta qualidade humana e sensibilidade. Por compartilhar tranqüilamente seus conhecimentos da família Sapindaceae, das plantas e diversos assuntos da vida.

Meu agradecimento especial à MSc. Susana Maldonado Curti, Diretora Executiva da RLB, pelo desempenho de excelência desenvolvido na Rede e pela amabilidade e atenção oportunas na resolução das dúvidas e diversos assuntos relacionados com o convênio e contrato emanados da bolsa da RLB.

Tamashiro, Kikyô Yamamoto, Luíza Kinoshita, Maria do Carmo Amaral, Marlies Sazima, Pedro Luís Rodrigues de Moraes, Volker Bittrich e Washington Marcondes.

Agradeço ao técnico do Laboratório de Anatomia Vegetal Sebastião Henrique Militão Jr. (Tião) pelos ensinamentos e disposição nas atividades do laboratório. Pelo atendimento gentil aos requerimentos necessários para o desenvolvimento do trabalho prático no laboratório.

Ao meu amigo Shesterson Aguiar, especial agradecimento pela amizade e por transmitir muita alegria. Pela ajuda e apoio tão vitais na fase final do Mestrado. Pelas brincadeiras, pelos ensinamentos na área da anatomia vegetal e de frutos e sementes, pelas conversas da vida e de diversas questões serias e não tão serias.

A minha amiga querida Fabiana Firetti, pela amizade, solidariedade e sua grande generosidade. Agradeço sempre sua honestidade e carinho, especialmente sua linda companhia desde o início do mestrado.

Aos amigos e colegas Juan Urdampilleta e Itayguara Ribeiro pela agradável companhia e apoio nas saídas de campo, na coleta de material e nas diversas atividades no laboratório. Pelo material fotográfico dos frutos de algumas espécies de Paullinia.

Agradecimento especial ao colega e amigo João Aranha pela registro fotográfico das sementes de Paullinia e sua paciência e generosidade na edição das fotografias.

Ao meu amigo e colega Jose Eduardo Meirelles (Dudu), meu agradecimento sincero pela amizade, companhia carismática e divertida. Pelas conversas cheias de alegria e inteligência. Pela sua disposição e colaboração sempre incondicional nos diversos aspectos acadêmicos.

A minha amiga Catia Urbanetz, agradeço sua atitude sempre receptiva, carinhosa e amigável. Pelas dicas, conversas e apoio sincero.

Agradecimento ao pessoal administrativo da Secretaria e Coordenação da Pós-graduação em Biologia Vegetal. Especialmente agradeço a Maria Roseli pela amabilidade, eficiência e atitude prestativa no desempenho das funções. Também agradeço a Silvia, Nilvana e Regane pela ajuda oferecidas nos diferentes momentos.

Agradeço ao corpo técnico administrativo do departamento de Botânica. Sua labor e disposição permitiram o melhor desenvolvimento dos estudos e da pesquisa: Maria Lúcia, Gastão, Iara, João Carlos, Ana Lúcia, Renato, Wilson, Dona Zulmira.

Meu agradecimento especial aos amigos e colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal, pela receptividade e acolhida desde o início. Muito obrigada! pela paciência, companheirismo, respeito. Pelas dicas e discussões de anatomia, pelos ensinamentos nos diversos temas de biologia vegetal,

e especialmente pela amizade sincera, pela ajuda, as conversas serias e as engraçadas também, a convivência tranqüila e alegre no laboratório: Ana Cristina Aguiar, Ana Paula Lacchia, Carolina Scatolin, Diego Demarco, Gláucia Morelli Alves, Priscila Cortez, Fabiano Martins, Fabiano Scarpa, Isabel Barroso, Poliana Cardoso, Raquel Antunes, Rosina Muto Marasca, Shesterson Aguiar e Tânia Watanabe.

Agradeço também aos amigos e colegas da Botânica por oferecer sempre de maneira aberta seus conhecimentos, sua amizade e solidariedade, obrigada pela disposição à alegria, pela ajuda e bons momentos de divertimento: Laboratório Bio-sistemática: Carla Magioni Fracasso, Cristiano Verola, Itayguara R. Costa, Juan Urdampilleta, Kayna Agostini, Leonardo Meirelles, Ludmila Mickeliuna, Márcia Rocca, Maria Bernardete Canela, Sérgio Morbiolo, Vanessa Mancuso. Laboratório de Taxonomia: Ana Paula Fortuna, Catia Urbanetz, Eduardo Meirelles (Dudu), João Aranha, Fabiana Firetti, Gustavo Shimizu, Karina Fidanza, Lydianne Aona, Rita Seco, Roberta Macedo, Rosilene R. Silva.

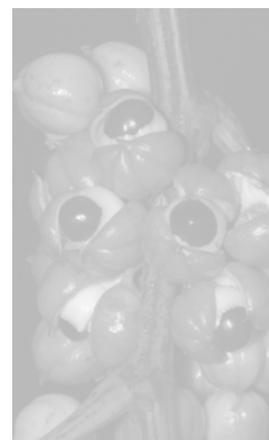
Aos Amigos queridos Lorena Coutinho e sua mãe Jucélia, Luciano Lopes, Mauro Pádua, Lucia Lima & Maria Eugenia Porto, Neia, Maria Isa, Paulo e Ângela. Pela amizade sincera e carinho. Pelo apoio justo e certo oferecidos em diversos momentos, pelas frases de animo, principalmente nas situações difíceis.

À Família Firetti agradeço o carinho e acolhida, e por me fazer sentir parte da sua linda família. Especial agradecimento a Valéria pela amizade e os gestos de infinita generosidade e bondade.

A meus Paes, irmãos e minha sobrinha e a minha família toda, pela compreensão das minhas prolongadas ausências. Pela força, o amor e os laços de afeto que sempre me oferecem, e que são sentidos tão de cerca apesar da distancia.

Aos meus amados amigos da Colômbia pela expressão continua de amizade, energia, animo e carinho. Desde a distancia sempre permanecem muito presentes, muito obrigada pela força: Berthica, Jimena, Anilsa, Lida Margarita, Marcela Mora, Claudia Moreno, Hilda, Liseth, Edith & Flaco, Liliana Rosero, Oscar, Tânia Mesa, Isabel, Tânia Cortazar, Marcela Serna, Gladys, Carlitos Parra, Wilma & Fernando, Nestor.

Aos Amigos da Colômbia no Brasil: Dora Estrada, Jairo Campos & Eliana, Javier Pinzón, Olga Mondragón e Sebastián Sendoya, pela ajuda e amizade incondicional. Pelos convites às festas, pela diversão e os momentos de descontração e lembranças divertidas dos costumes de nossa terra. Muito obrigada pelas dicas e os conselhos de grande importância para nossa estadia na cidade.



ÍNDICE

	Página
Resumo	1
Abstract	2
1. Introdução	3
1.1. Considerações gerais sobre a família Sapindaceae e a ordem Sapindales	3
1.2. Considerações gerais sobre o gênero <i>Paullinia</i> L.	4
1.3. Justificativa	12
1.4. Objetivos	16
2. Aspectos morfológicos gerais das espécies de <i>Paullinia</i> L. estudadas	17
3. Referências Bibliográficas	22
CAPÍTULO 1. Ontogênese da estrutura carnosa da semente de <i>Paullinia trigonia</i> Vell. (Sapindaceae)	30
Resumo	31
Abstract	32
Introdução	33
Material e Métodos	35

Resultados	38
Discussão	46
Referências Bibliográficas	55
CAPÍTULO 2. Morfologia e anatomia do envoltório seminal e da estrutura carnosa de sementes maduras de nove espécies de <i>Paullinia</i> L. (Sapindaceae)	58
Resumo	59
Abstract	60
Introdução	61
Material e Métodos	63
Resultados e Discussão	67
Conclusões	103
Referências Bibliográficas	104
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	
Perspectivas de estudos futuros	107

Agradecimento especial à Profa. Dra. Marília de Moraes Castro pelos valiosos ensinamentos básicos da anatomia vegetal e das técnicas usadas no laboratório. Principalmente sou grata pela acolhida no laboratório e no departamento, pela sua disposição no ensino, sua gentileza, respeito e carinho.

Aos membros da banca examinadora, Profa.Dra. Adelita Aparecida Sartori Paoli e Dra. Ana Paula Santos Gonçalves, agradeço de maneira especial o aceite para participar da avaliação do trabalho. Os aportes, sugestões e correções do manuscrito preliminar e durante a defesa contribuíram no enriquecimento da versão final do documento.

Meu agradecimento sincero à Profa.Dra. Marília Moraes Castro, Profa. Dra. Eliana Forni-Martins e à Dra. Ana Paula Santos-Gonçalves, pelos compreensões e paciência durante a fase de qualificação do mestrado e pelos aportes críticos e valiosos durante a apresentação dos resultados da qualificação os quais contribuíram na melhora do manuscrito final.

Ao Dr. Enrique Forero agradeço profundamente seu grande apoio e estímulo no desenvolvimento da minha profissão e vida acadêmica. Sou muito grata por oferecer sempre sua amizade, bons conselhos e generosidade. Também por oferecer sempre oportunidades de diminuir a distância entre meus seres queridos e eu.

Ao meu querido Maestro e amigo Dr. Santiago Díaz-Piedrahita, pela amizade, ensinamentos constantes, estímulo e suas sempre sábias e oportunas palavras.

À Dra. Profa Angela Borges Martins e a Dra. Profa Luíza Kinoshita, agradecimento especial pelo carinho, força e apoio constantes em diversos aspectos acadêmicos e pessoais.

Ao Dr. Pedro Luís Rodrigues de Moraes minha gratidão sincera por me oferecer sempre sua amizade e apoio incondicional e por facilitar minha permanência ao conseguir ajudar na solução de vários aspectos básicos de vida desde minha chegada ao Brasil.

À Dra. Sara Maldonado agradeço seus ensinamentos em desenvolvimento reprodutivo vegetal e principalmente por se tornar uma grande amiga. Pela cálida companhia, espírito aberto e agradáveis conversas.

Meu agradecimento especial à Dra. Silvia Ferrucci, pelo convite ao Herbário de Corrientes (Argentina) e o treinamento na taxonomia das Sapindáceas. Pela generosidade e atenção durante minha estadia no seu lar. Pela amizade e carinho. Agradeço sua disposição e entusiasmo no intercâmbio dos conhecimentos e avanços nas pesquisas sobre a família Sapindaceae.

Agradecimentos aos professores do departamento de Botânica, pelos ensinamentos nos diferentes ramos da Biologia Vegetal, pela disposição, receptividade e interessantes conversas sobre diversos tópicos: Ana Tozzi, Angela Borges Martins, Eliana Forni Martins, Fernando Martins, George Shepherd, João Semir, Jorge

RESUMO

No presente trabalho foram estudadas a ontogenia, morfologia e anatomia das sementes de algumas espécies do gênero *Paullinia* L. (Sapindaceae), coletadas em diversas áreas dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Paraná. Para fins morfológicos e conceituais foi estudada a ontogênese da estrutura carnosa na semente de *Paullinia trigonia* Vell. De forma a avaliar a importância dos caracteres da semente para fins taxonômicos foram estudadas a morfologia e anatomia do envoltório seminal, cicatriz e estrutura carnosa em sementes maduras de nove espécies do gênero *Paullinia*: *P. elegans* Cambess., *P. spicata* Benth., *P. cupana* Kunth, *P. carpopodea* Cambess., *P. meliaefolia* A. L. Juss., *P. coriacea* Casar., *P. cristata* Radlk., *P. racemosa* Wawra e *P. trigonia* Vell., pertencentes a cinco das treze seções estabelecidas por Radlkofer. Os resultados indicaram que no referente à ontogenia da estrutura carnosa em *P. trigonia* Vell., o tegumento externo participa da formação da estrutura carnosa em duas regiões da semente, na porção basal da rafe e o na área próxima da micrópila. O funículo não contribui na formação da estrutura carnosa. Essa estrutura carnosa foi denominada sarcotesta e o termo arilo, como tem sido descrito não foi usado. Aspectos relacionados com o desenvolvimento da estrutura carnosa, da flor estaminada e pistilada, foram comparados e discutidos com outros representantes do gênero e a família Sapindaceae. As características morfológicas das sementes apresentam notáveis diferenças entre as espécies. Três caracteres em conjunto permitem distinguir facilmente as espécies: 1. Tamanho e forma estrutural da semente. 2. Morfologia da sarcotesta (termo usado para definir o tipo de estrutura carnosa nas nove espécies examinadas), proporção que cobre a semente e fissuras principalmente na região da anti-rafe. 3. Forma e tamanho da cicatriz, lóbulos na região da rafe e anti-rafe, dimensão e tipo de fusão das projeções e grau de constricção na área intermédia entre os lóbulos e as projeções da cicatriz. Os caracteres anatômicos de maior utilidade para diferenciar as espécies foram apresentados pelo envoltório seminal: comprimento do estrato exotestal e número de camadas e dimensões da mesotesta. Os caracteres analisados não forneceram indícios de um agrupamento apoiando as seções propostas por Radlkofer, mais são caracteres de utilidade potencial na taxonomia e identificação das espécies do gênero.

Palavras-chave: Sapindaceae, *Paullinia*, taxonomia, morfo-anatomia, ontogênese, sementes, envoltório seminal, sarcotesta.

ABSTRACT

In this work were studied the ontogeny, morphology and anatomy of the seeds of some species of the genus *Paullinia* L. (Sapindaceae), collected in several areas in the states of São Paulo, Rio de Janeiro and Paraná. The ontogeny of the fleshy structure of the seed of *Paullinia trigonia* Vell. was study for conceptual and morphological purposes. In order to evaluate the importance of the characters of the seed for taxonomic value, the morphology and the anatomy of the seed coat, scar, and fleshy structure were studied in mature seeds of nine species of the genus *Paullinia*: *P. elegans* Cambess., *P. spicata* Benth., *P. cupana* Kunth, *P. carpopodea* Cambess., *P. meliaefolia* A. L. Juss., *P. coriacea* Casar., *P. cristata* Radlk., *P. racemosa* Wawra and *P. trigonia* Vell., species belonging to five out of thirteen sections established by Radlkofer. The results indicated that in the ontogeny of the fleshy structure, the outer integument participates in the formation of the fleshy structure in two regions in the seed: in the basal portion of the raphe and in the area near the micropyle. The funicle does not contribute in the formation of the fleshy structure. The fleshy structure was defined as sarcotesta. The term aril referring to this white structure is not used in our work. Aspects relating to the development of the fleshy structure and of the staminate and pistilate flowers, are compared and discussed with other representatives of the genus and the Sapindaceae family. The morphologic characteristics of the seeds present remarkable differences between the species. Three characters altogether allow distinguishing the species easily: 1. Structural size and shape of the seed. 2. Morphology of the white fleshy structure, characterized here as sarcotesta for nine species examined, proportion that covers the seed, and fissures mainly in the anti-raphe region. 3. Shape and size of the scar, lobules in the raphe and anti-rafe regions, dimension and type of fusion of the projections, as well as the degree of the constriction in the intermediate area between the lobes and the projections of the scar. The most useful anatomical characters to differentiate the species are the ones presented in the seed coat: dimension of the exotestal stratum and number of layers and dimensions of the mesotesta. The characters analyzed here do not offer indications of a clustering supporting the sections proposed by Radlkofer, but they are characters of potential utility in the taxonomy and identification of the species of the genus.

Keywords: Sapindaceae, *Paullinia*, taxonomy, morpho-anatomy, ontogeny, seeds, seed coat, sarcotesta.

1. Introdução

1.1. Considerações gerais sobre a família Sapindaceae e a ordem Sapindales

A família Sapindaceae A. L. de Jussieu abrange 136 gêneros (Gunn et al. 1992, Acevedo-Rodríguez et al. em prep.) e se apresenta em forma de árvores, arbustos e lianas. Está constituída por cerca de 1800 espécies, as quais se distribuem nas regiões tropicais e subtropicais com poucos gêneros presentes nas regiões temperadas (Judd et al. 2002). Para o Brasil, são referidos 22 gêneros e 380 espécies (Barroso, 1984).

Radlkofer (1892–1900, 1931-1934) realizou o mais completo tratamento taxonômico da família Sapindaceae. Sua monografia é amplamente usada até o presente. Dividiu a família em duas subfamílias e 14 tribos. As subfamílias se distinguem de acordo com o número de óvulos por lóculo. As espécies de Sapindoideae apresentam um óvulo por lóculo e as espécies incluídas em Dodonaeoideae tem dois ou raro mais óvulos por lóculo. As tribos sapindóides, Paullinieae e Thouinieae são consideradas as mais derivadas (Acevedo-Rodríguez, 1993). Baseado em caracteres morfológicos, Acevedo-Rodríguez (1993) elaborou uma análise cladística preliminar e limitou a tribo Paullinieae a dois clados principais: o ‘grupo *Serjania*’ abrangendo os gêneros com frutos esquizocárpicos *Serjania* Miller, *Houssayanthus* Hunz. e *Lophostigma* Radlk., e o ‘grupo *Paullinia*’ contendo os gêneros com cápsulas septifragais *Paullinia* L., *Cardiospermum* L. e *Urvillea* Kunth.

Sapindaceae está incluída na ordem Sapindales (Cronquist, 1988) e de acordo com Judd et al. (2002) a ordem consiste de nove famílias e aproximadamente 5800 espécies, sendo as principais famílias: Anacardiaceae R. Brown, Burseraceae Kunth, Meliaceae Jussieu, Rutaceae Jussieu, Simaroubaceae Candolle e Sapindaceae. Os caracteres comuns na maioria dos membros das Sapindales são: folhas compostas, androceu diplostemone ou haplostemone, um disco nectarífero bem desenvolvido e ovário sincárpico com um número limitado de óvulos, geralmente um ou dois em cada lóculo (Cronquist, 1988).

A monofilia da ordem se apóia em análises baseadas em dados de seqüências de DNA, em particular usando os genes *rbcL* e *matK* de plastídios (Gadek et al. 1996, Soltis et al. 2000, APG II 2003, Harrington et al. 2005). Nessas análises se reconhece um amplo conceito da ordem, similar ao conceito de Sapindales definido por Cronquist (1988).

A família em sentido amplo, Sapindaceae *s.l.*, envolve Sapindaceae *s.s.* e as antigas famílias Aceraceae e Hippocastanaceae. Foi definida como grupo monofilético, baseado também em seqüências de DNA, principalmente, e de vários caracteres morfológicos (Gadek et al. 1996, Soltis et al 2000, Judd et al. 2002, Harrington et al. 2005).

Harrington et al. (2005) analisaram na subfamília Sapindoideae três (*Cardiospermum*, *Paullinia* e *Serjania*) dos seis gêneros atribuídos à tribo Paullinieae, encontrando um grupo monofilético consistente que apóia o reconhecimento da tribo, mas eles concluíram que os membros de Paullinieae poderiam ser incluídos na tribo Thouineae.

Os estudos e análises feitos pelos grupos de pesquisadores mencionados acima provêm cada vez mais inferências fortes das relações filogenéticas na ordem Sapindales e dentro das Sapindáceas. No entanto, eles sugerem fazer mais testes de seqüências moleculares para estabelecer com certeza os limites dos clados e analisar com maior detalhe os dados morfológicos, para examinar a consistência dos conceitos tribais dentro das famílias e quais deles poderiam ser redefinidos, Sapindoideae foi uma das quatro subfamílias propostas por Harrington et al (2005).

1.2. Considerações gerais sobre *Paullinia* L.

A tribo Paullinieae, o gênero *Paullinia*, classificação infragenérica e distribuição geográfica

Paullinia L. pertence à subfamília Sapindoideae, é nativo de áreas tropicais e subtropicais do Novo Mundo com aproximadamente 200 espécies (Ferrucci, 1991). A maioria das espécies está restrita ao hemisfério ocidental, sendo a exceção *P. pinnata* L. que ocorre nos trópicos da América e África (Simpson, 1976). O gênero *Paullinia* junto com *Serjania* Miller, *Lophostigma* Radlk., *Houssayanthus* Hunz., *Urvillea* Kunth e *Cardiospermum* L. estão incluídos na tribo *Paullinieae* Kunth por apresentar hábito trepador, estípulas, gavinhas e dois a quatro nectários conspícuos na base da flor (Acevedo-Rodríguez 1991, 1993).

Croat (1976) afirmou que no continente americano ocorrem cerca de 36 gêneros de Sapindaceae e desses *Allophylus* L., *Cupania* L., *Matayba* Aubl., *Paullinia* L. e *Serjania* Mill. são os mais ricos e numerosos em espécies. *Paullinia* e *Serjania* apresentam maior semelhança morfológica e são os mais importantes e complexos para América tropical (Cronquist 1981, Acevedo-Rodríguez 1993). Estes gêneros diferenciam-se entre si pelo tipo de fruto e pólen, sendo muito difícil distingui-los só pelos caracteres vegetativos (Acevedo-Rodríguez, 1998). Em *Paullinia* os frutos são cápsulas septífragas, no entanto, em *Serjania* são esquizocarpos com mericarpos samaróides. Os dois gêneros têm grãos de pólen com forma triangular equatorial, mas em *Paullinia* os grãos são triporados

isopolares e em *Serjania* são hemitricolporados heteropolares (Cruz & Melhem 1984, Acevedo – Rodríguez 1998).

Apesar da diversidade e importância das espécies de *Paullinia* no Novo Mundo, são poucos os estudos atuais sobre a morfologia, taxonomia e sistemática do gênero. A mais completa revisão foi feita por Radlkofer no tratamento de Sapindaceae para a *Flora Brasiliensis* em Martius (1892–1900) e *Das Pflanzenreich* em Engler (1931–1934).

Tabela 1. Lista das seções de *Paullinia* L. estabelecidas por Radlkofer para o Neotrópico (1931 – 1940) e para o Brasil (1892–1900) e número de espécies descritas para cada seção.

* Os números das seções seguem os critérios de Radlkofer.

Seções*	Número de Espécies no Neotrópico	Número de Espécies no Brasil
Cápsulas ápteras	(84)	(38)
Sect. I. <i>Neurotoechus</i> Radlk.	26	9
Sect. II. <i>Diphtherotoechus</i> Radlk.	6	6
Sect. III. <i>Pleurotoechus</i> Radlk.	28	10
Sect. IV. <i>Pachytoechus</i> Radlk.	11	9
Sect. V. <i>Enourea</i> (Aubl.) Radlk.	8	3
Sect. VI. <i>Castanella</i> (Spruce) Radlk.	5	1
Cápsulas aladas	(63)	(24)
Sect. VII. <i>Xyloptilon</i> Radlk.	3	1
Sect. VIII. <i>Neuroptilon</i> Radlk.	3	-
Sect. IX. <i>Cryptoptilon</i> Radlk.	1	1
Sect. X. <i>Anisoptilon</i> Radlk.	3	1
Sect. XI. <i>Isoptilon</i> Radlk.	4	1
Sect. XII. <i>Caloptilon</i> Radlk.	37	9
Sect. XIII. <i>Phygoptilon</i> Radlk.	12	11
Total Espécies	147	62

Nas monografias, Radlkofer descreveu 62 espécies para o Brasil e 147 espécies para o neotrópico. O autor dividiu o gênero em seções e apresentou chaves para separar as espécies e as 12 seções presentes no Brasil (1892–1900) e as espécies das 13 seções que ocorrem no neotrópico (1931-1934). As três espécies da Seção VIII *Neuroptilon* Radlk., ausentes no território brasileiro, ocorrem somente no Suriname e na região das Antilhas (Tabela 1).

A classificação infragenérica de Radlkofer foi baseada principalmente na estrutura morfológica e anatômica da cápsula, além dos caracteres vegetativos e florais. A morfologia e anatomia do fruto foram notavelmente importantes no seu sistema de classificação, é o taxonomista forneceu também abundantes dados e informações com ênfase especial nesse órgão para a família.

Em *Paullinia*, Radlkofer (1931-1934) estabeleceu seis seções constituídas por espécies com cápsulas não aladas, e sete seções nas quais incluiu espécies com cápsulas aladas. Para separar as seções e diferenciar as espécies, o autor usou os caracteres morfológicos do fruto como: forma, superfície, textura e consistência do pericarpo. Dos caracteres anatômicos do fruto ressaltou: o tipo de tecido e as camadas celulares no mesocarpo e no endocarpo, nervuras do mesocarpo, e a forma como o endocarpo penetra nas alas dos frutos.

Somner (2001) afirmou que em território brasileiro ocorrem cerca de 80 espécies de *Paullinia*. O gênero apresenta o centro de diversidade na região amazônica e é um componente importante nas florestas tropicais úmidas e perenifólias. No Brasil, as espécies estão bem representadas nas formações vegetais do tipo floresta Atlântica e Amazônica, e são encontradas geralmente nas margens dos rios, interior da mata, no dossel das árvores e em beiras de estradas, sendo pouco freqüentes no cerrado.

Características morfológicas

As espécies de *Paullinia*, denominadas popularmente como “cupana”, “guaraná”, “cipó-timbó”, “timbo” ou “tinguis”, se caracterizam por apresentar hábito trepador, são plantas lenhosas, latescentes, com gavinhas e estípulas, monóicas, e apresentam caules subcilíndricos, estriados ou costados, em corte transversal com um cilindro central único ou composto por um cilindro central e 1-5 cilindros periféricos. As folhas são alternas, compostas, imparipinadas, 5-folioladas, biternadas, raramente trifolioladas ou 3 (4) jugadas, com o par basal trifoliolados. As estípulas podem ser inconspícuas ou notáveis e bem desenvolvidas. Os pecíolos e raque ápteros, marginados ou alados. Sinflorescência constituída de tirsos duplos axilares ou terminais, e caulifloros fasciculados, congestos ou

laxifloros. O ápice do pedúnculo com ou sem duas gavinhas. As flores são zigomorfas, brancas, oblíquas, unissexuais, com cálice 4-5 mero, dialisépalo, sendo as duas sépalas exteriores menores, quando pentâmero com três sépalas internas, sendo duas anteriores e uma posterior e quando tetrâmero, com uma sépala posterior e uma anterior emarginada. A corola é tetrâmera com apêndices petalóides carnosos fusionados na base das pétalas inseridos numa concavidade no centro de cada um dos quatro nectários. Os dois nectários centrais mais desenvolvidos e os laterais menores que os centrais ou quase ausentes. As flores masculinas ou estaminadas têm estames funcionais exertos e um gineceu rudimentar, no entanto, as flores femininas ou pistiladas apresentam estames não funcionais com anteras indeiscentes e o gineceu funcional exerto. O androceu é excêntrico na flor masculina, com oito estames, filetes pubérulos a vilosos, anteras bitecas, e rimosas, com pólen tri ou tetraporado. O gineceu é excêntrico na flor feminina, com três carpelos e um óvulo por carpelo, inserido na metade basal do lóculo, três estiletos filiformes unidos até o ápice, estigma trífido, placentação axilar. Os estames não funcionais apresentam anteras com morfologia similar aos estames funcionais. Os frutos são cápsulas ápteras ou aladas, septífragas, estipitadas, pericarpo geralmente vermelho e subcarnoso. Sementes 1 (2-3) por fruto, trígono-elipsoidais a trígono-obovóides, tegumento crustáceo, pardo escuro ou preto; com presença ou ausência de uma estrutura de consistência carnosa, branca e notável. Embrião curvo, subesférico ou elipsoidal, eixo hipocótilo-radícula curto, preso no dorso de um dos cotilédones, cotilédones crassos, geralmente curvos, côncavo-convexos ou o externo curvo e o interno biplicado, a radícula alojada numa dobra do tegumento (Radlkofer 1892-1900, 1931-1934, Ferrucci 1991, Somner 2001).

Etimologia: o nome *Paullinia* foi dedicado por Linnaeus a Simon Paulli (1603-1680), professor em Kopenhagen, que escreveu a Flora para Dinamarca.

Usos e importância econômica

É um gênero conhecido pelas propriedades medicinais e uso potencial de suas espécies. Ducke (1937) relatou que já desde épocas da cultura pré-hispânica, *Paullinia cupana* Kunth, o “guaraná” do Brasil ou “cupana” da Venezuela e Colômbia, se destacou como uma das plantas medicinais mais usadas na Amazônia brasileira, sendo seus efeitos estimulantes já conhecidos na Europa nos tempos da colônia. Segundo Lleras (1994) seu uso no velho continente foi documentado em 1775.

Especificamente *P. yoco* Schultes & Killip e *P. cupana* têm alto conteúdo de cafeína, a partir das quais se fabricam bebidas estimulantes (Macbride, 1956). Outras espécies do gênero são de interesse por conter alcalóides, saponinas e outros metabolitos secundários que conferem às plantas efeitos ictio-tóxicos; os ramos, caules, raízes, fibras, folhas, frutos e sementes são utilizados para fins diversos (Acevedo-Rodríguez 1990, Guarim Neto 2000). A partir das pesquisas na literatura botânica, médica e etnobotânica, Beck (1990) encontrou que 39 espécies de *Paullinia* são consideradas de importância econômica. Os variados usos do material fresco ou preparado incluem remédios, ictio-tóxicos, bebidas, material de construção, diversos artesanatos, alimentação e substâncias tóxicas; ademais o autor indica seu uso mágico-religioso, algumas comunidades acreditam que algumas espécies possuem propriedades mágicas e de encantamento.

O guaraná

Ducke (1937) estudou *Paullinia cupana* Kunth e concluiu que existem duas variedades: *P. cupana* Kunth var. *cupana* e *P. cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke, pertencentes a duas áreas geográficas diferentes. A variedade típica se distribui nas bacias fluviais do Alto Orinoco e alto Rio Negro e a variedade *sorbilis*, se encontra na parte sudeste do Estado do Amazonas e foi introduzida em Manaus. O autor fez descrições enfatizando as principais divergências entre essas variedades em relação aos folíolos, tamanho das flores, tamanho, forma e cor dos frutos. Na variedade típica, as flores e frutos são maiores, com frutos acentuadamente obovado-piriformes e de um vermelho escuro com pouco brilho, ao passo que na variedade *sorbilis* as flores e frutos são menores e os frutos globosos e brilhantes.

Paullinia cupana Kunth var. *sorbilis* (Mart.) Ducke (sin. *Paullinia sorbilis* Mart.), o guaraná, é a espécie que apresenta a maior importância econômica em todo o gênero, e tem a mais ampla e difundida utilização. Na atualidade é cultivada, principalmente, no Brasil, o maior produtor de guaraná e da bebida refrigerante. Sobre essa espécie têm sido feitos numerosos trabalhos abordando vários aspectos. Lleras (1994) menciona que essa espécie foi muito tempo utilizada na medicina por suas propriedades antipiréticas, anti-nevrálgicas e anti-diarréicas, e como um poderoso estimulante e um analgésico comparável à aspirina. Segundo Meurer-Grimes et al. (1998) as sementes contêm altos níveis de cafeína, 2.7 a 5.8% do peso seco, e pequenas quantidades de outras substâncias relacionadas, como os alcalóides teobromina e teofilina. Outros estudos sobre a composição química (Avato et al., 2003) indicam que do total do óleo das sementes do

guaraná, 3% estão constituídos por cianolipídios, 28% por acilgliceróides e 7% por ácido paulínico, sendo que o ácido oléico (37.4%) encontrado foi o da cadeia acil-graxo dominante nos acilgliceróides. Benoni et al. (1996) analisaram os óleos essenciais do guaraná e identificaram nove componentes: 2 metil benzenos, 1 monoterpene cíclico, 2 hidrocarbonos sesquiterpenos cíclicos, 2 metoxyfenilpropenos e 2 derivados alquifenólicos.

Com respeito aos estudos citológicos de *P. cupana*, Areia (1971) mostrou alguns aspectos da parede celular em fragmentos de folha jovem. Anos atrás, em 1966, o mesmo autor tinha publicado seu estudo sobre a anatomia de folhas jovens e adultas, observando notáveis diferenças estruturais entre elas. Medri et al. (1980) compararam folhas diplóides e poliplóides do guaraná e não encontraram diferenças em tamanho das células epidérmicas, tamanho dos estômatos e número dos mesmos por unidade de área. São inumeráveis as pesquisas relacionadas com os cultivos, a propagação, as técnicas de polinização, seleção e melhoramento genético, variabilidade genética, cultura de tecidos, patógenos, produção e tudo o que se refere à cultura e indústria do guaraná.

Entre os vários trabalhos relacionados com aspectos da biologia floral e polinização de *P. cupana* em cultivo ressalta-se os de Gondim (1984), que estudou vários aspectos da biologia reprodutiva do guaraná numa plantação próxima a Manaus. O autor identificou os insetos visitantes e determinou os possíveis polinizadores, além das taxas de visita e variação na freqüência da produção de flores femininas e masculinas. Moreira Filho et al. (1975) observaram a viabilidade de polinização e fecundação cruzada manual em plantas cultivadas e Escobar et al. (1984) realizaram observações complementares acerca da estrutura floral e floração do guaraná, executando cruzamentos controlados entre matrizes selecionadas.

Outros estudos no gênero

Com exceção de *P. cupana* var. *sorbilis*, as informações sobre a maioria das espécies pertencentes ao gênero são escassas, gerais e dispersas a respeito da biologia estrutural, funcional, citológica e química. De acordo com Weckerle et al. (2003), *Paullinia* é o gênero menos pesquisado com respeito à quimio-taxonomia e localização de cafeína e seus aliados dentro da planta na família. Os alcalóides purina (PuA) são compostos valiosos como marcadores; Weckerle et al (2003) examinaram 34 espécies de *Paullinia* e gêneros relacionados, encontrando esses alcalóides em *Paullinia pachycarpa* Benth, acrescentando-se às já conhecidas *P. cupana* e *P. yoco*.

Cruz & Melhem (1984) estudaram a morfologia polínica de 18 espécies de Sapindáceas nativas, duas das quais pertencem ao gênero *Paullinia*, *P. carpopodea* Cambess. e *P. trigonia* Vell. Nessas duas espécies os grãos de pólen são triporados e com um opérculo, e diferenciam-se significativamente pelo tamanho do grão, em *P. trigonia* os grãos em vista equatorial medem 30 μm , aproximadamente 10 % menores que os grãos de *P. carpopodea*.

Com respeito à citologia do gênero, são reportados os números cromossômicos de sete espécies, pertencentes a quatro seções, todas com $2n=24$. Conhecem-se os cariótipos de três delas *P. elegans* Cambess., *P. meliaefolia* A. Juss e *P. racemosa* Wawra (Ferrucci 2000; Ferrucci & Solís Neffa 1997; Solís Neffa & Ferrucci 1997, 1998, 2001). Mais recentemente, Urdampilleta (2005), na sua dissertação de mestrado, estudou 22 espécies da tribo Paullinieae utilizando técnicas citogenéticas, bandamento C-Giemsa e hibridação *in situ*, sendo quatro espécies do total pertencentes a *Paullinia*, *P. elegans* Cambess., *P. meliaefolia* A. L. Juss., *P. pinnata* e *P. rhomboidea* Radlk. Urdampilleta (2005) encontrou que as espécies apresentaram $2n=24$, conservando o número cromossômico no gênero e puderam ser diferenciadas pelo tamanho cromossômico e pela assimetria cariotípica, além de serem reportados, pela primeira vez para o gênero os padrões de bandas e a localização física dos sítios de DNAr 45S.

No referente à anatomia, Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1983) apresentaram alguns aspectos particulares da anatomia de *Paullinia* e *Serjania*, principalmente das folhas, caules e madeira. Entre os estudos de anatomia foliar encontram-se os de Almeida-Ferraz (1980), que tratou a morfologia externa e vascularização de *P. weinmanniaefolia* Mart, espécie que ocorre na restinga. Almeida-Ferraz & Gonçalves (1985) pesquisaram as prováveis causas da heterofilia e variabilidade na arquitetura foliar até num mesmo indivíduo da espécie *P. carpopodea* Cambess. Valente et al. (1984) estudaram a venação e a epiderme foliar de 15 espécies de *Paullinia*.

Outra contribuição à taxonomia do gênero foi elaborada por Simpson (1976), que fez uma revisão parcial de *Paullinia* para o Equador, Peru e Bolívia. Em sua dissertação, Beck (1991), reconsiderou os limites do gênero e da tribo Paullinieae, e segregou *Paullinia* em cinco gêneros, porém hoje ainda não foi publicada a nova circunscrição dos taxa segundo suas considerações. Somner (2001) realizou a revisão taxonômica de *Paullinia* sect. *Phygoptilon*, a qual também ainda não foi publicada.

Atualmente não existe um estudo genérico completo, com uma revisão atualizada das espécies já descritas e que inclui as novidades taxonômicas recentes (Macbride 1956,

Morales 1996, Acevedo–Rodríguez 1998, Weckerle & Reynel, 2003, Obando et al. 2004). Nas floras e catálogos (Macbride 1956, Croat 1976, Reitz 1980, Barroso 1984, Ferrucci 1991, 1998, Gereau 1993, Guarim Neto 1996, Vásquez 1997, Jørgensen 1999, Robbins 2001, Acevedo–Rodríguez 2002, 2003) nos tratamentos de Sapindaceae incluem listas, chaves e descrições diagnósticas das espécies de *Paullinia* encontradas nas localidades de estudo, o que de alguma maneira tem gerado um conhecimento importante da riqueza, distribuição e diversidade das espécies do gênero no continente americano. Entretanto as informações permanecem fragmentadas, dispersas e os resultados com aplicabilidade restrita às áreas de estudo.

Ademais dos estudos detalhados de Radlkofer sobre a taxonomia, anatomia e morfologia de Sapindaceae, são poucos os estudos publicados com relação à biologia estrutural, reprodutiva e funcional de *Paullinia*. Simpson (1976) afirmou que alguns dos caracteres morfológicos encontrados no gênero sugerem adaptações para funções biológicas especializadas, especialmente as relacionadas à polinização e aos mecanismos de dispersão. Somner (2001) desenvolveu um estudo detalhado da biologia floral de *Paullinia weinmanniaefolia* Mart., além disso, efetuou observações referentes à polinização, fenologia e morfologia da inflorescência em populações nativas que ocorriam espontaneamente numa área de restinga no Rio de Janeiro.

Nos trabalhos clássicos de Corner (1976) e van der Pijl (1957, 1982) foram descritas as estruturas das sementes de Sapindaceae em geral, com maior precisão para alguns gêneros que compõem a família, porém poucos exemplos foram dados para *Paullinia*. Entre os escassos trabalhos de morfologia, estrutura, e ontogenia dos frutos e sementes, específicos para *Paullinia*, encontra-se o estudo de Milanez (1959), que descreveu em detalhe a anatomia do fruto do guaraná, assim como algumas partes das sementes, e o trabalho de Mendonça et al. (1992), no qual foram publicadas descrições das estruturas da semente, da estrutura carnosa (por eles denominada como arilódio), dos tegumentos e do embrião da mesma espécie.

Recentemente, Weckerle & Rutishauser (2005) fizeram uma grande e importante contribuição ao conhecimento da estrutura e ontogenia do gineceu, fruto e semente da tribo Paullinieae. Foram examinadas nove espécies procedentes do Peru, representando quatro gêneros, sendo *Paullinia* com seis espécies (*Paullinia alata* G. Don, *Paullinia clavigera* Schltdl., *Paullinia obovata* (Ruiz & Pav.) Pers., *Paullinia pachycarpa* Benth., *Paullinia* aff. *caloptera* Radlk. e *Paullinia dasystachya* Radlk.), *Cardiospermum*, *Serjania* e *Urvillea* com uma espécie cada. Os autores tentaram relacionar os aspectos estruturais encontrados com os mecanismos de deiscência do fruto e dispersão. Foram enumerados

diferentes caracteres que podem ter um grande valor sistemático dentro da tribo: forma e superfície do obturador, tipo de tecido transmissor, superfície dos carpelos, anatomia da parede do ovário, anatomia do arilo, forma do pseudo-hilo, modo de germinação das sementes e estrutura das primeiras folhas.

Weckerle & Rutishauser (2005) concluíram que os novos caracteres descritos para a tribo Paullinieae são de valor sistemático potencial a nível de gênero e espécie. Os caracteres referem-se a regiões específicas dos óvulos, dos ovários, das sementes e das plântulas. Segundo Weckerle & Rutishauser (2005), alguns desses caracteres, como anatomia do ovário e do pericarpo e folhas da plântula, apóiam as seções propostas por Radlkofer (1931–1934); outros caracteres estudados estão em conflito com aquela divisão, como o tecido de transmissão, superfície e largura do obturador e anatomia do arilo. Weckerle & Rutishauser (2005) ressaltaram que são necessários ainda mais dados estruturais de taxa adicionais que junto com análises moleculares permitam inferir relações filogenéticas entre as espécies de *Paullinia* e da tribo em geral.

1.3. Justificativa

Este estudo está focado nas espécies de *Paullinia* L.; um gênero importante na região Neotropical. No Brasil está bem representado, com cerca de 45% do total das espécies. Presente em diversos ambientes, o gênero apresenta a maior concentração e diversidade de espécies na região amazônica, sendo um componente importante nas florestas tropicais úmidas e perenifólias da América.

O “guaraná”, *Paullinia cupana* Kunth. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke, apresenta a mais difundida utilidade em todo o gênero. Do processamento das sementes é obtida a matéria prima para elaborar a bebida refrigerante. O Brasil é praticamente o único produtor de guaraná do mundo. A planta é comercializada em sementes torradas ou em pó para exportação ou agro-industrialização. Outras espécies do gênero contem múltiplos compostos que conferem as plantas propriedades medicinais. São consideradas de importância econômica em varias regiões do continente e as diferentes partes das plantas são usadas para diversos fins.

Apesar da riqueza e da funcionalidade ecológica das espécies de *Paullinia* no Novo Mundo, dos múltiplos usos que apresentam e da sua utilidade econômica nas culturas americanas, são poucos os estudos básicos atuais sobre a morfologia, anatomia e biologia das espécies deste grupo importante de lianas neotropicais.

A morfologia e anatomia do fruto em *Paullinia* foram muito importantes no sistema de classificação proposto por Radlkofer. Nas monografias, Radlkofer (1892–1900, 1931-

1934) forneceu abundantes dados e informações, principalmente dos frutos, para o gênero e a família em geral. Porém, na atualidade os estudos em frutos e sementes de espécies componentes do gênero, da tribo e da família Sapindaceae no Neotrópico são escassos e os resultados continuam dispersos em varias publicações, sendo os mais relevantes: van der Pijl, L. 1955, 1957, Milanez 1959, Corner 1976, Mendonça et al. 1992, Oliveira et al. 2001, Zavaleta et al. 2003, Weckerle & Rutishauser 2005.

Bhatnagar & Johri 1972, Boesewinkel & Bouman 1984, Roth 1977, Niembro 1988, Spjut 1994, Werker 1997 & Barroso et al. 1999, publicaram seus obras compilando o conhecimento existente dos frutos e/ou sementes para os grupos de angiospermas em geral com algumas referências para os gêneros de Sapindaceae.

Uma visão geral da morfologia e estrutura das sementes em Angiospermas, principalmente das dicotiledôneas, é apresentada nos trabalhos clássicos de Corner (1976) e van der Pijl (1955, 1957, 1982). Esses autores abrangeram com maior profundidade aspectos sobre a morfologia e anatomia das sementes das Sapindáceas. Desafortunadamente seus argumentos são divergentes e contraditórios, principalmente para descrever a origem e o desenvolvimento de estruturas presentes em alguns tipos de sementes de grupos como Sapindaceae, que apresentam sementes ariladas, sarcotestais e não ariladas, entre outras variações estruturais.

A terminologia aplicada aos arilos e estruturas carnosas tem sido inconsistente ao longo da historia e predominam nomes e classificações para estas dependendo da origem, posição, estrutura ou considerações ecológicas. Os termos arilo (aril), "arilódio" (arillode), "arilóide" (arilloid), "estrofíolo", "carúncula", entre outras derivações nominais, foram usados por diferentes autores, num sentido estrito ou amplo (Kapil et al. 1980). As confusões nos conceitos e a proliferação de nomes para as estruturas e apêndices carnosos se devem à notável ausência de estudos ontogenéticos e a falta de conhecimento sobre as formas iniciais desses apêndices em geral.

Aumentar os conhecimentos anatômicos, morfológicos e ontogenéticos dos órgãos e estruturas nas Angiospermas seria relevante para aplicar esses dados nos estudos modernos enfocados na redefinição e delimitação de grandes grupos de plantas. As pesquisas deveriam considerar análises dos frutos e sementes para serem usados junto com outros caracteres vegetais e florais. Por apresentarem caracteres constantes e conservativos, os frutos e sementes revelam valiosos aspectos sistemáticos, evolutivos e embriológicos, que são importantes na resolução de diversos questionamentos morfológicos de natureza conceitual; além de serem úteis no entendimento taxonômico dos diversos grupos de espermatófitas. Apesar das inúmeras vantagens que as análises

detalhadas dos frutos e sementes poderiam oferecer nas mais diferentes pesquisas, com frequência estes estudos têm sido ignorados ou sub-valorizados nos trabalhos sistemáticos. As causas dos poucos estudos em frutos e sementes estão relacionadas com a dificuldade desde a procura, a coleta de material, a herborização, aplicação e execução de técnicas anatômicas, até a falta de especialistas na área da carpologia.

Paullinia é um gênero bem delimitado, porém, na maioria das vezes suas espécies são difíceis de identificar com clareza, especialmente para os não especialistas na família. Tal situação se deve ao grande número de espécies, à variabilidade e à plasticidade morfológica apresentada por vários taxa, à ausência de revisões taxonômicas modernas abrangendo o gênero como um conjunto e a complexidade de alguns dos caracteres usados por Radlkofer nas chaves de identificação das seções e das espécies.

Tomando as considerações mencionadas anteriormente, nosso trabalho se desenvolve em dois aspectos principais: 1) Para fins morfológicos e conceituais: esclarecer a origem da estrutura carnosa da semente na espécie *Paullinia trigonia* Vell. 2) Para fins taxonômicos: a avaliação preliminar de caracteres baseada no estudo da morfologia e anatomia do envoltório seminal de sementes maduras de algumas espécies do gênero *Paullinia*: *Paullinia elegans* Cambess., *Paullinia spicata* Benth., *Paullinia cupana* Kunth, *Paullinia carpopodea* Cambess., *Paullinia meliaefolia* A.L. Juss., *Paullinia coriacea* Casar., *Paullinia cristata* Radlk., *Paullinia racemosa* Wawra e *Paullinia trigonia* Vell.

Os critérios utilizados na escolha e o número das espécies estudadas neste trabalho foram principalmente, a presença freqüente, ampla distribuição e representatividade de cada espécie no território brasileiro; e as possibilidades de acesso às localidades para a procura e coleta dos indivíduos. No prazo estipulado para o desenvolvimento da pesquisa, tentou-se coletar o maior número possível de espécies, para contar com representantes pertencentes as principais seções infragenéricas do Brasil, possibilitando assim a comparação dos caracteres seminais das espécies entre as seções e ao interior de cada seção. A amostragem dos frutos e sementes corresponde a um indivíduo para cada espécie. Devido à dificuldade de se encontrar plantas com frutos em estado maduro, e a limitação do tempo para fase de coletas, não foi possível estudar maior número de indivíduos de populações diferentes. Similar situação se apresentou para o estudo de ontogenia da estrutura carnosa. *Paullinia trigonia* Vell. foi a única espécie encontrada com flor e fruto em várias fases de desenvolvimento.

Neste estudo optou-se desde o início por estudar material obtido diretamente no campo. Radlkofer (1892–1900, 1931-1934) investigou principalmente material de herbário, e algumas análises dos caracteres do gineceu, estrutura de sementes e frutos,

entre outros, não foram efetuadas com detalhe ou permanecem desconhecidos pelo fato de ele não contar com exsicatas de herbário completas ou trabalhar só com fragmentos de órgãos dissecados e materiais deformado pela secagem.

Apesar da quantidade de amostras não serem significativas, foi considerado que os resultados obtidos nesta fase preliminar sugerem novas pesquisas a esse respeito. Nosso trabalho oferece novos dados e informação básica que aumentam tanto o conhecimento da morfologia e anatomia de sementes maduras de algumas espécies de *Paullinia* bem como o conhecimento acerca da ontogenia da estrutura carnosa em uma espécie do gênero.

A validade das pesquisas enfocadas nestas estruturas não só se limita ao fato da ausência de estudos relacionados em espécies importantes e com distribuição neotropical, como são as pertencentes à família Sapindaceae, mas também devido à escassa informação e os poucos estudos dos frutos e sementes das angiospermas, o grupo mais importante do reino vegetal.

Consideramos necessários mais estudos morfológicos e estruturais de taxa adicionais de *Paullinia*, para que no futuro esses estudos possam contribuir com dados a serem combinados com análises moleculares para um conhecimento mais completo das relações filogenéticas ao nível infragenérico.

Nesse sentido, esperamos que possam ser realizados estudos similares de morfo-anatomia do envoltório seminal, com uma amostra mais representativa tanto de indivíduos, populações e espécies do gênero. Esses dados contribuiriam em parte da construção da filogenia do grupo, além de servir como apoio para avaliar, possivelmente, a validade taxonômica das categorias infragenéricas estabelecidas por Radlkofer e continuar com uma necessária revisão e atualização taxonômica do grupo para facilitar a identificação das espécies.

Finalmente, partindo do pressuposto que as estruturas carnosas nas sementes de *Paullinia* não são homologas, espera-se poder testar a hipótese de homologia usando maior número de espécies que apresentem variações nesses caracteres. O entendimento mais profundo da iniciação e ontogenia da estrutura carnosa em *Paullinia* resultaria em uma interpretação melhor das relações sistemáticas e filogenéticas dessas estruturas, finalmente conduzidas a uma terminologia mais apropriada e uma utilização melhor dessas características em considerações taxonômicas.

A partir dos aspectos mencionados, foram formuladas quatro questões principais para o desenvolvimento da nossa pesquisa.

- ❖ A estrutura carnosa presente nas sementes da espécie *Paullinia trigonia* Vell. corresponde ao arilo como se descreve comumente na literatura?
- ❖ O denominado arilo tem sua origem realmente no funículo? Qual é a região de origem da estrutura carnosa encontrada na semente de *Paullinia trigonia* Vell.?
- ❖ O envoltório seminal das sementes maduras, das diferentes espécies de *Paullinia*: *P. elegans* Cambess., *P. spicata* Benth., *P. cupana* Kunth, *P. carpopodea* Cambess., *P. meliaefolia* A. L. Juss., *P. coriacea* Casar., *P. cristata* Radlk., *P. racemosa* Wawra e *P. trigonia* Vell, apresentam variações morfológicas e estruturais consideráveis? Existe um padrão morfo-anatômico nessas sementes? Quais são os caracteres que permanecem constantes e estáveis e quais as variações nestes caracteres seminais?
- ❖ A morfologia e anatomia do envoltório seminal, da estrutura carnosa e da cicatriz são caracteres importantes e de fácil observação para diferenciar as nove espécies? São caracteres úteis e aplicáveis na taxonomia do gênero e ao nível infragenérico? Os caracteres encontrados nas sementes maduras podem ser usados, junto a outros caracteres já estudados, na delimitação das categorias infragenéricas propostas por Radlkofer? Esses caracteres têm alguma implicação sistemática no gênero?

1.4. Objetivos

- Estudar a ontogenia da estrutura carnosa na semente da espécie *Paullinia trigonia* Vell.
- Caracterizar a morfologia e anatomia do envoltório seminal, cicatriz e estrutura carnosa das sementes maduras de nove espécies de cinco seções do gênero *Paullinia*: *P. elegans* Cambess., *P. spicata* Benth., *P. cupana* Kunth, *P. carpopodea* Cambess., *P. meliaefolia* A. L. Juss., *P. coriacea* Casar., *P. cristata* Radlk., *P. racemosa* Wawra e *P. trigonia* Vell.
- Avaliar e comparar os caracteres morfo-anatômicos do envoltório seminal, cicatriz e da estrutura carnosa e definir os de maior importância na diferenciação das sementes maduras de nove espécies de *Paullinia*.
- Determinar os caracteres morfo-anatômicos que permitam facilitar a identificação das espécies a partir das sementes, e sugerir, de maneira preliminar, os caracteres seminais úteis na taxonomia do gênero e nas categorias infragenéricas.

2. Aspectos morfológicos gerais das espécies de *Paullinia* L. estudadas

Radlkofer (1931-1934) dividiu o gênero em 13 seções. Sua classificação infragenérica se baseou principalmente nos caracteres morfológicos e anatômicos do pericarpo. Além do fruto, usou caracteres de estruturas do caule (caule simples com cilindro central único ou caule composto com cilindro central composto por 1-5 cilindros periféricos), número de sépalas na flor, tipo de inflorescência, tipo e número de folhas, entre outros.

Nosso trabalho incluiu o estudo de nove espécies pertencentes a cinco das treze seções estabelecidas por Radlkofer (Tabela 2). A seguir apresenta-se uma diagnose das seções e espécies estudadas.

• Seção I. *Neurotoechus* Radlk.

Espécies da seção: *P. elegans* Cambess. e *P. spicata* Benth. (Figs. 1 e 2).

Cápsulas ápteras. Epicarpo multiestriado, mesocarpo fibroso. Caule em corte transversal freqüentemente composto. Inflorescência solitária ou fasciculada. Cinco sépalas livres. Epiderme do folíolo não mucilaginoso e na maioria com cristais na face abaxial.

***Paullinia elegans* Cambess.**

Liana glabra. Caule composto, com um cilindro central e um a três cilindros periféricos menores. Estípulas decíduas. Folhas 5-folioladas, às vezes ternadas. Pecíolo e ráquis ápteras. Inflorescência de tirso solitários ou racemiformes.

Distribuição: Colômbia, Bolívia, Brasil (desde Pernambuco até o Rio Grande do Sul), Paraguai, Argentina e Uruguai.

***Paullinia spicata* Benth.**

Liana glabrescente. Caule composto, com um cilindro central e dois a três cilindros periféricos menores. Estípulas decíduas. Folhas 5-folioladas. Pecíolo áptero e canaliculado ou marginado, ou curtamente alado; ráquis áptero ou alado. Inflorescência em tirso espiciformes densifloros.

Distribuição: Colômbia, Equador, Suriname, Guiana Francesa, Brasil (Pará, Ceará, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Mato Grosso do Sul) e Paraguai.

• **Seção III. Pleurotoechus** Radlk.

Espécie da seção: *P. cupana* Kunth.

Cápsulas ápteras, globosas. Pericarpo pouco crasso. Epicarpo delgado. Mesocarpo parenquimático, com poucas nervuras. Caule em corte transversal simples. Inflorescência nunca fasciculada. Cinco sépalas, raro quatro. Epiderme do folíolo mucilaginosa ou não.

***Paullinia cupana* Kunth**

Liana escandente, sub-ereta ou fruticosa. Caule simples. Estípulas 2-3 mm comprimento. Folhas 5-folioladas. Pecíolo e ráquis ápteros, canaliculados. Inflorescência em tirso solitário.

Distribuição: Venezuela e Brasil, nos estados de Amazonas e Pará.

• **Seção IV. Pachytoechus** Radlk.

Espécie da seção: *P. carpopodea* Cambess.

Cápsulas ápteras, globosas. Pericarpo bastante crasso. Epicarpo delgado. Mesocarpo parenquimático, com poucas nervuras. Caule em corte transversal simples. Inflorescência nunca fasciculada. Quatro sépalas. Epiderme não mucilaginosa.

***Paullinia carpopodea* Cambess.**

Liana escandente, fruticosa ou arborescente. Caule simples. Estípulas 5-7 mm comprimento. Folhas imparipinnadas, trijuga, raro quadrijuga. Pecíolo e ráquis ápteros ou alados. Inflorescência em tirso solitário ou panículas densas.

Distribuição: espécie com distribuição restrita ao Brasil. Ocorre nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Santa Catarina.

• **Seção XII. Caloptilon** Radlk.

Espécie da seção: *P. meliaefolia* A. L. Juss.

Cápsulas aladas. Mesocarpo parenquimático, com poucas nervuras. Endocarpo esclerenquimático que penetra nas alas, não é bipartido. Alas persistentes. Cinco sépalas. Inflorescência frequentemente fasciculada. Testa da semente pilosa. Caule em seção transversal simples ou, em algumas espécies, composto.

***Paullinia meliaefolia* A. L. Juss.**

Liana glabra até indumentada. Caule simples. Estípulas notáveis, até 2 cm comprimento. Folhas 3–4 jugas, raro 5-folioladas. Pecíolo áptero e ráquis alada. Inflorescência de tirsos axilares solitários.

Distribuição: Brasil (Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul), Paraguai e Noroeste de Argentina.

• **Seção XIII. Phygoptilon** Radlk.

Espécies da seção: *P. coriacea* Casar., *P. cristata* Radlk. (Fig. 3), *P. racemosa* Wawra, *P. trigonia* Vell. (Fig. 4).

Cápsulas aladas. Mesocarpo parenquimático, com poucas nervuras. Endocarpo esclerenquimático que penetra nas alas, mais ou menos bipartido, sendo que as alas desaparecem posteriormente. Quatro sépalas. Inflorescência solitária ou não fasciculada. Caule em seção transversal simples.

***Paullinia coriacea* Casar.**

Liana glabra. Caule simples. Estípulas 0,5-1 mm longitude. Folhas trifolioladas. Pecíolos ápteros. Inflorescência em tirsos solitários.

Distribuição: espécie com distribuição restrita ao Brasil. Ocorre nas restingas dos estados da Bahia, São Paulo, Espírito Santo e Rio de Janeiro.

***Paullinia cristata* Radlk.**

Liana pubescente. Caule simples. Estípulas diminutas. Folhas biternadas. Pecíolo sulcado. Ráquis ápteras. Inflorescência em tirsos solitários.

Distribuição: espécie endêmica do Brasil, restrita aos estados de Paraná e Santa Catarina.

***Paullinia racemosa* Wawra**

Liana. Caule simples. Estípulas 1,5-1,75 mm longitude. Folhas 5-folioladas, com folíolos basais às vezes com dois foliólulos laterais reduzidos. Pecíolo bicanaliculado. Ráquis canaliculada. Inflorescência em tirsos solitários.

Distribuição: ocorre no Brasil (Pará, Maranhão, Ceará, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro).

***Paullinia trigonia* Vell.**

Liana pubescente a glabra. Caule simples. Estípulas curtas. Folhas biternadas, 3-4 jugas. Pecíolo áptero. Ráquis marginada a alada. Inflorescência de tirsos solitários.

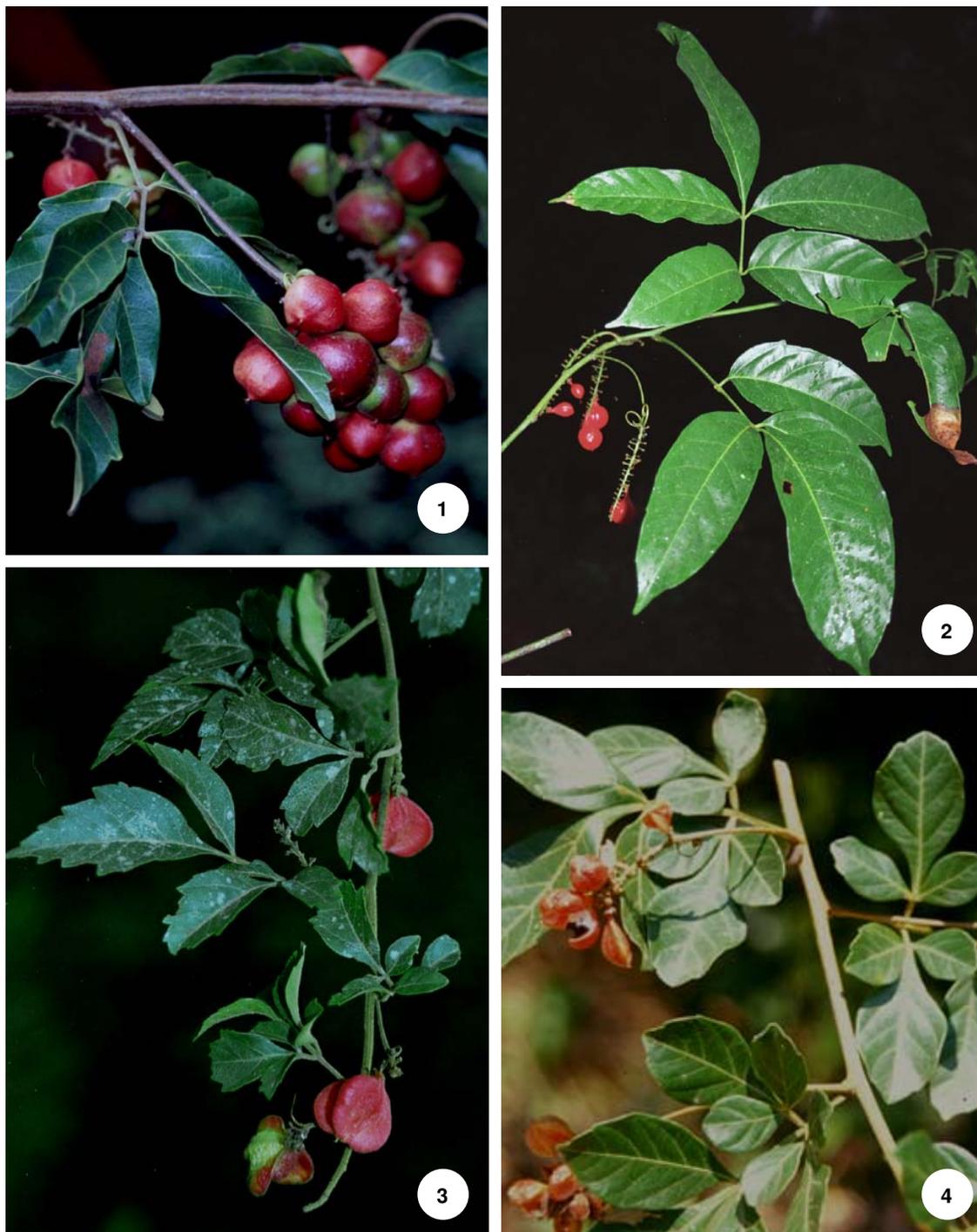
Distribuição: a espécie distribui-se desde o Caribe até o sul da América do Sul. No Brasil ocorre nos estados do Pará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

Tabela 2. Lista de espécies de *Paullinia* L. coletadas e examinadas para os estudos morfo-anatômicos e de ontogenia. Apresenta-se informação dos dados de coleta, número de coleção, localidade e fase reprodutiva. O material foi depositado no Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC).

Seção*	Taxa	Local de coleta	Data	Voucher	Fase**
I	<i>Paullinia elegans</i> Cambess.	SP. Campinas. Guará.	16/04/05	Obando 289	Fr, Se
I	<i>Paullinia spicata</i> Benth.	RJ. Paraty. São Gonzalo.	29/09/05	Obando 313	Fr, Se
III	<i>Paullinia cupana</i> Kunth	SP. Piracicaba. Esalq.	12/05/05	Urdampilleta 275	Fr, Se
IV	<i>Paullinia carpopodea</i> Cambess.	SP. Estrada a Iguapi	10/09/05	Obando 297	Fr, Se
XII	<i>Paullinia meliaefolia</i> A.L. Juss.	SP. Brotas	30/05/05	Urdampilleta 277	Fr, Se
XIII	<i>Paullinia coriacea</i> Casar.	SP. PESH. Praia Fazenda	29/09/05	Obando 313	Fr, Se
XIII	<i>Paullinia cristata</i> Radlk.	PR. Estr a Guaraqueçaba	11/09/05	Obando 300	Fr, Se
XIII	<i>Paullinia racemosa</i> Wawra	RJ. Praia de Grumari	20/07/05	Ribeiro Costa 593	Fr, Se
XIII	<i>Paullinia trigonia</i> Vell.	SP. PESH. Praia Fazenda	05/05/05	Obando 292	Fr-Se
		SP. PESH. Praia Fazenda	28/02/06	Obando 317	Bf, F, Fr- Im, Se- Im

* Seções estabelecidas por Radlkofer (1931–1934). Os números das seções seguem os critérios de Radlkofer. Seção I. *Neurotoechus*; Seção III. *Pleurotoechus*; Seção IV. *Pachytoechus*; Seção XII. *Caloptilon*; Seção XIII. *Phygoptilon*.

** Fase reprodutiva do material coletado: Bf: Botões florais, F: Flores em pré-antese, antese e pós-antese, flores estaminadas e pistiladas, Fr: Frutos maduros, Fr-Im: Frutos em diversas fases de maturidade, Se: semente madura, Se-Im: Sementes em diversas fases de maturidade.



Figuras 1 – 4. Hábito das espécies de *Paullinia* em ambiente natural. **1.** *P. elegans* (Obando, 289, UEC). **2.** *P. spicata* (Obando, 313, UEC). **3.** *P. cristata* (Obando, 300, UEC). **4.** *P. trigonia* (Obando, 292, UEC).

4. Referências Bibliográficas

- Acevedo–Rodríguez, P. 1990. The occurrence of Piscides and Stupefactants in the Plant Kingdom. *Advances in Economic Botany*. 8: 1 – 23.
- Acevedo–Rodríguez, P. 1991. *Serjania lancistipula* (Sapindaceae), a new species from Bahia, Brazil. *Brittonia*, 43 (3): 165 – 167.
- Acevedo–Rodríguez, P. 1993. Systematics of *Serjania* (Sapindaceae). Part I: A revision of *Serjania* Sect. *Platycoccus*. The New York Botanical Garden. Bronx, New York. 94 p.
- Acevedo–Rodríguez, P. 1998. *Paullinia lingulata* (Sapindaceae), a new species from French Guiana. *Brittonia*. 50 (4): 514 – 516.
- Acevedo–Rodríguez, P. 2002. Sapindaceae. Guide to the Vascular Plants of Central French Guiana, Part 2, Dicotyledons. Mori, Scott A., Georges Cremers, Carol A. Gracie, Jean – Jacques de Granville, Scott V. Heald, Michel Hoff, and John D. Mitchell (eds.). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 76 (2): 658 – 661.
- Acevedo–Rodríguez, P. 2003. *Bejucos y Plantas Trepadoras de Puerto Rico e Islas Vírgenes*. Smithsonian Institution. Washington, DC. 491 p.
- Acevedo-Rodríguez, P., P. Van Welzen, F. Adema & R. W. J. M. van der Ham (in prep.). Sapindaceae in Kubitzki et al. (ed.) *Family and genera of flowering plants*. Springer, Verlag.
- Almeida-Ferraz, C. L. 1980. *Paullinia weinmanniaefolia* Mart. (Sapindaceae). Morfologia externa e anatomia foliar. Tese Mestrado em Ciências Biológicas (Botânica). Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ. Rio de Janeiro.
- Almeida–Ferraz, C. L. & Gonzalves Costa. 1985. *Paullinia carpopodea* Cambess. (Sapindaceae). *Anatomia foliar*. *Rodriguésia*. 37 (62): 79 – 90.
- APG II (Angiosperm Phylogeny Group II). 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 141: 399 – 436.

- Areia, C.A. 1966. Anatomia da folha do guaraná: *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Duke (Sapindaceae). *Rodriguesia*. 25 (37): 297 – 312.
- Areia, C.A. 1971. Alguns aspectos da parede celular em estrutura fina: *Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Duke (Sapindaceae). *Rodriguesia*. 26 (33): 103 – 112.
- Avato, P., Pesante, M.A., Fanizzi, F.P., & Santos, C.A. 2003. Seed oil composition of *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke. *Lipids*. 38 (7): 773 – 780.
- Barroso, G. M. 1984. Sistemática de Angiospermas do Brasil. Viçosa. Imprensa Universitária. Vol. 2. pp. 252 – 257.
- Barroso, G. M., Morim, M.P.; Peixoto, A. L. & Ichaso, C.L.F. 1999. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa, Imprensa Universitária (UFV).
- Beck, H. T. 1990. A survey of the useful species of *Paullinia* L. (Sapindaceae). *Advances in Economic Botany*. 8: 41 – 56.
- Beck, H. T. 1991. The taxonomy and economic botany of the cultivated 'guaraná' and its wild relatives and the generic limits within the Paullinieae (Sapindaceae). PhD thesis. Vol. I and II. City University of the New York. 551 p.
- Benoni, H., Dallakian, P. & Taraz, K. 1996. Studies on the essential oil from guarana. *Z Lebensm Unters Forsch*. 203 (1): 95 – 98.
- Bhatnagar, S.P. & Johri, B. M. 1972. Development of angiosperm seeds. In: Kozlowski, T.T. (ed.), *Seed Biology*, Vol. 1. Acad. Press, New York - London, pp. 77 –150.
- Boesewinkel, F. D. & Bouman, F. 1984. The Seed: Structure. In: Johri, B. M. *Embriology of Angiosperms*. Berlin: Springer – Verlag. Pp. 567 – 610.
- Corner, E. J. H. 1976. Sapindaceae. In: Corner, E.J.H., ed. *The seeds of dicotyledons*. Cambridge: Cambridge University Press. Pp. 238 – 248.

- Croat, T.B. 1976. Family 108. Sapindaceae. In Flora of Panamá. (R.E. Woodson Jr., R.W. Schery and Colaborators). Ann. Missouri. Bot. Gard. 63 (3): 509 – 522.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. The New York Botanical Garden. Columbia University Press. New York. 1262 p.
- Cronquist, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants, 2nd ed. New York. The New York Botanical Garden.
- Cruz, M. A. V. & Melhem, T. S. 1984. Estudos polínicos em Sapindaceae. Revta. Brasil. Bot. 7: 5 – 25.
- Ducke, A. 1937. Diversidade dos guaranáis. Rodriguésia. 10: 155 – 156.
- Escobar, J. R. Correa, M. P. F. & Aguilera, F. P. 1984. Estruturas florais, floração e técnicas para a polinização controlada do Guaranizeiro. Pesq. Agropec. Bras. 19 (5): 615 – 622.
- Ferrucci, M. S. 1991. Sapindaceae. En: R. Spichiger & L. Ramella (eds.) Flora del Paraguay. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève – Missouri Botanical Garden. 1 – 144.
- Ferrucci, M. S. 1998. Sapindaceae. Flora Fanerogámica Argentina. Fasciculo 52. Córdoba. 45 p.
- Ferrucci, M. S. 2000. Cytotaxonomy of Sapindaceae with special reference to the Tribe Paullinieae. Genet. Mol. Biol. 23 (4): 941 – 946.
- Ferrucci, M. S. & Solís Neffa, V. G. 1997. Citotaxonomía de Sapindaceae sudamericanas. Bol. Soc. Argent. Bot. 33 (1 – 2): 77 – 83.
- Gadek, P. A., Fernando, E. S., Quinn, C. J., Hoot, S. B., Terrazas, T., Sheahan, M. C. & Chase, M. W. 1996. Sapindales: molecular delimitation and infraordinal groups. American Journal of Botany. 83 (6): 802 – 811.

- Gereau, R. E. 1993. Sapindaceae. Pp 1059 – 1068. *In*: L. Brako & J. L. Zarucchi (editors). Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of Peru. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 45.
- Gondim, C. J. E. 1984. Alguns aspectos da biologia reprodutiva do guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) – Sapindaceae. Acta Amaz. 14 (1-2): 9 – 38.
- Guarim Neto, G. 1996. Ocorrência e distribuição da família Sapindaceae Jussieu nos estados de Mato Grosso, Goiás e Tocantins. Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi, ser. Bot. 12 (2): 227 – 236.
- Guarim Neto, G. 2000. Notas etnobotânicas de espécies de Sapindaceae Jussieu. Acta bot. bras. 14 (3): 327 – 334.
- Gunn, C. R.; Wiersema, J. H., Ritchie, C. A. & Kirkbride, J. H. 1992. Families and Genera of Spermatophytes recognized by the Agricultural Research Service. Technical Bulletin. Number 1796. Agricultural Research Service. United States Department of Agriculture. Pp 276 - 278.
- Harrington, M. G., Edwards, K. J., Johnson, S. A. , Chase, M. W. & Gadek, P. A. 2005. Phylogenetic inference in Sapindaceae sensu lato using plastid *matK* and *rbcL* DNA sequences. Systematic Botany. 30 (2): 366 – 382.
- Jørgensen, P.M. 1999. Sapindaceae, Pp. 882 – 888. *In*: P.M. Jørgensen & S. León-Yáñez (eds.). Catalogue of the vascular plants of Ecuador. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 75.
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F. 2002. Plant systematics, a phylogenetic approach. Sunderland, MA: Sinauer Associates. Pp 410 – 421.
- Kapil, R. N., Bor, J. & Bouman, F. 1980. Seed appendages in Angiosperms. Bot. Jahrb. Syst. 101 (4): 555 – 573.

- Lleras, E. 1994. Species of *Paullinia* with economic potential. Neglected Crops: 1492 from a different perspective. J. E. Hernando Bermejo and J. León (eds.). Plant Production and Protection Series No. 26. FAO, Rome, Italy. Pp. 223 – 228.
- Macbride, J. F. 1956. Sapindaceae, in Flora of Perú. Field. Mus. Nat. Hist., Bot. Ser., 13 (Part III A, No.2), pp 291 – 391 (for *Paullinia*, pp. 325 – 361).
- Medri, M. E., Lleras, E. & Valois, A. C. 1980. Comparação anatômica entre folhas diplóides e poliplóides do Guaraná (*Paullinia cupana* var *sorbilis* (Mart.) Ducke). Acta Amazônica. 10 (2): 283 – 288.
- Mendonça, M. S., Noda, H. & Corrêa, M. P. F. 1992. Aspectos morfológicos da semente e da germinação do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke). Rev. U. A. Série: Ciências Agrárias, 1 (2): 71 – 82.
- Metcalfe, C. R. & Chalk, L. 1983. Anatomy of dicotyledons. Vol 2. Second Edition. Clarendon Press, Oxford.
- Meuer–Grimes, B., Berkov, A & Beck, H. 1998. Theobromine, theophylline and caffeine in 42 samples and products of Guarana (*Paullinia cupana*, Sapindaceae). Economy Botany. 52 (3): 293 – 301.
- Milanez, F. R. 1959. Anatomia do fruto do guaraná. Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro. 16: 57 – 100.
- Morales, J. F. 1996. Three new taxa for the Flora of Costa Rica. Phytologia. 81 (5): 361 – 364.
- Moreira Filho et al. 1975. Observações sobre polinização controlada em guaraná. Inf. Tec. ACAR – AM. 3 (12): 8 – 10.
- Niembro, A. 1988. Semillas de árboles y arbustos. Ontogenia y Estructura. Editorial Limusa. México, D.F. 285 p.

- Obando, S., Bernal, R. & Acevedo – Rodríguez, P. 2004. *Paullinia trifoliolata* (Sapindaceae) una nueva especie de los Andes de Colombia. *Caldasia*. 26 (1): 61 – 64.
- Oliveira, C., Iacomini, M., Alquini, Y. & Gorin, P. 2001. Microscopic and NMR analysis of the external coat from seeds of *Magonia pubescens*. *New Phytologist*. 152: 501 – 509.
- Radlkofer, L. 1892–1900. Sapindaceae. In: V. Martius (ed.), *Flora Brasiliensis*. Volumen XIII. Pars III. 345 – 414.
- Radlkofer, L. 1931–1934. Sapindaceae. In: A. Engler (ed.), *Das Pflanzenreich IV*, 165 (Heft 98a-h). Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig. 219 - 352.
- Reitz, R. 1980. Sapindáceas. *Flora Ilustrada Catarinense*. Itajaí, Santa Catarina. 156 p.
- Robbins, L. 2001. Sapindaceae. Pp. 2307 – 2332. In: Stevens, W. D.; Ulloa Ulloa, C; Pool, A.; Montiel, O. M. (Eds.). *Flora de Nicaragua: Angiospermas (Pandaceae – Zygophyllaceae)*. Tomo III. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, Missouri.
- Roth, I. 1977. *Fruits of Angiosperms: Encyclopedia of Plant Anatomy*. Berlin: Gebruder Borntraeger.
- Simpson, D. R. 1976. A partial revision of *Paullinia* (Sapindaceae) for Ecuador, Peru, and Bolivia. Part. I. *Fieldiana Botany*. 26 (12): 125 – 164.
- Solereder, H. 1908. *Systematic anatomy of dicotyledons*. Translated by L. A. Boodle & F. E. Fritsch.) Vol. 1. Clarendon Press, Oxford.
- Solís Neffa, V. G. & Ferrucci, M. S. 1997. Cariotipos de especies Sudamericanas de *Serjania* (Sapindaceae, Paullinieae). *Bonplandia*. 9 (3 – 4): 265 – 276.
- Solís Neffa, V. G. & Ferrucci, M. S. 1998. Cariotipos de Sapindaceae Sudamericanas Bol. Soc. Argent. Bot. 33 (3 – 4): 185 – 190.

- Solís Neffa, V. G. & Ferrucci, M. S. 2001. Karyotype analyses of some Paullinieae species (Sapindaceae). *Caryologia*. 54: 371 – 376.
- Soltis, D. E., Soltis, P. S., Chase, M. W., Mort, M. E., Albach, D. C., Zanis, M., Savolainen, V., Hahn, W. H., Hoot, S. B., Fay, M. F., Axtell, M., Swensen, S. M., Prince, L. M., Kress, W. J., Nixon, K. C. & Farris, J. S. 2000. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, *rbcL*, and *atpB* sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 133: 381 – 461.
- Somner, G. V. 2001. *Paullinia* L. (Sapindaceae): Morfología, taxonomia e revisão de *Paullinia* sect. *Phygoptilon*. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo.
- Spjut, R.W. 1994. A systematic treatment of fruit types. *Memoirs of the New York Botanical Garden*. 70: 1 – 184.
- Urdampilleta, J. D. 2005. Estudo citogenético em Paullinieae (Sapindaceae). Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Londrina. Londrina.
- Valente, M. C., Silva, N. M. F. & Baumgratz, J. F. A 1984. A nervação foliar das Sapindáceas do Estado do Rio de Janeiro. I. Gêneros *Paullinia* L. e *Thinouia* Planch. et Triana. *Rodriguesia*. 36 (60): 17 – 22.
- van der Pijl. 1955. Sarcotesta, aril, pulpa and the evolution of the angiosperm fruit. I. *Proc. K. Ned. Akad. Wet, Ser. C*. 58: 154 – 161.
- van der Pijl, L. 1957. On the arilloids of *Nephelium*, *Euphoria*, *Litchi* and *Aesculus*, and the seeds of Sapindaceae in general. *Acta Botanica Neerlandica*. 6: 618 – 641.
- van der Pijl, L. 1982. Principles of dispersal in higher plants. New York: Springer – Verlag. Pp 138 – 143.
- Vásquez, R. 1997. Sapindaceae. Pp: 646 – 660. *Flórula de las Reservas Biológicas de Iquitos, Perú*. Monographs in Systematic Botany. Vol. 63. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, Missouri. 1046 pp.

- Weckerle, C. S. & Reynel, C. 2003. An overview of the subspecies of *Paullinia obovata* (Sapindaceae - Paullinieae) in Peru. *Novon*. 13: 145 – 152.
- Weckerle, C. S., & Rutishauser, R. 2005. Gynoecium, fruit and seed structure of Paullinieae (Sapindaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 147: 159 – 189.
- Weckerle, C. S., Stutz, M. A. & Baumann, T. W. 2003. Purine alkaloids in *Paullinia*. *Phytochemistry*. 64 (3): 735 – 742.
- Werker, E. 1997. *Seed Anatomy*. Berlin. 424 p.
- Zavaleta, H., Hernández M., Cuevas, J. & Engleman, M. 2003. Anatomía de la semilla de *Cupania dentata* (Sapindaceae) con énfasis en la semilla madura. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica*. 74 (1): 17 – 29.



Capítulo 1

**Ontogênese da estrutura carnosa da semente de
Paullinia trigonia Vell. (Sapindaceae)**

RESUMO

A ontogênese da estrutura carnosa foi estudada em *Paullinia trigonia* Vell. (Sapindaceae). O material de estudo constou de botões, flores em pré-antese, antese, pós-antese e frutos e sementes jovens e imaturos. Os indivíduos da espécie foram coletados em área de restinga no Parque Estadual da Serra do Mar no Estado de São Paulo. O material coletado foi fixado em FAA (Johansen 1940), mantido em bomba de vácuo por 24 horas e estocado em álcool etílico 70%. Óvulos e sementes em diferentes estádios de maturação foram incluídos em resina plástica e seccionados em cortes transversais e longitudinais (entre 8 – 10 μm) em micrótomo rotativo com navalha de aço e distendido sobre lâminas. As secções foram coradas com Azul de Toluidina 0.05% em tampão acetato. O tegumento externo participa da formação da estrutura carnosa em duas regiões da semente: na porção basal da rafe e na área próxima da micrópila. O funículo não contribui na formação da estrutura carnosa. A estrutura carnosa presente em *P. trigonia* foi denominada sarcotesta e o termo arilo como tem sido descrito não foi usado. Aspectos relacionados com o desenvolvimento da sarcotesta, da flor estaminada e pistilada, estames, gineceu, ovário, funículo e obturador são comparados e discutidos com vários representantes de *Paullinia* e outras espécies da família Sapindaceae.

Palavras-Chave: Sapindaceae, *Paullinia*, ontogenia, sarcotesta, arilo, tegumento externo, funículo.

ABSTRACT

This work describes the ontogeny of the fleshy structure in *Paullinia trigonia* Vell. (Sapindaceae). The studied material consisted in floral buds, flowers in pre-anthesis, anthesis and post-anthesis and juvenile an immature fruits and seeds. The individuals of the species were collected in an area of restinga in the Parque Estadual de la Sierra del Mar, at São Paulo state. The collected material was fixed in FAA (Johansen 1940), maintained in a vacuum chamber for 24 hours and stored in 70% ethylic alcohol. Ovules and seeds in different status of maturity were included in plastic resin and sectioned in cross and longitudinal sections (between 8 - 10 μ m) in a rotating microtomo with steel knife and extended on layers. The sections were stained with toluidine blue 0.05% in acetate tampon. The outer integument participates in the formation of the fleshy structure in two region of the seed: in the basal portion of the raphe and in the area near the micropyle. The funicle does not contribute in the formation of the fleshy structure. We denominated this structure as sarcotesta. The term aril referring to this white structure is not used in our work. Aspects relating to the development of the sarcotesta, of the staminate and pistilate flowers, stamens, gynoecia, ovary, funicle and obturator are compared and discussed with other representatives of the genus and the Sapindaceae family.

Keywords: Sapindaceae, *Paullinia*, ontogeny, sarcotesta, aril, outer tegument, funicle.

Introdução

Nas sementes podem ser encontrados diversos tipos de apêndices ou estruturas especiais. Kapil et al. (1980) caracterizaram cinco categorias básicas: arilos, alas, pêlos, opérculos e ejaculadores. A estrutura acessória que mais tem provocado controvérsias e divergência de opinião é a referida como arilo. Kapil et al. (1980) sugeriram que a controvérsia se deve em parte à heterogeneidade que apresenta o arilo em forma, tamanho e vias de desenvolvimento.

A história de tais conceitos divergentes foi revisada em detalhe por Bhatnagar & Johri (1972), Corner (1976) e Kapil et al. (1980). Sampaio (1926) além da história conceitual, apresenta uma reunião de numerosos exemplos de plantas ariladas na Flora Brasileira.

Os arilos foram classificados de acordo com a origem e também a posição, estrutura e/ou considerações ecológicas (Planchon 1845, Baillon 1876, Pfeiffer 1891, Sernander 1906, van der Pijl 1972, apud Werker 1997). Os termos “arilo”, “arilódio” (arillode), “arilóide” (arilloid), “estrofíolo”, “carúncula”, entre outros, foram usados num sentido estrito ou amplo, pelos diferentes autores.

Os termos arilo, arilódio, arilóide e sarcotesta constituem centro de discussão desde o século passado. Gaertner *apud* Kapil & Bouman (1980) definiram o arilo pela primeira vez como uma estrutura acessória do tegumento. Kapil & Bouman (1980) propuseram o termo arilo funicular ou arilo localizado e rejeitaram o uso dos termos arilóide, arilódio, falso arilo, arilo hilar, entre outros. Boesewinkel & Bouman (1984) referiram – se como sarcotestas aos apêndices carnosos comestíveis que envolvem as sementes. Para Corner (1976) sarcotesta e arilo são estruturas diferentes, o autor usou o termo geral de arilo para as estruturas polposas, as quais crescem de alguma parte do óvulo ou funículo depois da fertilização, que cobre parcial ou totalmente a semente. van der Pijl (1972) classificou a porção carnosa das sementes dependendo da sua localização. Nas formas de transição variáveis desde sarcotesta até o arilo, denominou de arilódio completo, arilódio parcial, estrofíolo e carúncula.

Para evitar confusões, e quando não se conhece a origem da estrutura, se adota o termo geral de ‘arilo’ para crescimentos carnosos que são produzidos em certas regiões superficiais da semente, e de ‘sarcotesta’ para camadas carnosas que são produzidas em toda ou parte da superfície das camadas tegumentárias da semente (Corner 1976, Niembro, 1988, Werker 1997).

No que se refere às estruturas carnosas, tanto nas sementes de *Paullinia* e demais gêneros de Sapindácea, assim como em outras famílias de angiospermas com presença desses apêndices, ainda existem poucos estudos sobre sua ontogenia, e persistem as inconsistências e discussões na aplicação dos termos para denominá-las e compreender melhor sua formação e processos de desenvolvimento.

Os trabalhos de Corner (1953, 1976), Steyn & Robbertse (1992), van der Pijl (1955, 1957, 1982), Mathur & Gulati (1989), Weckerle & Rutishauser (2005), são importantes porque além de reportar ou descrever a ontogenia de estruturas carnosas em Sapindaceae, oferecem perspectivas e interpretações da sua origem e desenvolvimento neste grupo de plantas. Apesar de serem opiniões às vezes discrepantes e contrárias, são deduções e discussões relevantes para começar o entendimento do que acontece neste grupo de plantas. Várias famílias de angiospermas desenvolvem no mesmo órgão uma estrutura de natureza diversa, complexa e não homóloga, mesmo em espécies com parentesco relacionado e próximo no nível infragenérico. Maior ênfase nas estruturas de sementes de grupos como Sapindaceae, que apresentam sementes ariladas, sarcotestais e não ariladas, entre outras variações estruturais, ajudariam a esclarecer questões relacionadas com a morfologia e sistemática de um grupo neotropical bem importante.

Kapil et al. (1980) destacaram que pouca ou nenhuma atenção é dada à origem e ao desenvolvimento das estruturas acessórias que são encontradas nas sementes. Os autores mencionam que existe uma ampla literatura a respeito; entretanto, os estudos são feitos principalmente em estádios maduros, o que causa uma proliferação de termos morfológicos ou uso inapropriado dos mesmos. As observações ontogenéticas que estão disponíveis são pouco detalhadas e dificilmente conhecidas a respeito das formas iniciais de apêndices tipo arilo.

O entendimento mais profundo da iniciação e ontogenia da estrutura carnosa em *Paullinia* resultaria em uma interpretação melhor das relações sistemáticas e filogenéticas dessas estruturas, finalmente conduzidas a uma terminologia mais apropriada e uma utilização melhor dessas características em considerações taxonômicas.

Considerando o exposto e visando uma compreensão da origem da estrutura carnosa em *Paullinia* este trabalho tem como objetivo principal estudar a estrutura carnosa e sua ontogênese na semente de *Paullinia trigonia* Vell.

Material e Métodos

Coleta do material

Na fase inicial da pesquisa foi revisado o material existente de *Paullinia* no Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC). As informações disponíveis nas etiquetas foram consultadas para determinar os locais possíveis de coleta e as datas de floração e frutificação das espécies.

Foram feitas viagens periódicas a diversas regiões do sudeste do Brasil, principalmente, no Estado de São Paulo e Estados próximos, como Rio de Janeiro e Paraná, para procurar e coletar indivíduos do gênero *Paullinia* em floração e frutificação.

Desde o início do trabalho optou-se por estudar material obtido diretamente no campo. Não se usou a reidratação de materiais herborizados, evitando trabalhar só com fragmentos de órgãos dissecados, com material incompleto ou deformado pela secagem.

Durante a fase de campo encontrou-se apenas uma espécie, *Paullinia trigonia* Vell, em diversos estádios reprodutivos: botão floral, flor em pré-antese, antese, pós-antese e frutos jovens e imaturos (Figs. 1 e 2). Os frutos e sementes maduros foram coletados em viagens anteriores (Fig. 3), a maioria bastante danificado por larvas de insetos.

As amostras foram coletadas em área de restinga. A informação aparece com as seguintes especificações: *Paullinia trigonia* Vell: Brasil. São Paulo: Ubatuba, Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, na Praia da Fazenda, 28/11/2006, *Obando et al.* 292.

O material testemunha, fértil, foi herborizado seguindo as normas botânicas convencionais. A identificação dos indivíduos foi realizada pela própria pesquisadora. As exsiccatas do material foram depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC) e as duplicatas serão distribuídas aos diferentes herbários do Brasil.

Metodologia

O material coletado foi fixado em FAA (Johansen 1940), mantido em bomba de vácuo por 24 horas e estocado em álcool etílico 70%.

Óvulos e sementes em diferentes estádios de maturação (Figs. 4 e 5) foram incluídos em resina plástica (Historesin Leica) seguindo-se a técnica de Gerrits & Smid (1983) e orientações do fabricante. Foram feitas inclusões de sementes até 2 mm de comprimento, quando é evidente a formação da estrutura carnosa (Figs. 5).



Figuras 1 – 3. Fases de desenvolvimento de *Paullinia trigonia* (Obando 317, UEC). **1.** **a** Flor em pré-antese. **b.** Gineceu de flor em antese, sépalas e pétalas retiradas. **c.** Gineceu em pós-antese. **d.** Fruto em estágio inicial. **2.** Frutos jovens. **3.** Frutos maduros deiscentes e sementes maduras. Barra: 1 cm.

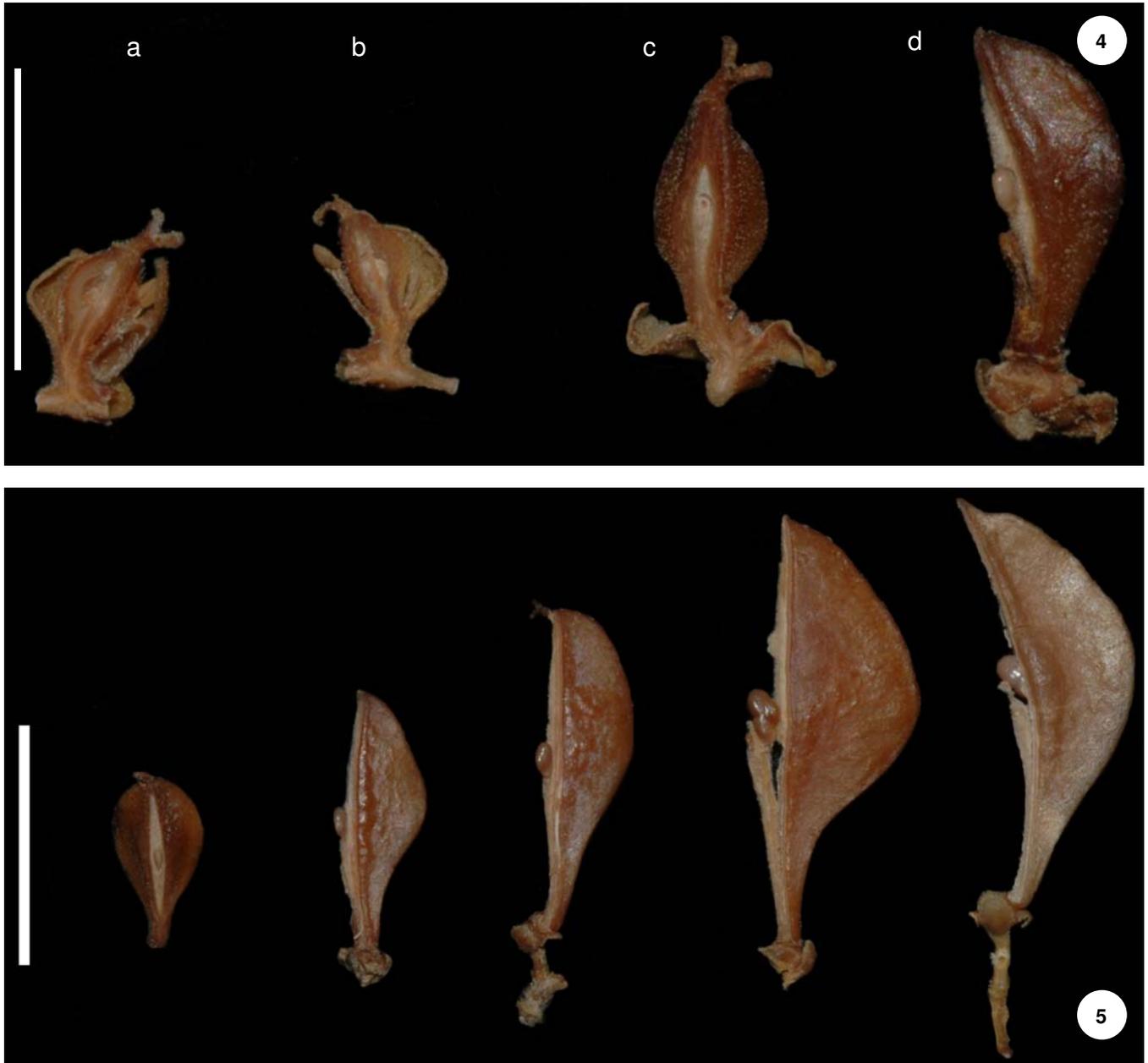


Figura 4. Flores e frutos em diversas fases de desenvolvimento de *Paullinia trigonia* (Obando 317, UEC), seções longitudinais. **a** Flor em pré-antese. **b**. Gineceu da flor em antese. **c**. Gineceu em pós-antese. **d**. Fruto em estádios iniciais. Barra: 5 mm. **Figura 5.** Frutos e sementes jovens em diversas fases de desenvolvimento. Barra: 1 cm.

Também foram feitas inclusões de flores estaminadas e pistiladas em antese para observação do gineceu e androceu e de suas diferenças morfológicas. Devido às dificuldades na infiltração, cortes e distensão do material, após este ter sido colocado na solução de resina, foi mantido em bomba de vácuo por 24 horas para melhorar os processos de pré-infiltração e infiltração. Os materiais permaneceram por uma semana em cada solução.

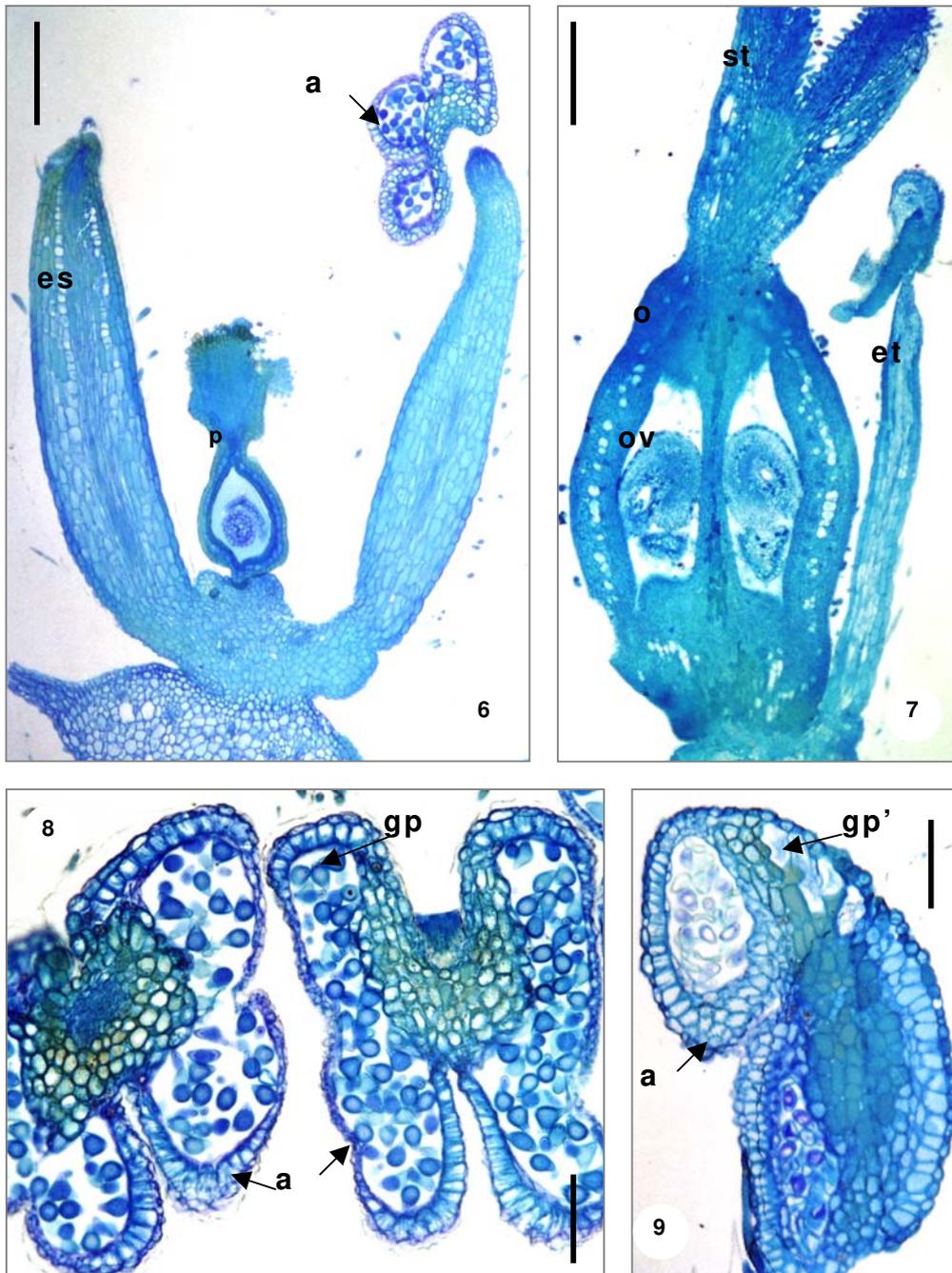
O material foi seccionado em cortes transversais e longitudinais (entre 8 – 10 μm) em micrótomo rotativo com navalha de aço, posteriormente distendido sobre lâminas. As seções foram coradas com Azul de Toluidina 0.05% em tampão acetato (O'Brien et al. 1964). O tempo da coloração com Azul de Toluidina foi de 3 a 4 minutos, seguida de lavagem em água por 1 minuto. Finalmente foram montadas em preparações para observação e fotodocumentação. As laminas foram fotografadas com equipamento fotográfico acoplado ao microscópio óptico Olympus BX 51. As escalas foram obtidas nas mesmas condições ópticas. O laminário foi depositado no laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica, IB - Unicamp.

Resultados

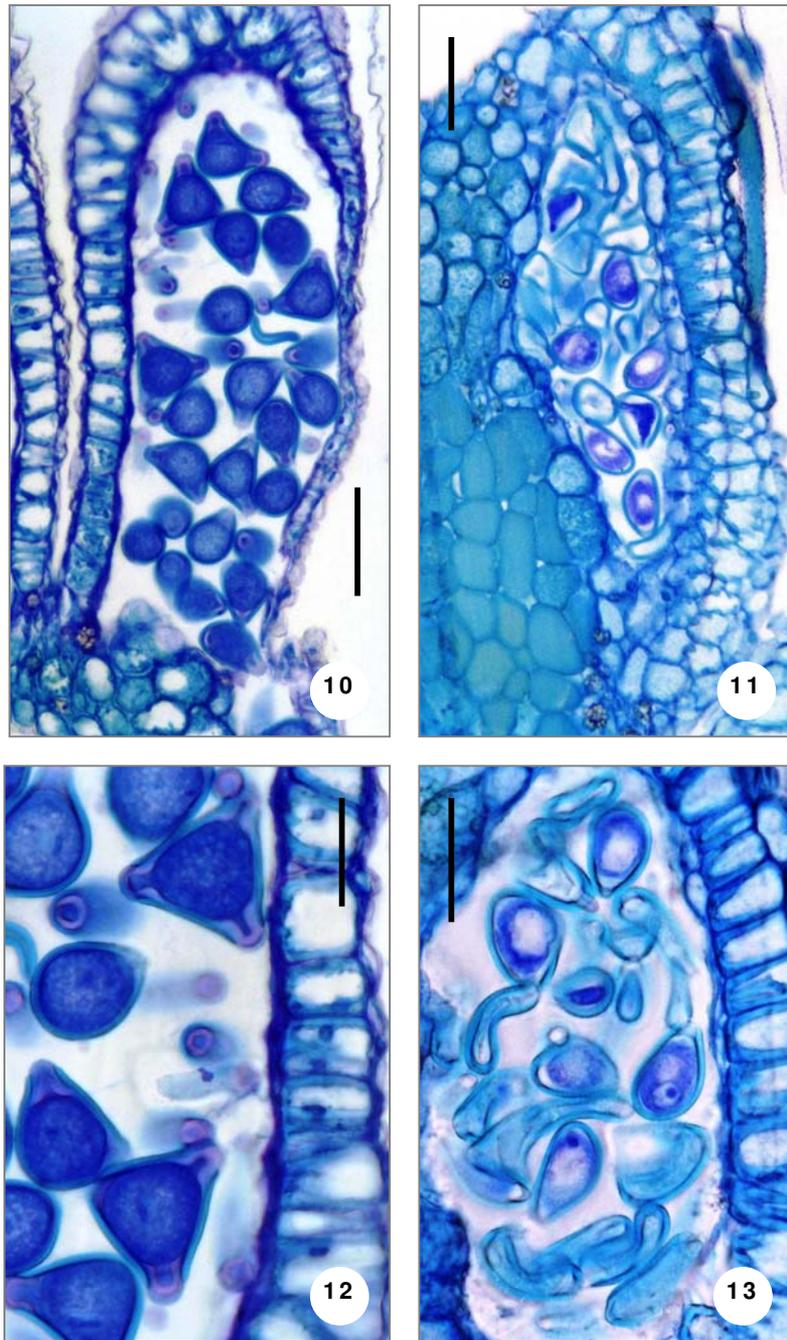
As flores estaminadas e pistiladas de *Paullinia trigonia* medem de 4-6 mm, são brancas, com quatro sépalas, quatro pétalas, dois nectários superiores e dois laterais menores. Desde fases anteriores à antese é notória a diferenciação das flores estaminadas e pistiladas, sendo difícil distingui-las em botões florais em estádios iniciais de formação.

Na flor estaminada, o gineceu rudimentar, ou pistilódio, de 0,5 mm de comprimento, com os óvulos totalmente atrofiados, é menor em tamanho em comparação aos estames funcionais localizados na mesma flor (Fig. 6). Na flor pistilada, o ovário súpero, de 1,5 – 3 mm, é funcional pela formação de óvulos viáveis, de aproximadamente 0,3 mm. O gineceu ultrapassa em tamanho os estaminódios na mesma flor, e é notavelmente maior do que o pistilódio da flor estaminada. O ovário é sincárpico, tricarpelar, trilocular e a placentação é axilar. Cada óvulo está inserido na metade basal do lóculo (Fig. 7).

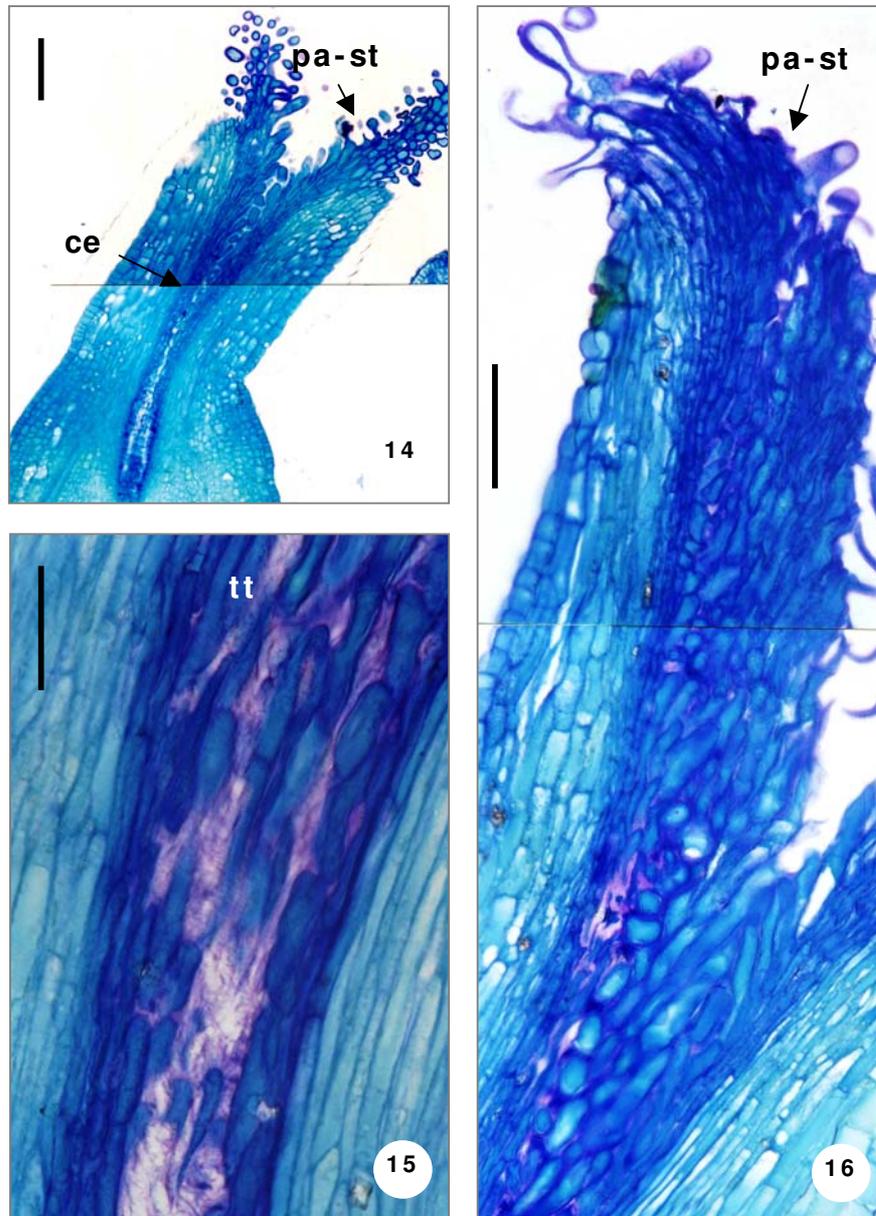
As anteras na flor estaminada apresentaram grande quantidade de grãos de pólen viáveis (Figs. 8 e 10), do tipo triporado isopolar (Fig. 12). Nos estames estéreis, de morfologia similar aos estames funcionais, as anteras contêm numerosos grãos de pólen (Figs. 9, 11).



Figuras 6 – 9. Flor estaminada e pistilada de *Paullinia trigonia*, corte longitudinal. **6.** Flor estaminada, pistilódio de 0,5 mm com óvulo atrofiado. Barra: 300 μ m. **7.** Flor pistilada com óvulos funcionais. Barra: 300 μ m. **8.** Anteras da flor estaminada. Barra: 110 μ m. **9.** Antera da flor pistilada. Barra: 80 μ m. **a** – antera, **es** – estame, **et** – estame estéril, **g** – gineceu, **gp** – grão de pólen, **gp'** – grão de pólen amorfo, **o** – ovário, **ov** – óvulo, **p** – pistilódio, **st** – estigma.



Figuras 10 – 13. Detalhe das anteras e dos grãos de pólen em *Paullinia trigonia*, seção longitudinal. **10.** Flor estaminada Barra: 40 μm **11** Flor pistilada. Barra:80 μm. **12.** Flor estaminada Barra: 20 μm. **13.** Flor pistilada. Barra:30 μm.



Figuras 14 – 16. Gineceu da flor pistilada de *Paullinia trigonia* em seção longitudinal. **14.** Visão geral do canal estilar e estigma papiloso. Barra: 110 μm . **15.** Detalhe do tecido transmissor e secreção em coloração púrpura e camadas de células ao centro do canal. **16.** Detalhe do estigma papiloso. **ce** – canal estilar, **pa-st** – papilas estigmáticas, **tt** – tecido transmissor.

A morfologia que apresenta o pólen produzido nessas anteras indica que algum evento, possivelmente mais relacionado com o tecido do tapete da antera indeiscente, ocasiona a ausência de uma última fase do desenvolvimento que influencia na forma final que apresentam os grãos de pólen (Fig. 13).

Na flor pistilada, o ovário, desde as fases iniciais de desenvolvimento, apresenta morfologia trígona, com três ângulos ou costelas longitudinais expressando antecipadamente as carenas pronunciadas do fruto maduro que em *P. trigonia* varia de forma tri-carenada a tri-alada. A região estilar é mais curta ou quase igual do que os três estigmas (Fig. 14). A superfície estigmática é densamente papilosa e secretora (Fig. 15).

O tecido transmissor forma um canal no estilete, revestido por células de citoplasma denso que secretam uma substância de coloração púrpura em reação com Azul de Toluidina, indicando possível natureza mucilagínosa (Fig. 16). O canal do tecido transmissor permanece cheio de secreção em várias fases após a antese da flor (Fig. 17). Essa secreção foi encontrada na superfície do obturador, e acumulada em quantidade significativa logo acima da região de inserção do funículo com a placenta (Figs. 17 e 19).

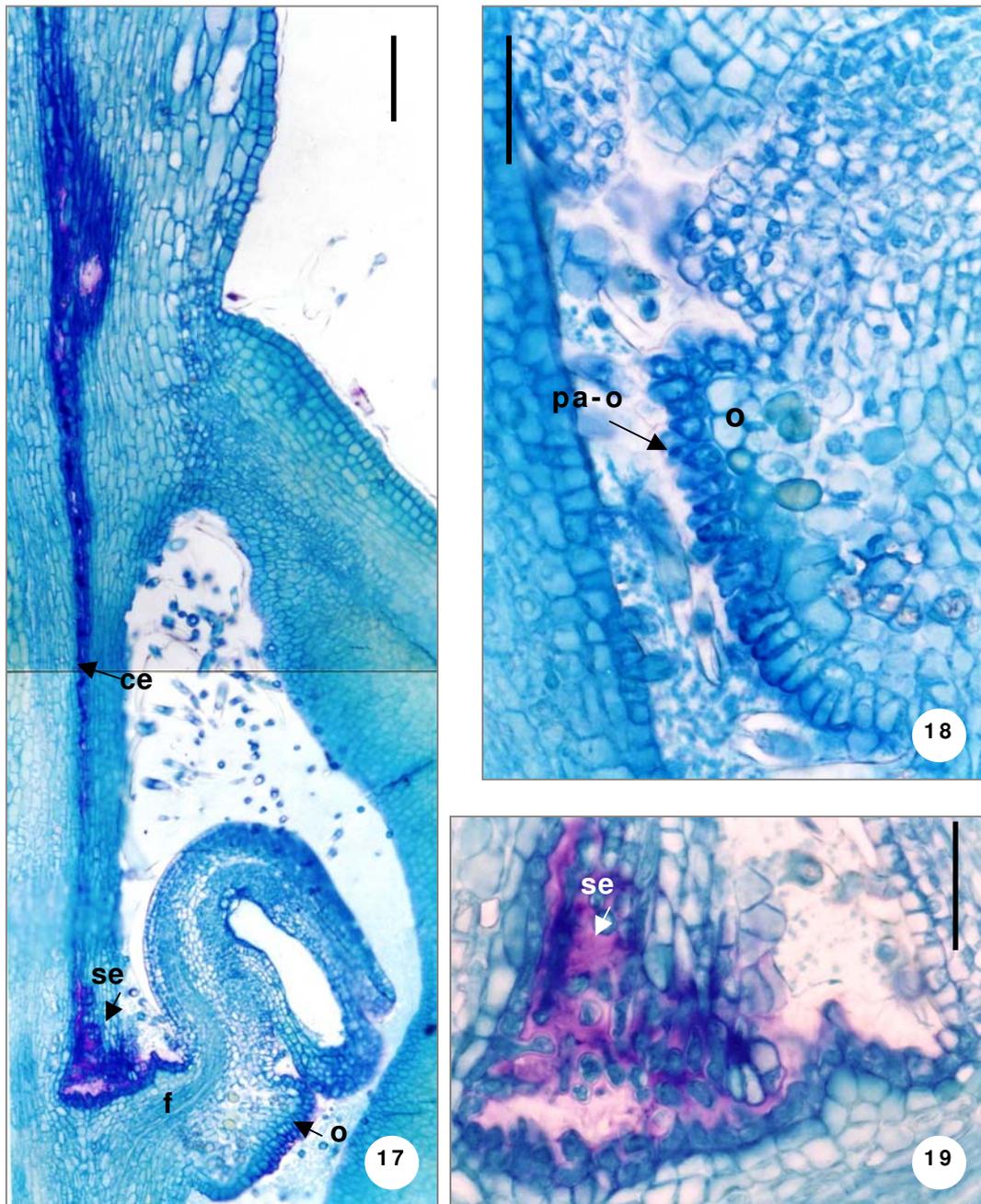
O funículo é bastante espesso, mas pode ser distinguido da placenta (Figs. 17 e 21). O obturador se forma na região do funículo, do lado micropilar, e apresenta uma superfície densamente papilosa (Figs. 17 e 18).

No interior de cada lóculo são encontrados numerosos tricomas na parede interna do ovário (Fig. 20). O tegumento do ovário apresenta numerosas células laticíferas e compostos fenólicos (Fig. 21).

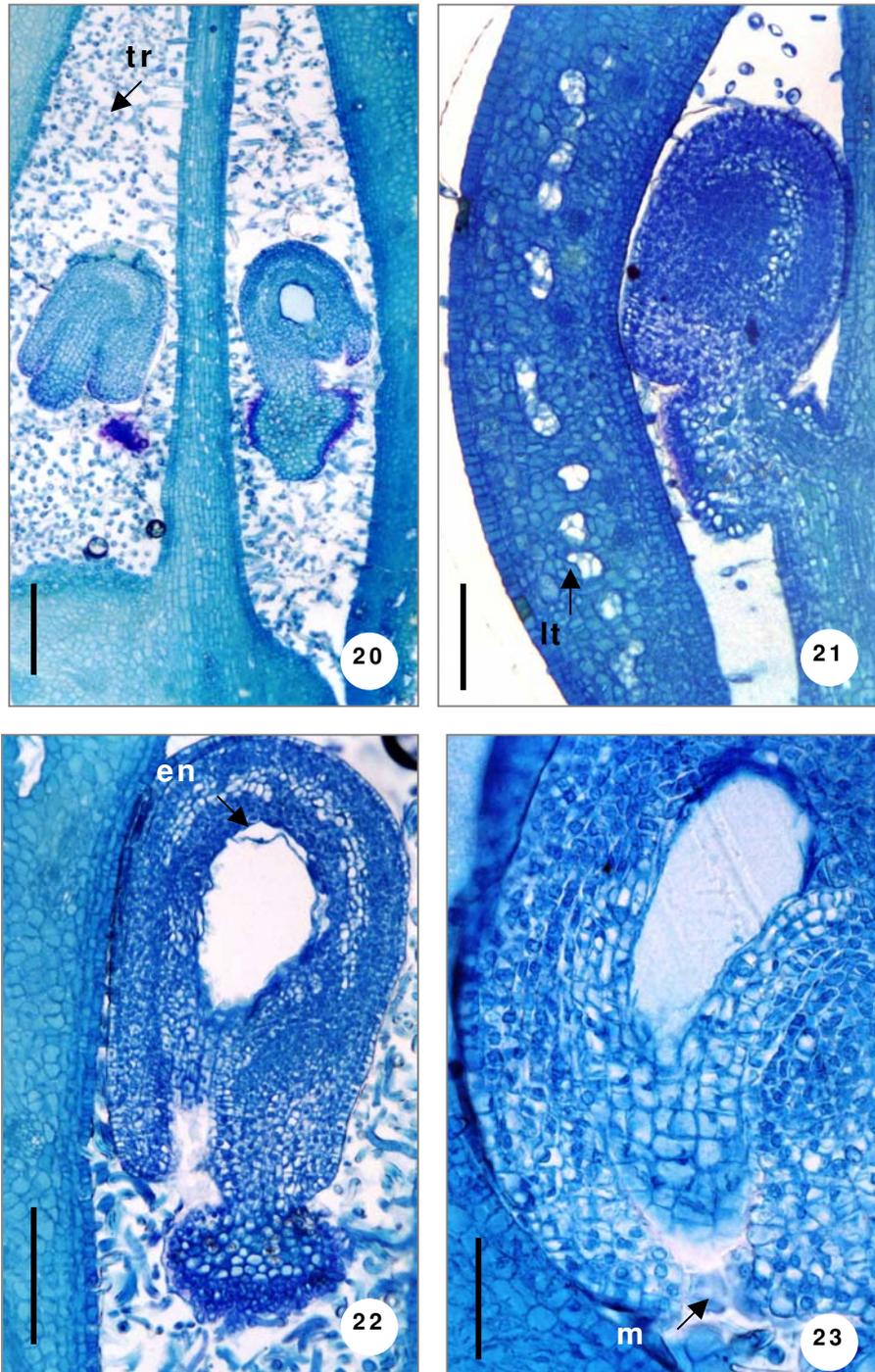
O óvulo é bitegmentado e ereto, anátropo no início do desenvolvimento e nas fases da pré-antese. Continua desse tipo, ao menos pouco tempo depois da fertilização, em flores na pós-antese (Figs. 21 e 28). Quando tem início a formação da semente, esta se torna campilótropa (Figs. 23 e 30).

O endosperma é consumido pouco depois da fertilização (Fig. 22). O feixe vascular entra no funículo e na semente até a região da calaza, aparentemente estendido como um feixe simples (Fig. 28-31). A micrópila é formada pela endóstoma, proveniente do tegumento interno (Figs. 23 e 24). Nas fases iniciais do desenvolvimento da semente é evidente que o tegumento interno constitui uma camada fina de células amassadas (Figs. 24 e 25), e por tanto o tégmen não terá nenhuma especialização mecânica.

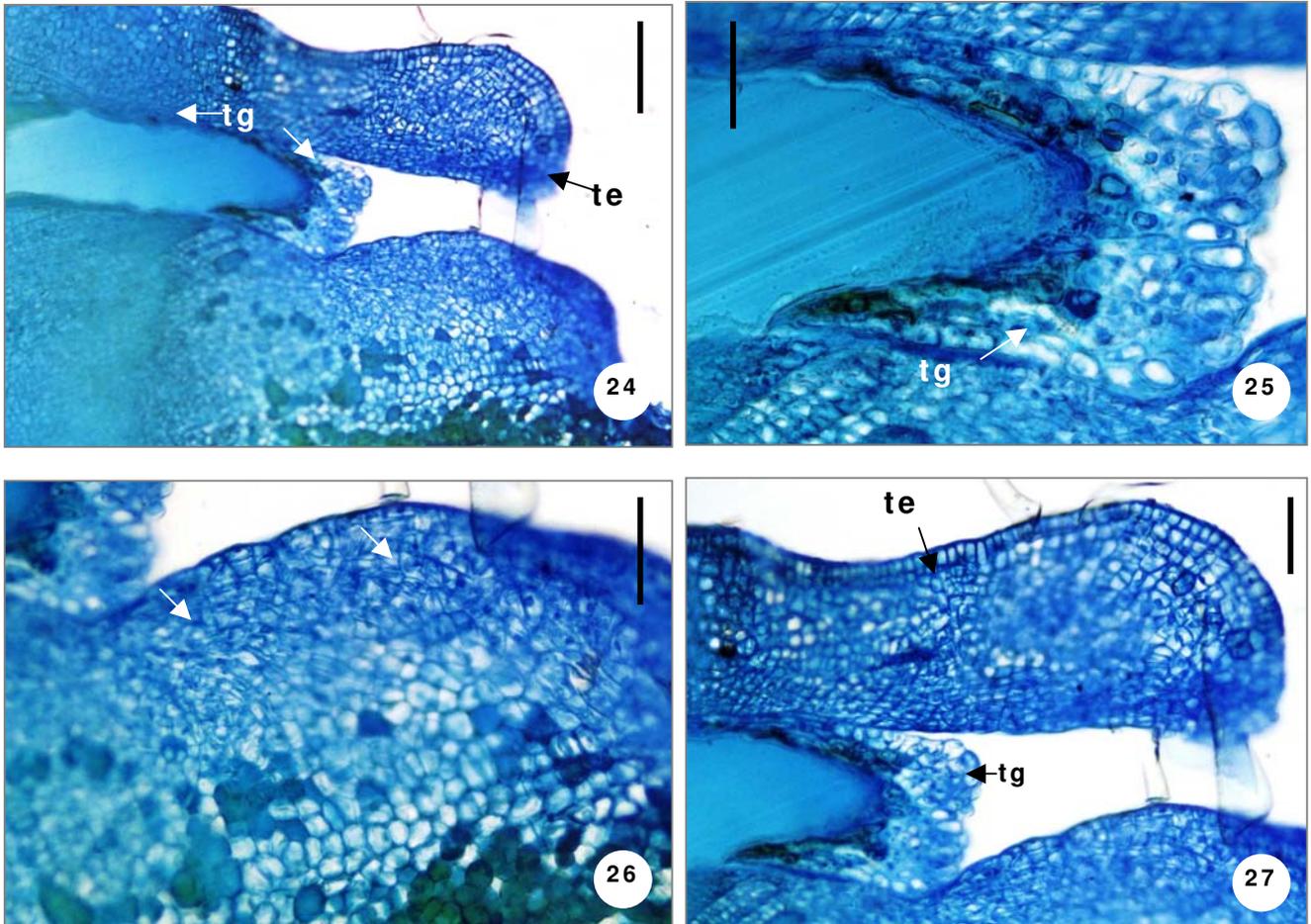
O tegumento externo é o tecido funcional no óvulo de *P. trigonia* (Fig. 24 e 25) e constitui o principal tecido mecânico nas sementes. No óvulo, o tegumento externo está constituído por várias camadas de células em constante divisão e crescimento (Figs. 26 e 27), diferente do que acontece no tegumento interno que fica reduzido a poucas camadas



Figuras 17 – 19. Ovário da flor pistilada de *Paullinia trigonia* em corte longitudinal. **17.** Detalhe do óvulo em pós-antese e canal estilar com secreção. Barra: 110 μm . **18.** Detalhe da superfície papilosa do obturador. Barra: 50 μm . **19.** Detalhe da secreção na região superior do funículo. Barra: 40 μm . **ce** – canal estilar, **f** - funículo, **o** – obturador, **pa-o** – papilas do obturador, **se** - secreção.



Figuras 20 – 23. Ovários e óvulos de *Paullinia trigonia* em diversas fases de desenvolvimento, cortes longitudinais. **20.** Tricomas na epiderme interna do ovário. Barra: 210 μ m. **21.** Óvulo em fase de pré-antese. Parede do ovário com abundantes laticíferos. Barra: 80 μ m. **22.** Remanescente de endosperma. Barra: 80 μ m. **23.** Área da micrópila. Barra: 50 μ m. **en** – endosperma, **lt** – laticíferos, **m** – micrópila, **tr** – tricomas.



Figuras 24 – 27. Detalhe anatômico do envoltório seminal na região da micrópila em sementes de 2 mm (frutos de 1,5 – 1,8 cm) de *Paullinia trigonia*, cortes longitudinais. **24.** Região da micrópila, parte da testa carnosa e do tégmen reduzido. Barra: 110 μm . **25.** Detalhe do tégmen reduzido desde as fases iniciais do óvulo e evidente já na semente em desenvolvimento. Barra: 50 μm . **26.** Detalhe das divisões celulares na testa produzindo camadas carnosas, setas brancas. Barra: 70 μm . **27.** Detalhe da testa carnosa na área próxima da micrópila. Barra: 70 μm . **te** – testa, **tg** – tégmen.

de células colapsadas. O mesofilo do tegumento externo é constituído de células que se multiplicam e dividem repetidamente para formar varias camadas mesotestais na semente. A epiderme externa composta de uma camada de células, formará uma camada paliçádica rígida e a semente será do tipo exotestal (Figs 24 e 26).

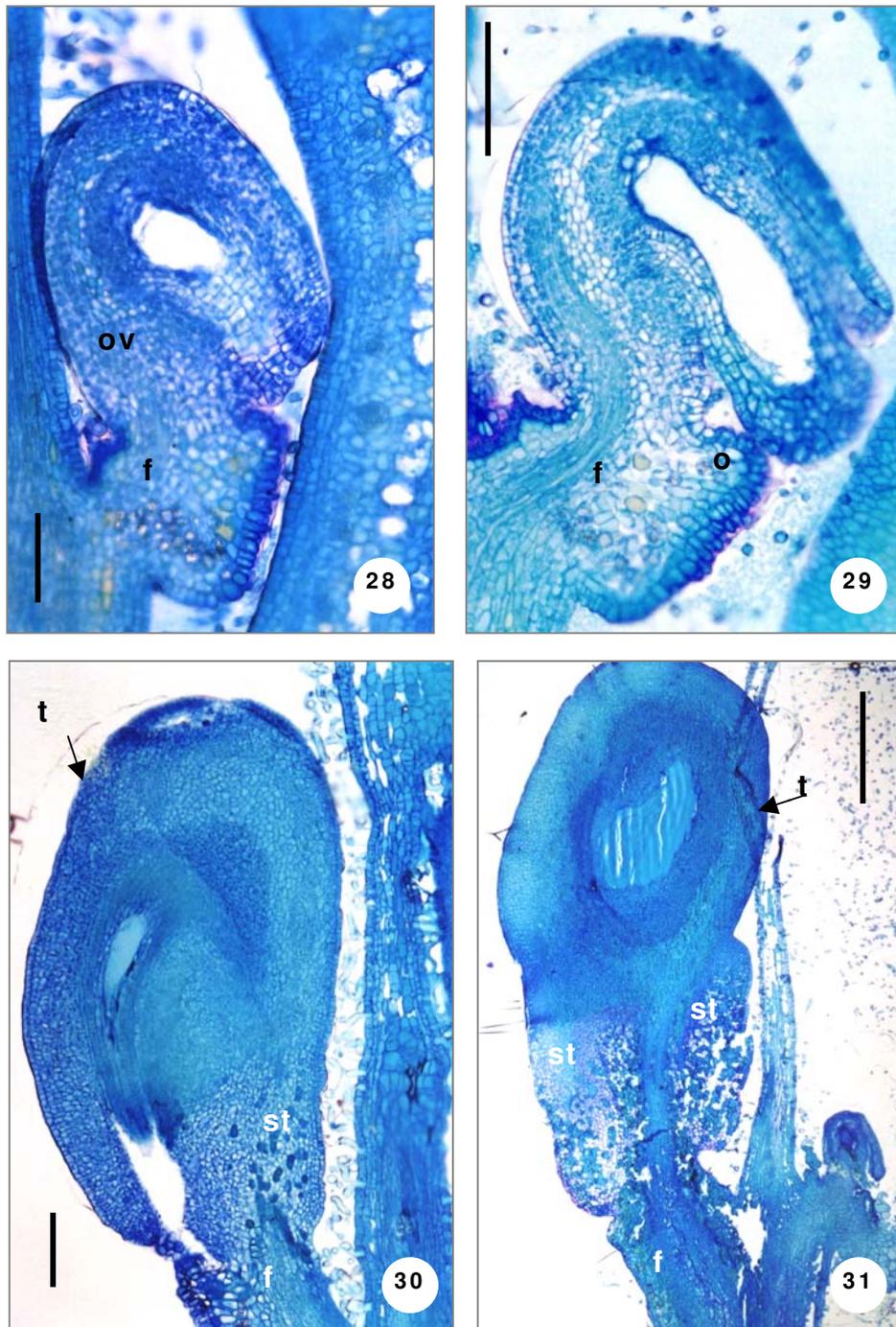
Na seqüência de figuras 28 a 33 é mostrada a série de fases mais representativas do desenvolvimento do óvulo até a semente jovem. As sementes estudadas não foram superiores aos 2 mm de comprimento de frutos com até 2 cm. Nessas dimensões as sementes já evidenciam parte da estrutura carnosa. O processo de crescimento da semente é prolongado e de poucas mudanças. Foi observado que entre as fases de óvulo até a semente as dimensões variam pouco, principalmente nos estádios de pré-antese e antese, o óvulo permaneceu entre 0.3-0.5 mm (Figs 4-5). Ainda com o fruto do tamanho aproximado à cápsula em processo de deiscência, as sementes continuaram sem se desenvolver totalmente.

A estrutura carnosa branca presente e notável nas sementes maduras de *P. trigonia* não inicia em fases de pré-antese e antese (Figs. 28 e 29). Sua formação e diferenciação começam depois da fertilização, quando o fruto chega aos 5-9 mm de comprimento e a semente mede aproximadamente 0,6 – 0,8 mm (Fig.30). O tamanho e desenvolvimento da estrutura incrementam consideravelmente quando o fruto mede entre 1,2 e 1,6 cm e a semente é maior do que 1,5 mm (Fig. 31).

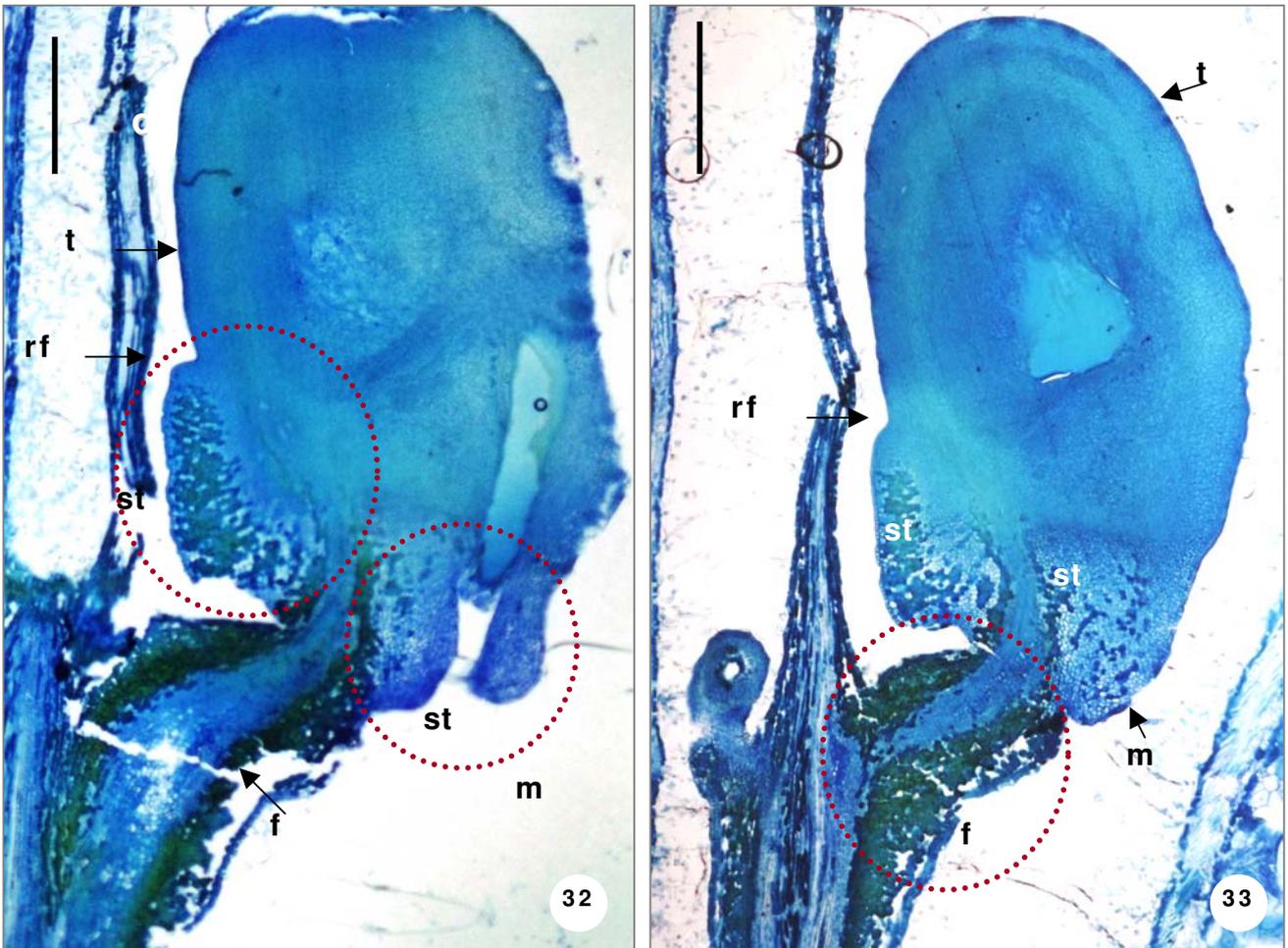
Os resultados da série ontogenética indicam que a estrutura carnosa se desenvolve do tegumento externo em duas regiões da semente, na porção basal da rafe e do tegumento externo na área próxima da micrópila (Fig. 32). O funículo não participa na formação da estrutura carnosa (Fig. 33). Consideramos que a estrutura carnosa não é um arilo como usualmente se descreve na literatura, e sim corresponde a uma sarcotesta parcial.

Discussão

Os membros neotropicais de Sapindaceae são pouco conhecidos na sua embriologia. Mathur & Gulati (1989) elaboraram uma breve revisão e a maioria das referências bibliográficas refere-se a alguns estados embriológicos de espécies ou gêneros, principalmente, asiáticos e de distribuição paleotropical como *Allophylus*, *Cardiospermum*, *Sapindus* ou *Litchi*. Para *Paullinia*, e para a maioria dos representantes da tribo Paullinieae, não existem estudos de anatomia e de desenvolvimento floral.



Figuras 28 – 31. Fases de desenvolvimento do óvulo e da semente em *Paullinia trigonia*. **28.** Óvulo anátropo em pré-antese. Barra: 70 μ m. **29.** Óvulo em pós-antese. Barra: 110 μ m. **30.** Fase da semente quando começa a formação da estrutura carnosa. Fruto 6 – 9 mm. Barra: 140 μ m. **31.** Semente apresentando aumento notável da estrutura carnosa. Semente de 1,8 mm – 2,0 mm. Barra: 350 μ m. **f** – funículo, **o** – obturador, **ov** – óvulo, **st** – sarcotesta, **t** – testa.



Figuras 32 – 33. Fases de desenvolvimento do óvulo e da semente em *Paullinia trigonia*. Semente de 2 mm. **32.** Estrutura carnosa, definida como sarcotesta, desenvolvendo do tegumento externo em duas regiões da semente, na porção basal da rafe e na área próxima da micrópila. Barra: 350 μ m. **33.** O funículo não participa na formação da estrutura carnosa. Barra: 350 μ m. f – funículo, m – região da micrópila, rf – região da rafe, st – sarcotesta, t – testa.

As flores apresentam interessantes estruturas como os apêndices carnosos ou escamas fusionados às pétalas na base, os nectários e diversas estruturas secretoras nas sépalas, pétalas e gineceu.

O estudo do desenvolvimento das anteras, incluindo a microsporogênese e microgametogênese não existe para o gênero. As causas da indeiscência das anteras dos estames estéreis e a formação final de grãos de pólen amorfos, possivelmente não viáveis, são temas interessantes para estudos embriológicos. Situação similar ocorre com a falta de estudos sobre a formação do ovário, o óvulo e o aborto de sementes na flor pistilada, e na flor estaminada sobre o pistilódio e os óvulos atrofiados.

As seis espécies de *Paullinia* incluídas no trabalho de Weckerle & Rutishauser (2005) apresentaram variações no tecido de transmissão. Os autores mencionaram as variações neste tecido e os caracteres úteis na diferenciação das mesmas, principalmente na forma, consistência, tamanho do canal, número de camadas e tipos de células alongadas ao centro do canal. Para este tipo de tecido foram descritas: um canal ou uma coluna de tecido compacto, com uma ou duas camadas de células que as limitam, e células produzindo diversos tipos de tricomas ou células tornando-se papilosas. *P. alata* e *P. obovata* apresentaram um tipo de tecido similar ao de *P. trigonia*. O tecido de transmissão é um caráter que deveria ser aprofundado em estudos anatômicos.

O funículo é outra estrutura que tem causado discordâncias nas Sapindáceas, devido ao fato que muitos representantes da família possuem a placenta e o funículo difícil de distinguir. Corner (1976) descreveu para Sapindaceae a presença de funículos muito curtos, espessos ou a ausência desses. Van der Pijl (1957) considerou que para algumas espécies de Sapindaceae o funículo era uma extensão da placenta ou do endocarpo. Weckerle & Rutishauser (2005) consideraram inconsistente a descrição de funículo que fez Corner para algumas espécies, pois ele descreveu para as mesmas espécies óvulos com funículos curtos e outras vezes óvulos sésseis sobre projeções placentárias. Em *P. trigonia* distinguiu-se a placenta do funículo, mas para evitar confusões e artifícios na denominação, quando não existe clareza na diferença entre funículo e placenta é possível seguir Corner (1976) e usar o termo funículo curto para a área total de inserção do óvulo.

Os obturadores ocorrem em vários taxa, onde grupos de células contornam o ápice do lóculo e rodeiam a base do funículo (Steyn & Robbertse, 1992). Formam-se principalmente sobre o lado micropilar do óvulo, guiando o tubo polínico à micrópila (Weckerle & Rutishauser, 2005). Tilton & Horner (1980) sugerem que os obturadores são parte do tecido transmissor do ovário, possivelmente secretando materiais quimiotrópicos

que forneceriam nutrientes para o crescimento do tubo polínico. Em Sapindales, os obturadores são reportados em Rutaceae e Sapindaceae (Corner, 1976). Em várias Sapindaceae o obturador alonga-se ao redor da base do óvulo (Corner, 1976) e segundo Weckerle & Rutishauser (2005), seguindo a terminologia de Shamrov, poderiam ser denominados de obturadores funiculares. Os taxa de *Paullinia*, *Serjania* e *Cardiospermum*, por eles estudados, apresentaram obturadores de superfície secretora, como ocorre em *P. trigonia*. Exceto para *P. clavigera* Schldl., *P. obovata* (Ruiz & Pav.) Pers e *Serjania altissima* (Poepp. & Endl.) Ralck que têm superfície lisa, a maioria dessas espécies apresentam obturadores usualmente papilosos (Weckerle & Rutishauser, 2005), situação observada na espécie aqui estudada.

Segundo Roth (1977) os tricomas parecem ter uma função de proteção quando os frutos são jovens. Nas Sapindales e Sapindáceas, os tricomas são comuns na superfície do ovário e variam ao nível de espécies (Weckerle & Rutishauser, 2005). Na tribo Paullinieae, Weckerle & Rutishauser (2005) encontraram na epiderme interna desde tricomas simples unicelulares a glandulares multicelulares. Não existem estudos amplos de anatomia e histoquímica para determinar a natureza glandular desses tricomas.

A epiderme interna dos lóculos pode ser glabra, mas em vários taxa da ordem sapindales também se reporta presença de tricomas. Weckerle & Rutishauser (2005) encontraram nas espécies estudadas epiderme glabra, epiderme coberta por tricomas unicelulares ou por tricomas glandulares multicelulares. Os autores afirmaram que durante o desenvolvimento do fruto nas espécies estudadas, tanto a superfície interna como a externa pode alterar-se com respeito à quantidade de tricomas. A superfície externa do ovário e do fruto de *P. trigonia* é do tipo piloso principalmente nas primeiras fases de desenvolvimento quando é botão floral e ainda nos primeiros estádios de pós-antese. A superfície do exocarpo apresenta perda de tricomas durante seu desenvolvimento. Contrário ao que acontece na superfície do fruto, internamente os lóculos permanecem densamente cobertos por tricomas até a fase adulta quando o fruto se torna deiscente. Roth (1977) descreve que esses tricomas parecem fornecer umidade aos lóculos, além de um tipo de proteção seminal.

Weckerle & Rutishauser (2005) descreveram para as espécies de *Paullinia* estudadas numerosas células laticíferas no tegumento do ovário, situação similar encontrada no tegumento do ovário de *P. trigonia*. Milanez (1959) descreveu laticíferos para *P. cupana* como tubos secretores de conteúdo lactescente.

O ovário súpero tricarpelar de *P. trigonia* é um caráter estável presente na tribo Paullinieae e na maioria dos representantes de Sapindaceae (Radlkofer, 1931–1934). O

ovário na flor pistilada dos taxa estudados por Weckerle & Rutishauser (2005) apresentam forma esférica a triangular com costelas longitudinais que se desenvolvem durante a maturação do fruto em estruturas do tipo ala.

Como mencionado anteriormente, os óvulos em Sapindaceae são pouco estudados em vários aspectos, anatômicos, embriológicos e de desenvolvimento. Corner (1976) descreveu para a família dois tipos, óvulos anátropos e campilótropos. O autor definiu os óvulos como bitegmentados e crassinucelados sendo na maioria solitários e eretos. Alguns gêneros em Sapindaceae apresentam dois óvulos por lóculo, com o óvulo superior suspenso ou ereto, e poucos gêneros, *Magonia* e *Xanthoceras*, produzem vários óvulos por lóculo (Corner, 1976).

Os óvulos de *P. trigonia* correspondem ao tipo anátropo característico da família e da tribo. A semente é campilótropa onde o embrião se curva nos estádios de pós-antese devido ao crescimento das células da região da calaza. Weckerle & Rutishauser (2005), descreveram os óvulos das espécies estudadas de Paullinieae como campilótropos. Os autores observaram que nessas espécies o tegumento interno forma a micrópila, e o tegumento externo dos óvulos é maior em espessura que o tegumento interno, como observado em *P. trigonia*.

Foi descrito por Corner (1976), que as espécies de Sapindaceae apresentam sementes exotestais, sendo o tegumento externo o tecido que contribui à formação do envoltório seminal e o tegumento interno permanece sem especialização e amassado, similar ao que ocorre em *P. trigonia* e nas espécies da tribo examinadas por Weckerle & Rutishauser (2005).

Corner (1976) caracterizou para a família as sementes como exalbuminadas e o endosperma de tipo nuclear, sendo finalmente absorvido e esmagado, como observado com o endosperma em *P. trigonia* rapidamente consumido em fase pós-fertilização.

Em angiospermas, aproximadamente 45 famílias apresentam sementes com estruturas de tipo arilo (Corner 1949, 1953). Em Sapindaceae existem sementes ariladas, sem arilo e sarcotestais (Corner 1976, Johri et al. 1992). Van der Pijl (1957) descreveu em detalhe, para varias sementes de Sapindáceas, estruturas carnosas como arilo, arilóide, carúncula, estrofiolo e sarcotesta, considerando transições entre sarcotesta e o arilo. Corner (1953) elaborou para as Sapindaceae uma lista das tribos (baseado no sistema de Radlkofer) ariladas e não ariladas, e na família em total 76 gêneros não apresentam arilo e 58 gêneros são arilados. Da tribo *Paullinieae*, só *Paullinia* foi indicado como arilado por Corner (1953). Ele descreveu para *Serjania* uma mácula tipo arilada de

cor pálida rodeando o hilo, considerando que seria uma forma remanescente de último traço arilar.

A estrutura carnosa branca em *Paullinia*, assim como em outras Sapindáceas, tem originado diversas interpretações e denominações. Isso acontece porque em *Paullinia* vários estados de caráter para estas estruturas estão presentes nas sementes. Nas descrições das espécies de *Paullinia*, Radlkofer (1931-1934) denominou essa estrutura como arilo ou arilo adnato (sarcotesta). Corner (1976) afirmou que *Paullinia* tem espécies com um arilo livre, um arilo adnato ou sarcotesta e outras “perdendo” esses caracteres. Van der Pijl (1957) ao estudar espécies de *Paullinia* denominou a estrutura carnosa de arilódio ou sarcotesta parcial. Milanez (1959) e Mendonça et al. (1992) descreveram a estrutura carnosa em *P. cupana* como arilódio. Weckerle & Rutishauser (2005) utilizaram em seu estudo o termo geral de arilo para os crescimentos carnosos produzidos por algumas regiões da superfície da semente. Acevedo-Rodríguez (Com. Pess., 2006) considera que espécies de *Paullinia* apresentam arilo ou sarcotesta. Radlkofer (1931-1934), descreveu para vários representantes de Sapindaceae que possuem sementes com uma porção da testa carnosa, a situação possível de encontrar nessas espécies parte da sarcotesta crescendo dentro de um arilo.

Para evitar confusões terminológicas que não cabem resolver nesta pesquisa e reduzir, de algum modo, a complexidade do tema, foi resolvido rejeitar os termos arilóide, arilódio, arilo funicular, entre outros vários, e adotar os seguintes termos e definições para estruturas carnosas:

-a. ‘Sarcotesta’ - que consiste de uma a várias camadas carnosas, usualmente as mais externas da semente. A sarcotesta se desenvolve, geralmente, da transformação das camadas externas do envoltório seminal e o tecido pode envolver uma parte ou a superfície inteira da semente. Ao se retirar essa camada carnosa fica o tecido interno embaixo da sarcotesta, geralmente formado por camadas de células esclerenquimáticas duras (Werker 1997). Schmid (1986) recomenda que termos como “sarcotesta”, “esclerotesta” e “endotesta” sejam designações puramente descritivas. Sugere que os termos podem ser aplicados desde um ponto de vista topográfico sem implicações acerca da filogenia ou homologia. Entende-se, com sua explicação, que não se deve supor *a priori* que a sarcotesta revela *per se* um caráter derivado ou primitivo.

-b. ‘Arilo’ - apêndices da semente, geralmente carnosos ou em ocasiões duros. Podem se desenvolver do funículo ou alguma parte do tegumento, ou se originar de duas regiões diferentes. Também podem ser produzidos pela placenta, parede ovariana e órgãos extra ovarianos. Variam em origem, forma, tamanho, estrutura e cor. Podem ser

localizados em vários lugares sobre a semente e envolver parcial ou totalmente a semente mais de maneira livre, sem deixar marcas na superfície da semente quando é retirado (Werker, 1997). Corner (1976) usou 'arilo' como termo geral para um crescimento pulposo de dimensão qualquer, sobre alguma parte do óvulo ou funículo.

O início do desenvolvimento pós-fertilização, da estrutura que foi denominada sarcotesta (de acordo aos termos mencionados anteriormente), em *P. trigonia* é uma condição geral que acontece em vários gêneros que apresentam estruturas deste tipo. Algumas famílias como Clusiaceae, Dilleniaceae ou Zingiberaceae, apresentam casos nos quais antes da fertilização ocorre um espessamento no lugar do futuro arilo (Werker, 1997).

Nos escassos estudos de desenvolvimento de estruturas carnosas de alguns membros da família se cita geralmente a presença de um arilo inicial depois da fertilização (Mathur & Gulati, 1989). Os autores mencionam na revisão que especificamente para *Cardiospermum halicacabum* se encontrou que o arilo começa quando o saco embrionário está em estado binucleado e permanece inconspícuo até estado tetranucleado, tornando-se proeminente depois da fertilização. Steyn & Robbertse (1992), no estudo sobre desenvolvimento de arilo de *Litchi chinensis* Sonn., mencionaram que a diferenciação do arilo começa quando o fruto mede 10 mm, sete semanas depois da antese das flores pistiladas, fase posterior ao tubo polínico ter atravessado o obturador papiloso. Weckerle & Rutishauser (2005) reportaram que as espécies estudadas de *Paullinia*, *Cardiospermum* e *Urvillea* da tribo Paullinieae têm sementes com arilo, exceto *Serjania*, e nos três gêneros o desenvolvimento do arilo inicia depois da fertilização.

Este estudo focou-se em determinar os locais ou partes da semente que participam da origem e formação da estrutura carnosa de *P. trigonia*. Foi estabelecido que participam da formação da estrutura carnosa o tegumento externo em duas regiões da semente: na porção basal da rafe e na área próxima da micrópila, sendo que o funículo não contribui na formação da estrutura carnosa. Os estudos sobre as estruturas carnosas em espécies da família indicam diferenças em vários aspectos referentes à denominação da estrutura carnosa, devido às interpretações particulares, preferências nomenclaturais e concordâncias conceituais por determinados autores.

Assim foi denominada a estrutura carnosa presente em *P. trigonia* de sarcotesta, de tipo parcial porque não envolve a semente na sua totalidade. Contrário ao Weckerle & Rutishauser (2005) que denominaram de arilo a estrutura carnosa nas sementes das espécies de *Paullinia*. As camadas externas da testa se transformam em camadas

polposas e permanecem aderidas ao resto da semente. Na maioria das sementes ariladas a estrutura não deixa marca quando é retirada.

Steyn & Robbertse (1992) determinaram que em *Litchi chinensis* o primórdio do arilo começa a aparecer justamente sobre o lado rafeal e o funículo não faz parte no desenvolvimento do arilo. O estudo também demonstrou que o arilo não inicia do mesmo local ou tecido que o obturador. Zavaleta et al. (2003) sem analisar estádios iniciais da semente, supõem que o arilo de *Cupania dentata* se origina em maior parte do funículo. Eles descrevem que na região micropilar o arilo forma um arilostomo, uma extensão da micrópila através do arilo, formando um canal, ao final do qual o arilo forma um “lábio” ou “língua”. Steyn & Robbertse (1992) consideraram o arilo da lichia como um verdadeiro apêndice do envoltório seminal já que a rafe e o tegumento externo têm uma base de origem e desenvolvimento comum no envoltório seminal.

Igualmente em *Paullinia trigonia*, Weckerle & Rutishauser (2005) também encontraram para as espécies estudadas dos três gêneros da tribo Paullinieae que as partes basais da calaza e o tegumento externo contribuem ao desenvolvimento do que eles denominaram como arilo. Também definiram que o tecido secretor do obturador não forma parte da formação do arilo.

Não foram incluídas maiores análises para avaliar se nos óvulos ou sementes de *P. trigonia* outras regiões diferentes ao tegumento externo participam na estimulação do seu desenvolvimento. Em *L. chinensis*, Steyn & Robbertse (1992), afirmam que o obturador pode desempenhar por si mesmo um papel na estimulação do desenvolvimento do arilo, e assumem que é desconhecido como a natureza ou função da secreção das papilas do obturador se relaciona com a iniciação do arilo.

Finalmente, e só para fazer referência de outro aspecto para considerar na lista de tópicos inexplorados e controversos em sementes ariladas, se refere ao caráter derivado ou primitivo das estruturas carnosas. Corner (1953) afirmou que a sarcotesta é de caráter facultativo e o arilo é um caráter de tipo primitivo. O autor considerou que o fruto com semente arilada é primitivo e a sarcotesta derivada do arilo. Para van der Pijl (1955) a sarcotesta é a forma mais primitiva, da qual diferentes formas ariloidais podem se derivar. Endress (1973) criticou alguns aspectos da visão de Corner e concluiu, a nosso entender, com um critério mais interessante e menos determinista, que os arilos provavelmente não são especialmente primitivos nem homólogos para todas as angiospermas. Visão que se precisaria ter para um estudo futuro em qualquer grupo onde se pretenda testar hipóteses de homologias.

Referências Bibliográficas

- Bhatnagar, S.P. & Johri, B. M. 1972. Development of angiosperm seeds. In: Kozlowski, T.T. (ed.), Seed Biology, Vol. 1. Acad. Press, New York - London, pp. 77 –150.
- Boesewinkel, F.D. & Bouman, F. (1984). The seed: structure. In: Johri, B.M. (ed.), Embryology of Angiosperms. Springer, Berlin.
- Corner, E.J.H. 1949. The Durian Theory or the Origin of the Modern Tree. *Annals of Botany*. 13 (52): 367 – 414.
- Corner, E.J.H. 1953. The Durian Theory extended I. *Phytomorphology*. 3: 465 – 476.
- Corner, E.J.H. 1976. The seeds of dicotyledons. Cambridge University Press. Cambridge.
- Endress, P. K. 1973. Arils and Aril-like structures in woody Ranales. *New Phytol.* 72: 1159 – 1171.
- Gerrits, P.O., & Smid, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132:81-85.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Mycrotechnique. New York, Mc Graw Hill Book.
- Johri, B.M., Ambegaokar, K. B. & Srivastava, P. S. 1992. Comparative Embriology of Angiosperms. Vol. I. Springer – Verlag. Berlin Heidelberg.
- Kapil, R. N., Bor, J. & Bouman, F. 1980. Seed appendages in Angiosperms. *Bot. Jahrb. Syst.* 101 (4): 555 – 573.
- Mathur, S. & Gulati, N. 1989. Review of embryology of Sapindaceae. *Indian J. of Bot.* 12 (1): 35 – 38.
- Milanez, F. R. 1959. Anatomia do fruto do guaraná. *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*. 16: 57 – 100.

- Mendonça, M. S., Noda, H. & Corrêa, M. P. F. 1992. Aspectos morfológicos da semente e da germinação do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke). Rev. U. A. Série: Ciências Agrárias, 1 (2): 71 – 82.
- Niembro, A. 1988. Semillas de árboles y arbustos. Ontogenia y Estructura.
- O'Brien, T.P., Feder, N. & McCully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma. 59: 368 – 373.
- Radlkofer, L. 1931–1934. Sapindaceae. In: A. Engler (ed.), Das Pflanzenreich IV, 165 (Heft 98a-h). Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig. 219 - 352.
- Roth, I. 1977. Fruits of Angiosperms: Encyclopedia of Plant Anatomy. Berlin: Gebruder Borntraeger.
- Sampaio, G. 1926. Exemplos de Arilo na flora Brasileira. Boletim do Museu Nacional. 2 (6–15): 1 – 23.
- Schmid, R. On Cornerian and other terminology of Angiospermous and Gymnospermous seed coats: historical perspective and terminological recommendations. Taxon. 35 (3): 476 - 491.
- Steyn, E. & Robbertse, P.J. 1992. Is aril development in the litchi triggered by pollen tube growth? S. Afr. J. Bot. 58 (4): 258 – 262.
- Tilton, V. R. & Horner, H. T. 1980. Stigma, style and obturator of *Ornithogalum caudatum* and their function in the reproductive process. Am. J. Bot. 67: 1113 – 1131.
- van der Pijl. 1955. Sarcotesta, aril, pulpa and the evolution of the angiosperm fruit. I. Proc. K. Ned. Akad. Wet, Ser. C. 58: 154 – 161.
- van der Pijl. 1957. On the arilloids of *Nephelium*, *Euphoria*, *Litchi* and *Aesculus*, and the seeds of Sapindaceae in general. Acta Botanica Neerlandica. 6: 618 – 641.

van der Pijl, L. 1982. Principles of dispersal in higher plants. New York: Springer – Verlag. Pp 138 – 143.

Weckerle, C. S., & Rutishauser, R. 2005. Gynoecium, fruit and seed structure of Paullinieae (Sapindaceae). Botanical Journal of the Linnean Society. 147: 159 – 189.

Werker, E. 1997. Seed Anatomy. Berlin. 424 p.

Zavaleta, H., Hernández M., Cuevas, J. & Engleman, M. 2003. Anatomia de la semilla de *Cupania dentata* (Sapindaceae) con énfasis en la semilla madura. Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica. 74 (1): 17 – 29.



Capítulo 2

Morfologia e anatomia do envoltório seminal e da estrutura carnosa de sementes maduras de nove espécies de *Paullinia* L. (Sapindaceae).

RESUMO

A morfologia e anatomia do envoltório seminal, cicatriz e estrutura carnosa foram estudadas em sementes maduras de nove espécies do gênero *Paullinia*: *P. elegans* Cambess., *P. spicata* Benth., *P. cupana* Kunth, *P. carpopodea* Cambess., *P. meliaefolia* A. L. Juss., *P. coriacea* Casar., *P. cristata* Radlk., *P. racemosa* Wawra e *P. trigonia* Vell., pertencentes a cinco das treze seções estabelecidas por Radlkofer. Os indivíduos foram coletados em diversas áreas dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Paraná. O material coletado foi fixado em FAA (Johansen 1940), mantido em bomba de vácuo por 24 horas e estocado em álcool etílico 70%. O material foi incluído em resina plástica e seccionado em cortes transversais e longitudinais (entre 8 – 10 μm) em micrótomo rotativo com navalha de aço e distendido sobre lâminas. As seções foram coradas com Azul de Toluidina 0.05% em tampão acetato. Os resultados indicam que as características morfológicas das sementes apresentam notáveis diferenças entre as espécies. Três caracteres quando avaliados em conjunto permitem distinguir facilmente as espécies estudadas. Cada caracter avaliado de maneira independente oferece também indícios claros para identificar as espécies. Os caracteres são os seguintes: 1. Tamanho e forma estrutural da semente. 2. Morfologia da estrutura carnosa branca, definida como sarcotesta para as nove espécies examinadas, a proporção que cobre a semente e as fissuras apresentadas principalmente na região da anti-rafe. 3. Forma e tamanho da cicatriz, lóbulos na região da rafe e anti-rafe, dimensão e tipo de fusão das projeções e grau de constrição na área intermédia entre os lóbulos e as projeções. A anatomia do envoltório seminal, cicatriz e sarcotesta apresentam diferenças entre as espécies estudadas. Os caracteres anatômicos de maior utilidade para diferenciar as espécies são os apresentados pelo envoltório seminal: comprimento do estrato exotestal e número de camadas e dimensões da mesotesta. Os caracteres estudados nas nove espécies não fornecem indícios de um agrupamento apoiando as seções propostas por Radlkofer, sendo, entretanto, potencialmente úteis na taxonomia e identificação das espécies do gênero.

Palavras-Chave: Sapindaceae, *Paullinia*, sementes, taxonomia, morfo-anatomia, envoltório seminal.

ABSTRACT

The morphology and anatomy of the seed coat, scar and fleshy structure were studied in nine mature seeds of the genus *Paullinia*: *P. elegans* Cambess., *P. spicata* Benth., *P. cupana* Kunth, *P. carpopodea* Cambess., *P. meliaefolia* A. L. Juss., *P. coriacea* Casar., *P. cristata* Radlk., *P. racemosa* Wawra e *P. trigonia* Vell., belonging to five out of thirteen sections established by Radlkofer. The individuals were collected in several areas in the states of São Paulo, Rio de Janeiro and Paraná. The collected material was fixed in FAA (Johansen 1940), maintained in a vacuum chamber for 24 hours and stored in 70% ethylic alcohol. The material was included in plastic resin and sectioned in cross and longitudinal sections (between 8 – 10 μ m) in a rotating microtomo with steel knife and extended on layers. The sections were stained with toluidine blue 0.05% in acetate tampon. The results indicate that the morphologic characteristics of the seeds present remarkable differences among the species. Three characters when they are evaluated altogether allow to easily distinguish the studied species. Each character evaluated independently also offers clear indications to identify the species. The characters are as follow: 1. Structural size and shape of the seed. 2. Morphology of the white fleshy structure (determined here as sarcotesta for nine species examined), proportion that covers the seed, and fissures mainly in the anti-raphe region. 3. Shape and size of the scar, lobules in the raphe and anti-rafe regions, dimension and type of fusion of the projections, as well as the degree of the constriction in the intermediate area between the lobes and the projections of the scar. The anatomy of the seed coat, scar and sarcotesta exhibit differences among the studied species. The most important anatomical characters to differentiate species are the ones present in the seed coat: dimension of the exotestal stratum and number of layers, and dimensions of the mesotesta. The characters analyzed here, do not offer indications of a clustering supporting the sections proposed by Radlkofer, but they are characters of potential utility in the taxonomy and identification of the species of the genus.

Keywords: Sapindaceae, *Paullinia*, seeds, taxonomy, morpho-anatomy, seed coat.

Introdução

Apesar da diversidade e importância de *Paullinia* no Novo Mundo, são poucos os estudos atuais sobre a morfologia, taxonomia e sistemática do gênero. A mais completa revisão para o gênero foi feita por Radlkofer no tratamento de Sapindaceae para a *Flora Brasiliensis* em Martius (1892–1900) e *Das Pflanzenreich* em Engler (1931–1934). Nas monografias foram descritas 62 espécies para o Brasil e 147 espécies para o neotrópico.

Mais recente Somner (2001) afirmou que em território brasileiro se estima a ocorrência de cerca de 80 espécies. O gênero apresenta a maior concentração e diversidade na região amazônica e é um componente importante nas florestas tropicais úmidas e perenifólias. No Brasil, as espécies são parte das formações vegetais nas florestas Atlântica e Amazônica, e são encontradas geralmente nas margens dos rios, interior da mata, no dossel das árvores e em beiras de estradas, sendo pouco freqüentes no cerrado.

Radlkofer dividiu o gênero em seções e apresentou chaves para separar as espécies e as 12 seções presentes no Brasil (1892–1900) e as espécies das 13 seções que ocorrem no neotrópico (1931-1934). A classificação infragenérica de Radlkofer se baseou principalmente na estrutura morfológica e anatômica da cápsula, além dos caracteres vegetativos e florais. A morfologia e anatomia do fruto foram notavelmente importantes no seu sistema de classificação, em decorrência disso o taxonomista forneceu também abundantes dados e informações com ênfase especial nesse órgão para a família.

Para *Paullinia*, Radlkofer (1931-1934) estabeleceu seis seções constituídas por espécies com cápsulas ápteras e sete seções que incluem espécies com cápsulas aladas. Para separar as seções e diferenciar as espécies, o autor usou os caracteres morfológicos do fruto como: forma, superfície, textura e consistência do pericarpo. Dos caracteres anatômicos do fruto ressaltou: o tipo de tecidos e camadas celulares no mesocarpo e endocarpo, nervuras do mesocarpo, e a forma como o endocarpo penetra ou não nas alas dos frutos.

Recentemente, Weckerle & Rutishauser (2005) fizeram uma grande e importante contribuição ao conhecimento da estrutura e ontogenia do gineceu, fruto e semente da tribo Paullinieae. Na sua pesquisa foram examinadas nove espécies procedentes de Peru, representando quatro gêneros, *Paullinia* com seis espécies (*P. alata* G. Don, *P. clavigera* Schldl., *P. obovata* (Ruiz & Pav.) Pers., *P. pachycarpa* Benth., *P. aff. caloptera* Radlk. e *P.*

dasystachya Radlk.), *Cardiospermum*, *Serjania* e *Urvillea* com uma espécie cada. Os autores tentaram relacionar os aspectos estruturais encontrados com os mecanismos de deiscência do fruto e dispersão. Enumeraram diferentes caracteres que podem ter um grande valor sistemático dentro da tribo: forma e superfície do obturador, tipo de tecido transmissor, superfície dos carpelos, anatomia da parede do ovário, anatomia do arilo, forma do pseudo-hilo, modo de germinação das sementes e estrutura das primeiras folhas.

Weckerle & Rutishauser (2005) concluíram que os novos caracteres descritos para a tribo Paullinieae são de valor sistemático potencial ao nível de gênero e espécie. Os caracteres referem-se a regiões específicas dos óvulos, dos ovários, das sementes e das plântulas. Segundo Weckerle & Rutishauser (2005), alguns desses caracteres, como anatomia do ovário e do pericarpo e folhas da plântula, apóiam as seções propostas por Radlkofer (1931–1934); outros estão em conflito com aquela divisão, como o tecido de transmissão, superfície e largura do obturador e anatomia do arilo. Weckerle & Rutishauser (2005) ressaltaram que são necessários ainda mais dados estruturais de taxa adicionais que junto com análises moleculares permitam inferir relações filogenéticas entre as espécies de *Paullinia* e da tribo em geral.

A morfologia e anatomia do fruto em *Paullinia* foram muito importantes no sistema de classificação proposto por Radlkofer. Porém, na atualidade os estudos em frutos e sementes de espécies componentes do gênero, a tribo e Sapindaceae no Neotrópico são escassos e os resultados continuam dispersos em varias publicações, sendo os mais relevantes: van der Pijl, L. 1955, 1957, Milanez 1959, Corner 1976, Mendonça et al. 1992, Oliveira et al. 2001, Zavaleta et al. 2003, Weckerle & Rutishauser 2005.

Paullinia é um gênero bem delimitado, porém, na maioria das vezes suas espécies são difíceis de identificar com clareza, especialmente para os não especialistas na família. Tal situação se deve ao grande número de espécies, a variabilidade e plasticidade morfológica apresentada por vários táxons, à ausência de revisões taxonômicas modernas abrangendo o gênero como um conjunto e a complexidade de alguns dos caracteres usados por Radlkofer nas chaves de identificação das seções e das espécies.

Tomando as considerações mencionadas anteriormente, este trabalho foi desenvolvido sobre dois aspectos: para fins taxonômicos principalmente, e para fins morfológicos. Nesta pesquisa foi realizada uma avaliação preliminar de caracteres baseada no estudo da morfologia e anatomia do envoltório seminal de sementes maduras de algumas espécies do gênero *Paullinia*: *P. elegans* Cambess., *P. spicata* Benth., *P.*

cupana Kunth, *P. carpopodea* Cambess., *P. meliaefolia* A.L. Juss., *P. coriacea* Casar., *P. cristata* Radlk., *P. racemosa* Wawra e *P. trigonia* Vell.

Material e Métodos

Coleta do material

Na fase inicial da pesquisa foi revisado o material existente de *Paullinia* no Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC). As informações disponíveis nas etiquetas foram consultadas para determinar os lugares possíveis de coleta e as datas de floração e frutificação das espécies. Sete das nove espécies estudadas, foram coletadas em viagens de campo sem informações prévias obtidas do Herbário.

Os critérios utilizados na escolha e o número das espécies estudadas neste trabalho foram principalmente: a presença freqüente, ampla distribuição e representatividade de cada espécie no território brasileiro e as possibilidades de acesso às localidades para a procura e coleta dos indivíduos. Tentou-se coletar o maior número possível de espécies, para contar com representantes pertencentes as principais seções infragenéricas do Brasil, possibilitando assim obter uma amostra geral das variações e semelhanças dos caracteres seminais das espécies para comparação entre as mesmas, entre as seções e dentro de cada seção. A amostragem dos frutos e sementes corresponde a um indivíduo para cada espécie, devido à dificuldade de encontrar material com frutos em estado maduro, e a limitação do tempo da fase de coleta, não foi possível estudar maior número de indivíduos de populações diferentes.

Desde o início do trabalho optou-se por estudar material obtido diretamente no campo. Não foi utilizada a reidratação de materiais herborizados, evitando-se assim trabalhar só com fragmentos de órgãos dissecados e material deformado pela secagem.

Foram feitas viagens periódicas a diversas regiões do sudeste do Brasil, principalmente no Estado de São Paulo e Estados próximos, como Rio de Janeiro e Paraná, para procurar e coletar indivíduos de *Paullinia* em frutificação. As coletas foram feitas em áreas de floresta Atlântica, restingas e áreas com vegetação secundária submetidas a processos antrópicos. Na Tabela 1 são apresentadas a lista de espécies e o voucher.

Para o estudo morfo-anatômico do envoltório seminal e da estrutura carnosa foram selecionados indivíduos com frutos, preferencialmente, em deiscência e sementes maduras. Foram coletadas nove espécies pertencentes a cinco das treze seções estabelecidas por Radlkofer (Tabela 1). Quatro espécies pertencem a três seções que

apresentam cápsulas ápteras (Figs. 1 – 4), e cinco pertencem a duas seções com cápsulas aladas (Figs. 5 – 9).

O material testemunha, fértil, foi herborizado seguindo as normas botânicas convencionais. A identificação dos indivíduos foi realizada pela própria pesquisadora. As exsicatas do material foram depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC) e as duplicatas serão distribuídas aos diferentes herbários do Brasil.

Tabela 1. Lista de espécies de *Paullinia* L. coletadas e examinadas para os estudos morfo-anatômicos.

Seção*	Taxa	Número de coleta
I. <i>Neurotoechus</i>	<i>Paullinia elegans</i> Cambess.	Obando 289
I. <i>Neurotoechus</i>	<i>Paullinia spicata</i> Benth.	Obando 313
III. <i>Pleurotoechus</i>	<i>Paullinia cupana</i> Kunth	Urdampilleta 275
IV. <i>Pachytoechus</i>	<i>Paullinia carpopodea</i> Cambess.	Obando 297
XII. <i>Caloptilon</i>	<i>Paullinia meliaefolia</i> A.L. Juss.	Urdampilleta 277
XIII. <i>Phygoptilon</i>	<i>Paullinia coriacea</i> Casar.	Obando 313
XIII. <i>Phygoptilon</i>	<i>Paullinia cristata</i> Radlk.	Obando 300
XIII. <i>Phygoptilon</i>	<i>Paullinia racemosa</i> Wawra	Ribeiro Costa 593
XIII. <i>Phygoptilon</i>	<i>Paullinia trigonia</i> Vell.	Obando 292

* Seções estabelecidas por Radlkofer (1931–1934). Os números das seções seguem os critérios de Radlkofer. Seção I. *Neurotoechus*; Seção III. *Pleurotoechus*; Seção IV. *Pachytoechus*; Seção XII. *Caloptilon*; Seção XIII. *Phygoptilon*.

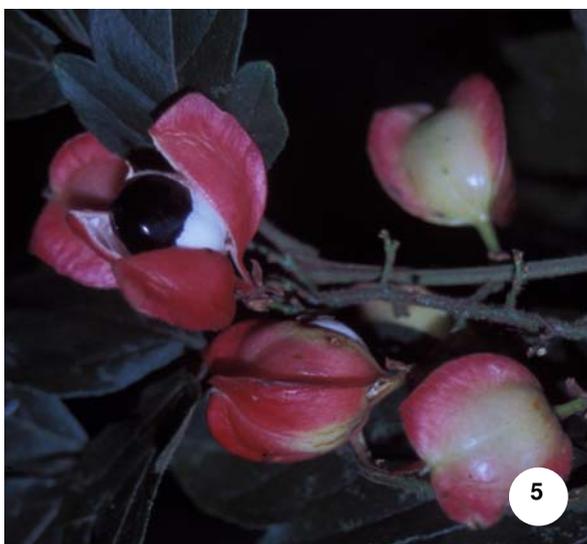
Estudo estrutural

Frutos e sementes maduras foram fixados em FAA (Johansen 1940), mantidos em bomba de vácuo por 24 horas e estocados em álcool etílico 70%.

As sementes foram incluídas em resina plástica (Historesin Leica) seguindo-se a técnica de Gerrits & Smid (1983) e orientações do fabricante. Devido às dificuldades nas etapas de infiltração, cortes e distensão do material, após este ter sido colocado na solução de resina, foi mantido em bomba de vácuo por 24 horas para melhorar o processo de pré-infiltração e infiltração. Os materiais permaneceram por uma semana em cada solução.



Figuras 1 – 4. Frutos septifragais em *Paullinia*. Grupo de espécies com cápsulas ápteras. 1. *P. elegans* (Obando 289, UEC). 2. *P. spicata* (Obando 313, UEC). 3. *P. cupana* (Urdampilleta 275, UEC). 4. *P. carpopodea* (Obando 297, UEC).



Figuras 5 – 8. Frutos septifragais em *Paullinia*. Grupo de espécies com cápsulas aladas. **5.** *P. meliaefolia* (Urdampilleta 277, UEC). **6.** *P. cristata* (Obando 300, UEC). **7.** *P. racemosa* (Ribeiro 593, UEC). **8.** *P. trigonia* (Obando 292, UEC).

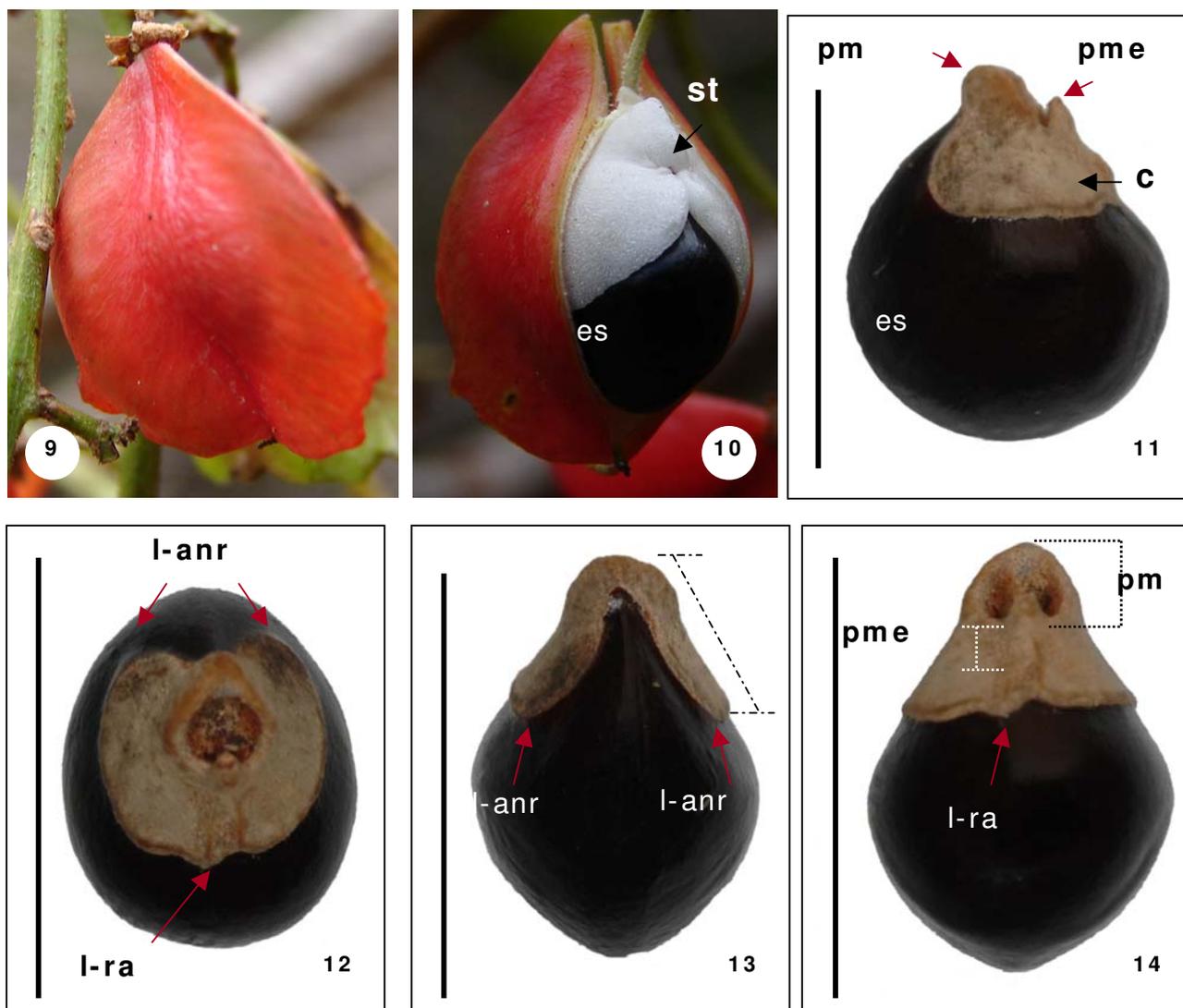
O material foi seccionado em cortes transversais e longitudinais (entre 8 – 10 μm) em micrótomo rotativo com navalha de aço, posteriormente distendido sobre lâminas. As seções foram coradas com Azul de Toluidina 0.05% em tampão acetato (O'Brien et al. 1964). O tempo da coloração com Azul de Toluidina foi de 3 a 4 minutos, seguida de lavagem em água por 1 minuto. Finalmente foram montadas em preparações para observação e foto-documentação. As lamínas foram fotografadas com equipamento fotográfico acoplado ao microscópio óptico Olympus BX51. As escalas foram fotografadas nas mesmas condições ópticas. Para o estudo morfológico os frutos e as sementes foram fotografados com câmera fotográfica usando filmes coloridos e com câmera digital. As sementes foram medidas com paquímetro digital. O laminário foi depositado no laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica, IB - Unicamp.

Resultados e Discussão

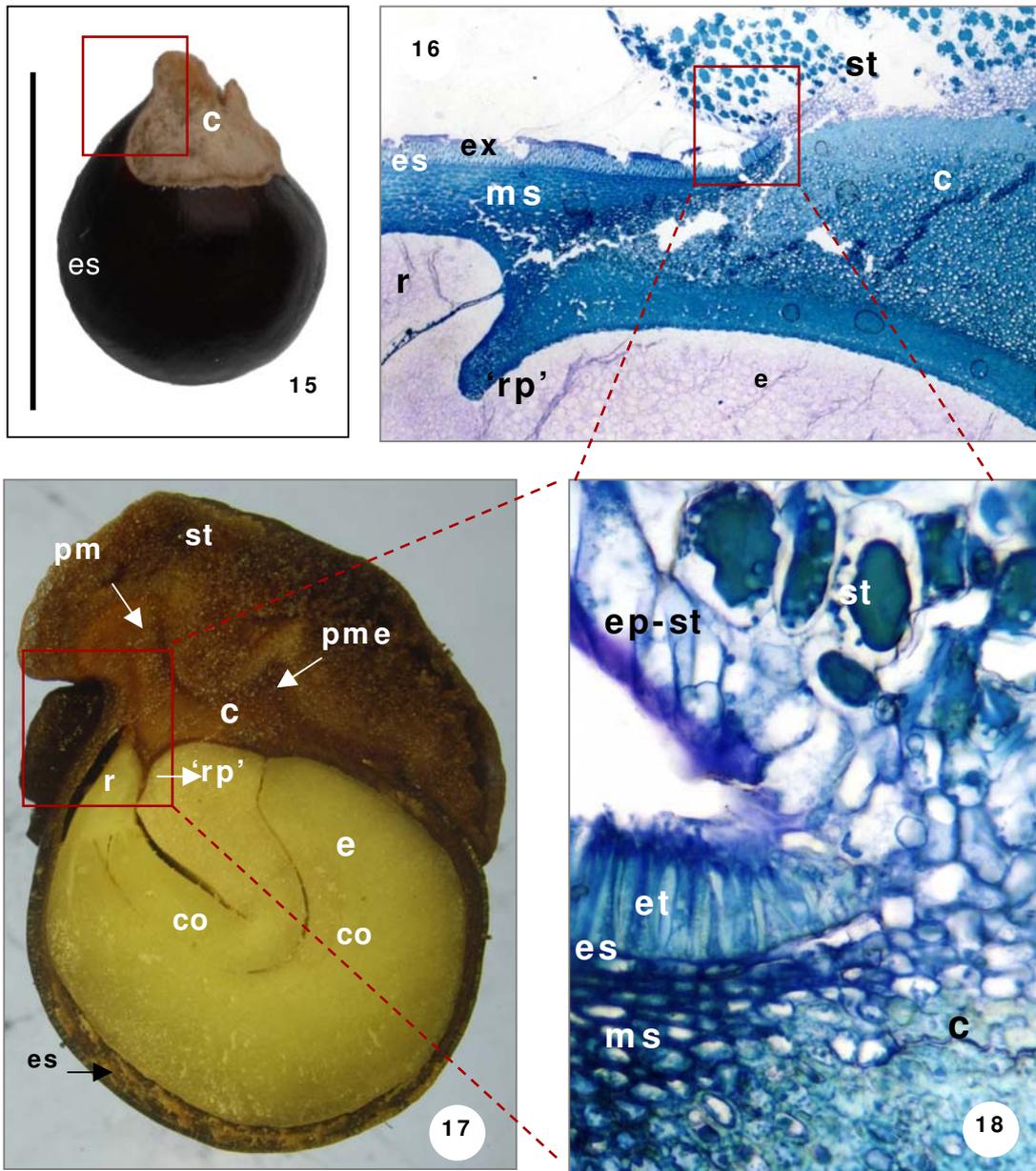
Ao analisar a morfologia e anatomia das sementes das espécies coletadas, foi encontrado um padrão geral para reconhecê-las. Nesse padrão morfo-anatômico vários caracteres variaram de maneira gradual ou descontínua e permitiram qualitativa ou quantitativamente diferenciar as espécies a partir unicamente da semente para sua identificação. Para facilitar a apresentação dos resultados os caracteres foram divididos em morfológicos e anatômicos. Nas Tabelas 2, 3 e 4, foram organizados os dados quantitativos obtidos das medições dos caracteres mais relevantes nos frutos e nas sementes. Foi encontrado que a forma e o tamanho da semente, a morfologia da sarcotesta e da cicatriz, e as características anatômicas da exotesta e mesotesta, constituem os caracteres principais para diferenciar as espécies examinadas, portanto foi dada maior ênfase na descrição e análise desses caracteres.

As figuras 9 a 27 mostram o modelo explicativo da morfologia e anatomia geral de sementes de *Paullinia*. Utilizou-se a espécie *Paullinia coriacea* Casar. para ilustrar o padrão morfológico e anatômico apresentado pelas espécies estudadas.

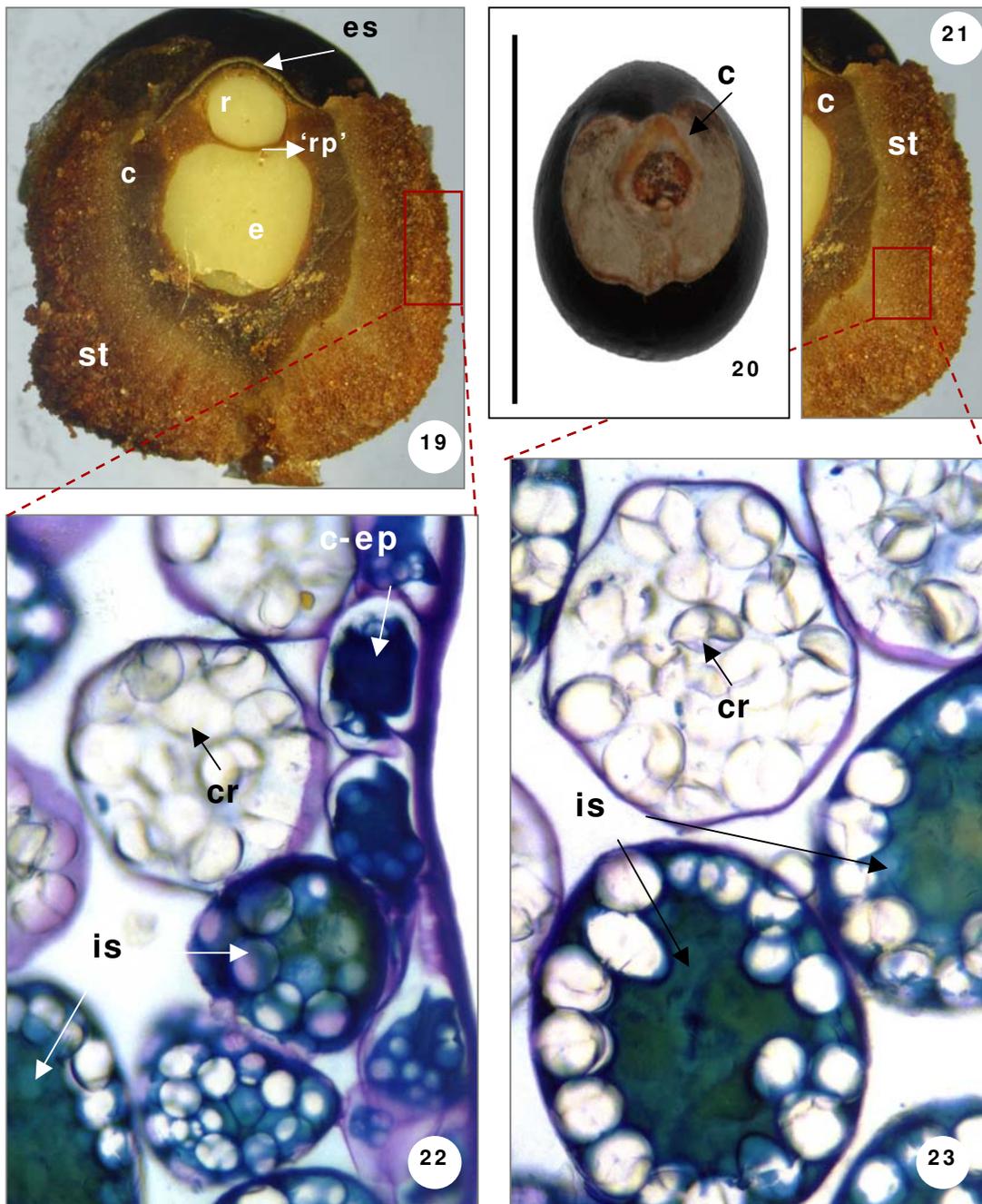
Não foi objetivo principal da pesquisa incluir aspectos morfológicos dos frutos das espécies estudadas, mais foram incluídas as dimensões do fruto e do estípite. Ao examinar o material foi observada uma evidente relação entre a morfologia e o tamanho dos frutos e a morfologia das sementes. Não obstante essas correlações denotam possíveis tendências biológicas e evolutivas no grupo no referente aos frutos e as sementes, não foram analisadas com rigor neste estúdio devido ao pequeno tamanho das amostras e a falta de maior número de espécies de outras seções.



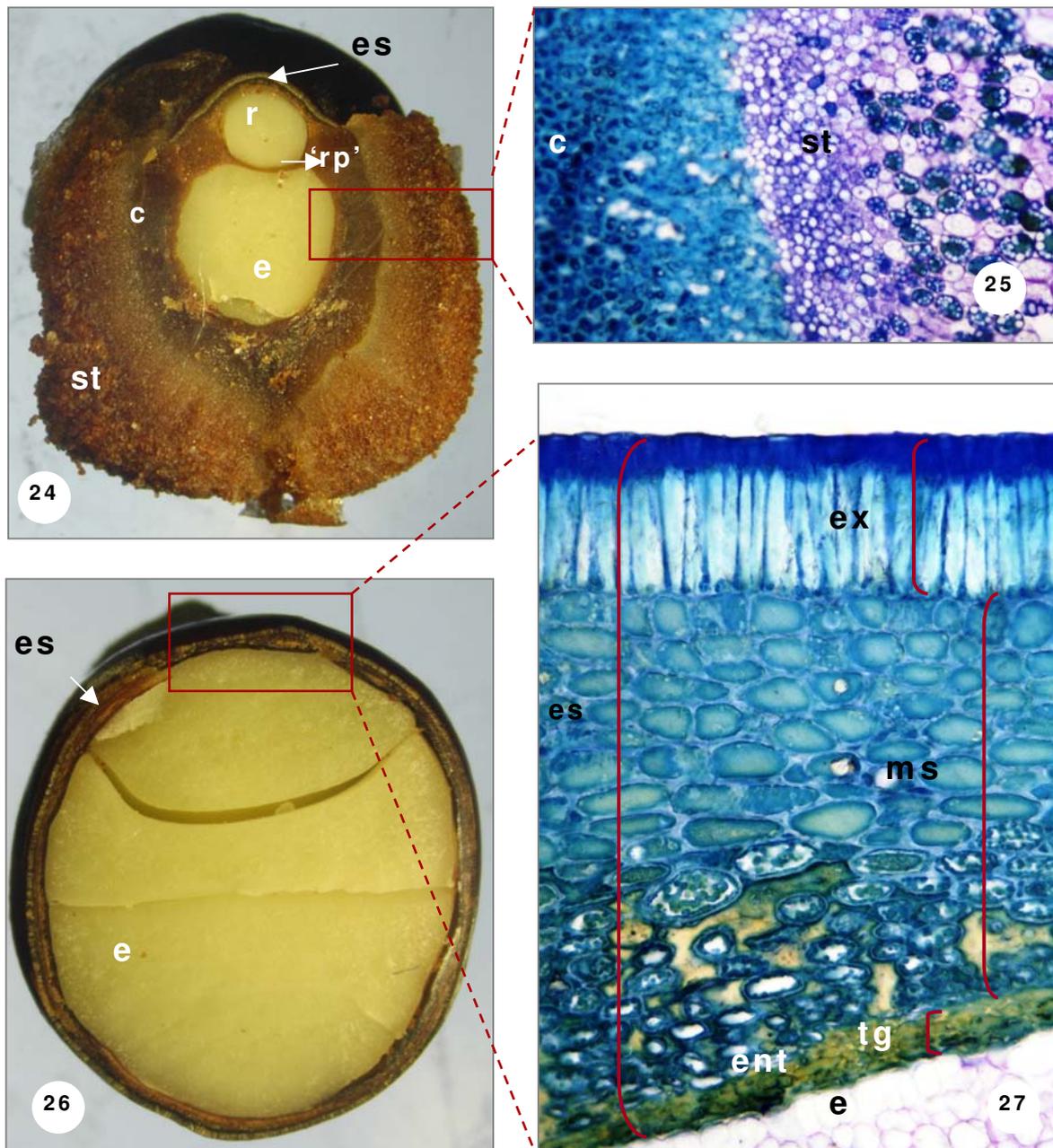
Figuras 9 – 14. Modelo Explicativo da morfologia externa das sementes de *Paullinia*. Para exemplificar o padrão morfológico foi utilizado o fruto e a semente da espécie *P. coriacea* (Obando 313, UEC). **9.** Fruto antes da deiscência. **10.** Fruto após a deiscência. **11 – 14.** Semente com cicatriz evidente depois da sarcotesta branca ser retirada. **11.** Semente em vista lateral. A seta negra indica a cicatriz, as setas vermelhas apontam as projeções maior e menor. **12.** Semente em vista micropilar, as setas indicam os lóbulos da região rafe e anti-rafe. **13.** Semente em vista anti-rafeal, as setas indicam os lóbulos anti-rafeais. **14.** Semente em vista rafeal, a seta indica o lóbulo rafeal. Barra em 11 - 14: 1 cm. **c** – cicatriz, **es** – envoltório seminal, **l-ra** – lóbulo rafe, **l-anr** – lóbulo anti-rafe, **pm** – projeção maior, **pme** – projeção menor, **st** – sarcotesta. Linha pontuada grossa em 13: medida de lóbulos da anti-rafe. Linha pontuada fina negra em 14: medida da projeção maior. Linha pontuada fina branca em 14: medida da projeção menor.



Figuras 15 – 18. Modelo Explicativo da morfologia interna e anatomia das sementes de *Paullinia*. Para exemplificar o padrão morfo-anatômico foi utilizada a semente da espécie *P. coriacea* (Obando 313, UEC). **15.** Semente em vista lateral, o quadrado vermelho ressalta uma parte da região do envoltório seminal e da cicatriz. Barra: 1 cm. **16.** Anatomia da região do envoltório seminal, cicatriz e sarcotesta em corte longitudinal. **17.** Morfologia interna da semente em seção longitudinal. **18.** Detalhe anatômico da região de continuidade do envoltório seminal, sarcotesta e cicatriz em corte longitudinal. **c** – cicatriz, **co** – cotilédone, **e** – embrião, **ep-st** – epiderme sarcotesta, **es** – envoltório seminal, **et** – exotesta, **ms** – mesotesta, **pm** – projeção maior, **pme** – projeção menor, **r** – radícula, **'rp'** – 'radicle pocket' (ou septo radicular, segundo Corner), **st** - sarcotesta.



Figuras 19 – 23. Modelo Explicativo da morfologia interna e anatomia da estrutura carnosa das sementes de *Paullinia*. Para exemplificar o padrão morfo-anatômico foi utilizada a semente da espécie *P. coriacea* (Obando 313, UEC). **19.** Morfologia interna da semente na região na altura da fissura anti-rafeal da sarcotesta e da radícula em seção transversal. **20.** Semente em vista micropilar. Barra: 1 cm. **21.** Detalhe da morfologia interna da sarcotesta e a cicatriz em seção transversal. **22.** Detalhe anatômico do tecido da sarcotesta e das células parenquimáticas com compostos de reserva, provavelmente amidos e lipídios, e idioblastos secretores, **23.** Detalhe anatômico das células componentes da sarcotesta e seu conteúdo, células parenquimáticas e idioblastos secretores. **c** – cicatriz, **c-ep** – célula da epiderme da sarcotesta, **cr** – compostos de reserva, **e** – embrião, **es** – envoltório seminal, **is** – idioblasto secretor, **r** – radícula, **'rp'** – 'radicle pocket', **st** – sarcotesta.



Figuras 24 – 27. Modelo Explicativo da morfologia interna e anatomia do envoltório seminal e cicatriz nas sementes de *Paullinia*. Para exemplificar o padrão morfo-anatômico foi utilizada a semente da espécie *P. coriacea* (Obando 313, UEC). **24.** Morfologia interna da semente na região à altura da fissura da sarcotesta e da radícula em seção transversal. **25.** Detalhe anatômico da região do embrião, cicatriz e sarcotesta em corte transversal. **26.** Detalhe da morfologia interna na região da semente sem sarcotesta, aparece o envoltório seminal e o embrião, em seção transversal. **27.** Anatomia do envoltório seminal em corte transversal. Detalhe da exotesta, mesotesta, endotesta e tégmen. **c** – cicatriz, **e** – embrião, **es** – envoltório seminal, **ex** – exotesta, **ms** – mesotesta, **ent** – endotesta, **tg** – tegmen, **r** – radícula, **'rp'** – 'radicle pocket', **st** – sarcotesta.

Frutos

O fruto é uma cápsula septífraga, composta de três valvas que se separam ou liberam permitindo a exposição das sementes. Ao final da maturação as cápsulas maduras vermelhas contrastam notavelmente com sementes pretas ou escuras, envolvidas parcial ou totalmente por uma estrutura carnosa branca (Figs. 9 – 10). O principal modo de dispersão no gênero é por zoocoria. Geralmente uma semente, ou duas, desenvolvem por cada fruto, é raro encontrar desenvolvimento de três sementes.

Os frutos podem ser ápteros (Figs. 1 – 4) ou alados (Figs. 5 – 9). Os frutos sem alas apresentam formas globosas, subglobosas ou obovóides. O fruto de *P. elegans* (Fig. 1) diferencia-se dos frutos das outras espécies estudadas de frutos ápteros porque não apresenta sulcos longitudinais.

Os frutos alados podem apresentar varias formas. As alas variam na consistência, forma, margem, dimensão e posição no fruto. Nas espécies com frutos alados, as alas ocupam todo o comprimento do fruto. Em *P. racemosa* (Fig. 7) as alas se dobras ao redor do fruto. Em *P. cristata* (Fig. 6) na área próxima da linha de deiscência das valvas projetam-se uns apêndices aliformes, tipo cristas. Em *P. trigonia* (Fig. 8) a cápsula pode variar de tricarínada a trialada.

Na Tabela 2 foram indicadas as dimensões dos frutos das espécies estudadas. Os frutos variam desde 1,18 até 3,0 cm de comprimento, e de 0,75 cm a 2,5 cm de largura. Em termos gerais os frutos maiores encontram-se entre as espécies de cápsulas ápteras, os frutos de *P. cupana* e *P. spicata* alcançam as maiores dimensões. Os frutos de *P. trigonia* são os menores entre as espécies de cápsulas ápteras e aladas. Entre os frutos das espécies examinadas a variação de tamanho dos estípites está entre 0,3 a 1,5 cm, o estípite de *P. carpopodea* é o mais comprido e o fruto de *P. cristata* não apresenta estípite. Nas cápsulas aladas os estípites são muito curtos. Os frutos de *P. meliaefolia* apresentam os estípites maiores dentro do grupo dos frutos alados.

Padrão morfológico das sementes

Morfologia externa

A semente campilótropa é originada de um óvulo anátropo, ereto e bitegumentado. A superfície do envoltório seminal é seca, lisa, algo lustrosa, e castanho escuro a preta (Fig. 10). As sementes variam de forma globosa, subglobosa, elipsóide,

trígono – elipsoidal a trígona (Fig. 11). O tegumento externo formará o tecido mecânico nas sementes. A exotesta é a camada principal da semente (Fig. 27).

Na base as sementes apresentam uma estrutura carnosa branca aderida à testa e cobrindo parcial ou totalmente a semente (Fig. 10). Para a espécie *P. trigonia*, baseados nos resultados da análise da série ontogenética descritos no Capítulo 1, se determinou que a estrutura carnosa é uma sarcotesta. O tegumento externo participa da formação dessa estrutura, iniciando seu crescimento na porção basal da rafe e na área próxima da micrópila. Outras estruturas de tipo placentário ou septal não participam na formação da estrutura carnosa. Durante o desenvolvimento da semente a exotesta e a mesotesta são as camadas do tegumento externo que se tornam carnosas. A estrutura carnosa das oito espécies examinadas mostra o mesmo padrão que apresenta a estrutura carnosa em *P. trigonia*. Assim, a estrutura foi denominada sarcotesta para as nove espécies estudadas.

Em Sapindaceae as sementes são citadas como: ariladas, ex-ariladas e/ou sarcotestais (Corner, 1976). Para *Paullinia* a estrutura carnosa tem sido denominada e interpretada de varias formas. Radlkofer (1931-1934) denominou essa estrutura como arilo ou arilo adnato. O taxonomista descreveu além uma situação especial para vários representantes de Sapindaceae que possuem sementes com uma porção da testa carnosa, ele afirmou possível encontrar nessas espécies parte da sarcotesta crescendo dentro de um arilo. Corner (1976) descreveu essa estrutura carnosa como arilo livre, arilo adnato ou sarcotesta. Van der Pijl (1957) denominou a estrutura carnosa de arilódio ou sarcotesta parcial. Milanez (1959) e Mendonça et al. (1992) chamaram de arilódio à estrutura carnosa em *P. cupana*. Weckerle & Rutishauser (2005) determinaram usar para seu estudo o termo geral de arilo para os crescimentos carnosos produzidos por algumas regiões da superfície da semente.

Neste estudo como dito anteriormente a carnosidade branca das nove espécies foi definida como sarcotesta parcial e não corresponde a arilo como comumente é citado na literatura. Nossa afirmação além dos resultados obtidos no estudo ontogenético em *P. trigonia*, coincidiu com a denominação dada por Acevedo-Rodríguez (Com. Pess. 2006) ao analisar o material fotográfico das sementes estudadas. Os argumentos para afirmar que a estrutura carnosa corresponde a sarcotesta sem os devidos análises ontogenéticos da semente para oito das nove espécies baseiam-se em que a estrutura permanece adnata à semente e ao ser retirada deixa, no caso de *Paullinia*, uma cicatriz. Normalmente em espécies ariladas ao ser retirada a estrutura carnosa a exotesta não sofre modificações nem aparece um tipo de tecido diferenciando da exotesta. Nas espécies examinadas são as camadas do envoltório seminal na base da semente as que sofrem modificações,

principalmente a exotesta e a mesotesta. As fotografias dos cortes anatômicos na região do envoltório seminal, da cicatriz e da estrutura carnosa (Figs 71 a 86) indicam uma natureza de origem exclusivamente tegumentária para a estrutura carnosa, onde a camada única da exotesta forma gradualmente uma área contínua, mais de transição bem diferenciada com a epiderme da estrutura carnosa, e situação similar ocorre da região da mesotesta com a cicatriz. O padrão da sarcotesta parcial na semente de *P. trigonia* é similar ao apresentado pelas oito espécies.

Retirada aquela estrutura carnosa fica embaixo uma marca pálida de consistência dura (Fig. 11). Essa marca foi denominada de cicatriz. Optou-se pela denominação de cicatriz para a região da semente composta por tecido esclerenquimático, até ser entendida corretamente a origem e a natureza. Vários autores indicaram diversos termos para ela, como 'hilo', 'pseudo-hilo', 'zona de concrecência', entre outros (van der Pijl 1957, Milanez 1959, Weckerle & Rutishauser 2005).

A cicatriz apresenta na base da semente duas projeções, geralmente uma mais prolongada do que a outra. A projeção maior sempre se localiza na região da anti-rafe e a projeção menor na rafe (Fig. 11). Em vista micropilar a cicatriz apresenta forma cordada (Fig. 12). Da anti-rafe sobressaem dos lóbulos maiores e da rafe um lóbulo menos expandido. A separação dos lóbulos na anti-rafe forma um tipo de triângulo e os extremos apresentam diversas angulações, geralmente arredondadas. O comprimento dos lóbulos da anti-rafe foi medido desde o extremo arredondado até o extremo da projeção maior (Fig. 13). Em vista anti-rafeal se evidencia um tipo de constrição na área média, entre a projeção e os lóbulos. Em vista rafeal o lóbulo se localiza no centro e se estende como uma projeção pequena ou ausente (Fig. 14).

Morfologia interna

As sementes são exalbuminadas e o embrião ocupa a maior parte do volume da semente constituindo o principal tecido de reserva. O cotilédone maior externo geralmente é curvo e o interno com freqüência é buplicado. Ocasionalmente podem se apresentar ambos os cotilédones retos ou curvos (Fig. 17).

Depois da fertilização e do crescimento campilótropo da semente, um septo parcial pronunciado evidencia-se entre a micrópila e a calaza, e serve como protetor da radícula. Corner (1976) denominou esta estrutura de 'radicle – pocket' (Fig. 17).

Embora tenham sido observadas diferenças entre os embriões das espécies estudadas (Figs. 63 –70) no referente à morfo-anatomia dos cotilédones, tecidos e substâncias de reserva, neste estudo a análise do embrião não foi contemplada.

Anatomia

A sarcotesta está constituída por células parenquimáticas grandes, com compostos de reserva, amidos e/ou lipídios e por idioblastos secretores cuja secreção pode ser fenólica, afirmação baseada na coloração esverdeada obtida nos cortes anatômicos e as referências encontradas na literatura (Figs. 22 e 23). A cicatriz é formada por esclerênquima. As esclereides apresentam tamanho menor, paredes grossas e pontoações simples. O tecido confere maior rigidez às sementes (Figs. 16 e 18).

A cicatriz é a zona de inserção da sarcotesta (Figs. 18 e 25). Formada por espessas camadas de esclerênquima limita com a estrutura carnosa e a mesotesta do envoltório seminal. O aporte de células esclerosadas da mesotesta junto com os esclerócitos conforma o tecido duro da cicatriz (Fig. 18). A cicatriz apresenta uma a varias camadas diferenciadas do tecido restante as quais limitam com a estrutura carnosa. Igualmente as camadas celulares da sarcotesta que limitam com a cicatriz se diferenciam do resto do tecido. Essas camadas de transição apresentam a mesma morfologia celular, e se diferenciam pelo tamanho das células e sua composição de reservas e compostos químicos (Figs. 24 e 25).

O tegumento jovem é verde, provavelmente, pela presença de cloroplastos que na maturação decompõe-se a clorofila, surgindo substâncias diversas, de natureza não definida que conferem ao tegumento cor escura na maturidade. O envoltório seminal é duro mais facilmente quebradiço (Fig. 26).

Na semente madura é possível distinguir os limites entre a exotesta e mesotesta (Fig. 27); porém, entre a endotesta e o tégmen os limites são pouco diferenciados. A exotesta está formada por uma camada de células em paliçada, lignificadas e com conteúdo fenólico nos seus lúmens, coberta por uma cutícula resistente e engrossada. Em corte tangencial as células se observam com formas tetra, penta ou hexagonais, que conferem maior rigidez à testa. A mesotesta consta de várias camadas de células parenquimáticas de paredes grossas e com abundantes compostos fenólicos. Algumas células apresentam-se parcialmente colapsadas e com lúmens vazios e paredes bastante espessas. As células da endotesta na semente madura aparecem comprimidas e reduzidas. Durante o desenvolvimento da semente o tegumento interno fica reduzido a

poucas camadas de células colapsadas. Nas sementes maduras o tégmen parece ausente devido ao fato das células apresentarem excessivamente amassadas (Fig. 27).

Na semente existe uma região composta pela continuação dos tecidos do envoltório seminal, cicatriz e sarcotesta (Fig. 16). Mesmo contínua, a transição é gradativa sendo possível definir os limites correspondentes a cada um dos tecidos pelos tipos diferentes de células que as compõem (Fig. 18).

As células da exotesta ao atingirem o tecido esclerenquimático da cicatriz, começam a diminuir em dimensões e sua forma geral se altera. A base aumenta de tamanho na face aderente ao esclerênquima e na outra face livre a célula apresenta uma marcada diminuição, como resultado, a célula torna-se cuneiforme. A morfologia dessas células permite que a camada exotestal descreva uma curva de aproximadamente 180°. Pouco depois de terminada a curva, as paredes se adelgaçam e a camada adquire os caracteres da epiderme da estrutura carnosa. Após a paliçada da exotesta é possível encontrar um ou dois elementos celulares externos que mostrem vestígio de espessamento e lignificação (Figs. 16 e 18).

Diferenças nas sementes maduras das espécies de *Paullinia* estudadas

De modo geral, a morfologia e a anatomia das sementes das espécies examinadas apresentaram os caracteres típicos descritos no gênero assim como para a família Sapindaceae referidos por Radlkofer (1931-1934), van der Pijl (1955, 1957, 1982), Corner (1976) e Weckerle & Rutishauser (2005). As sementes são de tipo exotestal como definido por Corner (1976).

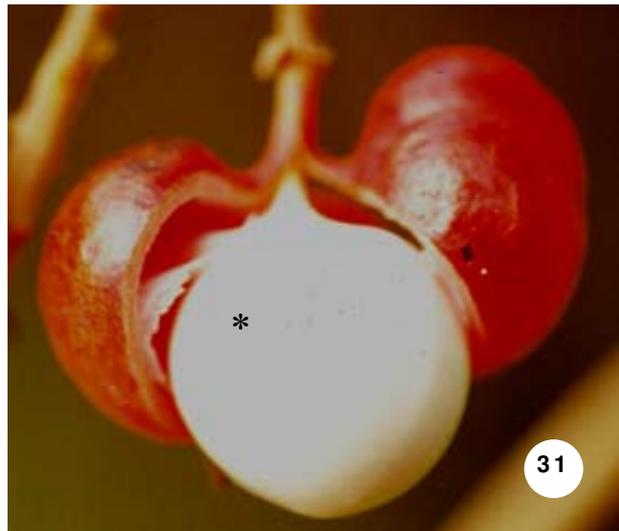
Morfologia externa

O comprimento das sementes de *Paullinia* incluindo a sarcotesta variou desde 0,8 até 1,8 cm (Tabela 2). As sementes maiores são provenientes das espécies com cápsulas sem alas, das quais a semente de *P. spicata* é a maior. Na Tabela 2 foram incluídos os valores de comprimento da semente e a proporção que a sarcotesta cobre a semente. A sarcotesta envolve até ou mais de três quartos da semente de frutos sem alas (Figs. 28-31). Nas cápsulas aladas a sarcotesta cobre apenas até a metade da semente (Figs. 32-35). Em *P. carpopodea* a sarcotesta envolve quase totalmente a semente exceto numa pequena porção de forma linear, circular ou em forma de gota (Fig. 31). A sarcotesta das sementes de frutos sem alas não apresenta fissuras na região da anti-rafe, e as margens

geralmente são crenadas. Nos frutos alados a sarcotesta apresenta uma fissura na anti-rafe e as margens são inteiras, exceto para *P. meliaefolia* que apresenta várias ondulações notáveis até as margens (Fig. 32).

Tabela 2. Lista de espécies de *Paullinia* L. examinadas. Dimensões do fruto, da semente incluindo a sarcotesta, comprimento e proporção de cobertura da sarcotesta na semente. Medida do comprimento em cm.

Seção	Taxa	Tamanho Fruto (cm)		Tamanho semente incluindo sarcotesta (cm)		
		(comp x larg)	Estípite (comp)	Semente e sarcotesta (comp)	Sarcotesta (comp)	Sarcotesta proporção cobertura
I	<i>Paullinia elegans</i> Cambess.	1,6–2,0 x 1,9–2,5	0,26–0,3	0,94–1,03	0,7–0,85	3/4
I	<i>Paullinia spicata</i> Benth.	1,8–2,1 x 1,8–1,95	0,9–0,95	1,47–1,8	1,16–1,5	3/4
III	<i>Paullinia cupana</i> Kunth	2,08–3,06 x 1,88–2,28	0,95–1,3	1,34– 1,7	0,5–0,72	3/4
IV	<i>Paullinia carpopodea</i> Cambess.	1,6–1,8 x 1,8–2,3	1,4–1,5	1,08–1,3 x 1,1–1,5	-	4/4
XII	<i>Paullinia meliaefolia</i> A.L. Juss.	1,9–2,10 x 1,5–1,6	0,48–0,6	1,1–1,26	0,7–0,8	2/4
XIII	<i>Paullinia coriacea</i> Casar.	1,35–1,58 x 1,45–1,58	0,05– 0,07	1,02–1,22	0,8–0,85	2/4
XIII	<i>Paullinia cristata</i> Radlk.	1,56–1,58 x 1,82–2,06	--	1,0–1,18	0,47–0,5	2/4
XIII	<i>Paullinia racemosa</i> Wawra	1,70–1,94 x 1,41–1,63	0,3–0,40	1,07–1,08	0,76–0,82	2/4
XIII	<i>Paullinia trigonia</i> Vell.	1,18–1,35 x 0,75–0,93	0,27–0,3	0,80–0,84	0,60–0,7	2/4



Figuras 28 – 31. Detalhe da sarcotesta (*) em sementes de espécies de *Paullinia* do grupo com frutos ápteros. **28.** *P. elegans* (Obando 289, UEC). **29.** *P. spicata* (Obando 313, UEC). **30.** *P. cupana* (Urdampilleta 275, UEC). **31.** *P. carpopodea* (Obando 297, UEC).



Figuras 32 – 35. Detalhe da sarcotesta (*) em sementes de espécies de *Paullinia* do grupo com frutos alados. **32.** *P. meliaefolia* (Urdampilleta 277, UEC). **33.** *P. cristata* (Obando 300, UEC). **34.** *P. racemosa* (Ribeiro 593, UEC). **35.** *P. trigonia* (Obando 292, UEC).

As medidas de comprimento total, largura lateral – lateral, largura rafe – anti-rafe para as sementes sem sarcotesta, e tamanho da cicatriz, da projeção maior e lóbulos na região anti-rafe, encontram-se organizados na Tabela 3. As sementes examinadas mostraram comprimento desde 6,5 mm até 16 mm sem a sarcotesta. As sementes de *P. spicata* e *P. cupana* apresentaram maior tamanho (Figs. 37 e 38), e as sementes de *P. cristata* apresentaram tamanhos menores (Fig. 41).

Tabela 3. Lista de espécies de *Paullinia* L. examinadas. Dimensões de comprimento, largura lateral – lateral (L-L) e largura rafe – anti-rafe (R – Ar) da semente sem sarcotesta, dimensões da projeção maior da cicatriz e dos lóbulos na região antirafeal até a altura da projeção.

Seção	Taxa	Tamanho Semente sem sarcotesta (em mm)			Tamanho Cicatriz (em mm)	
		Comprimento Total	L-L	R-Ar	Projeção Maior	Lóbulos região anti- rafeal
I	<i>Paullinia elegans</i> Cambess.	8,3 – 10,0	4,7 – 5,4	7,3 – 8,8	2,2 – 2,9	4,1 – 4,7
I	<i>Paullinia spicata</i> Benth.	12,2 – 12,7	13 – 13,5	12,5 - 13,0	-	7,3 - 8,2
III	<i>Paullinia cupana</i> Kunth	12,6 – 16	12,7 – 13	11,7 – 13	1,6 – 2,6	2,8 – 3,8
IV	<i>Paullinia carpopodea</i> Cambess.	8,0 - 9,5	10,5 – 13	-	-	-
XII	<i>Paullinia meliaefolia</i> A.L. Juss.	9,2 – 10,1	7,2 – 7,6	7,4 – 7,8	1,8 – 2,1	3,9 - 4,4
XIII	<i>Paullinia coriacea</i> Casar.	9,3 - 10	6,0 – 6,8	7,2 – 8,4	1,7 – 2,1	4,6 – 4,8
XIII	<i>Paullinia cristata</i> Radlk.	6,5 – 6,8	5,6 – 6,4	5,7 – 6,4	0,7 – 0,8	2,0 – 2,3
XIII	<i>Paullinia racemosa</i> Wawra	9,5 – 9,8	6,5 – 6,7	7,3 – 8,1	1,9 – 2,7	4,7 – 4,8
XIII	<i>Paullinia trigonia</i> Vell.	8,0 – 8,8	4,9 – 6,3	5,6 – 6,8	1,6 – 2,3	3,1 – 3,5

Em vista lateral a forma das sementes varia desde globosa, obovóide a elipsóide (Figs. 36-43). As medidas permitem adiantar a forma e contorno que apresentam as sementes e existe uma relação entre o comprimento e a largura da região lateral-lateral (L-L) e da largura rafe - anti-rafe (R-AR). Em vista micropilar a forma da semente se destaca com maior precisão e varia desde globosa, subglobosa, trígona, trígona elipsoidal e elipsóide (Figs. 44 a 51). Entre as de forma globosa ou subglobosa estão: *P. spicata*, *P. cupana* e *P. carpopodea* (Figs. 37-39). Marcadamente trígonas as sementes de *P. meliaefolia* e *P. cristata* (Figs. 48-49). Em *P. elegans* foi encontrada a única semente

comprimida lateralmente (Fig. 44). As outras espécies apresentam sementes com formas trígona-elipsoidal a trígona-subglobosa (Figs 12, 50 e 51).

A cicatriz ou marca pálida encontrada ao retirar a estrutura carnosa é talvez um dos caracteres de maior importância para diferenciar as espécies e permite separá-las rapidamente. Nas espécies estudadas a cicatriz é menor do que a sarcotesta, a porção marginal do tecido carnoso fica livre e não aderida à exotesta. As dimensões da expansão marginal da sarcotesta variam também entre as espécies. A afirmação concorda com as observações de campo de Acevedo-Rodríguez (Com. Pess. 2006) para sementes em outros representantes de *Paullinia* onde a porção marginal da sarcotesta apresenta-se diversamente expandida.

Em sementes globosas, *P. carpopodea* esta envolvida quase totalmente pela cicatriz lisa que não apresenta lóbulos nem projeções, e tem um vestígio de envoltório seminal em forma penta ou hexagonal (Fig. 39). *P. cupana* apresenta duas projeções, sendo a projeção maior bastante conspícua, contrario a *P. spicata* que apresenta projeções muito reduzidas (Figs. 37-38). *P. elegans* é a única espécie que exhibe duas projeções do mesmo tamanho (Tabela 3), sendo as maiores quando comparadas com as demais espécies (Fig. 36).

As sementes do grupo das cápsulas aladas são muito semelhantes entre se, mas os caracteres da cicatriz permitem separar as espécies (Figs. 11, 40-43). O tamanho da semente, sua morfologia pronunciadamente triangular e a cicatriz cordada quase triangular separa *P. cristata* das restantes. *P. meliaefolia* não tem as duas projeções típicas da maioria das espécies, exhibe uma projeção em forma de coluna, com uma constrição moderada na base da coluna e o lóbulo da rafe ausente (Fig. 40).

O forte grau de constrição e o lóbulo da rafe comprido e expandido separam a *P. racemosa* (Figs. 56, 62) das sementes de *P. coriacea* e *P. trigonia*. A cicatriz com uma suave e imperceptível constrição e um lóbulo diminuto na rafe *P. coriacea* permitem diferenciá-la da semente de *P. trigonia*, onde a constrição é marcada e o lóbulo na rafe é ausente (Figs 43, 57).

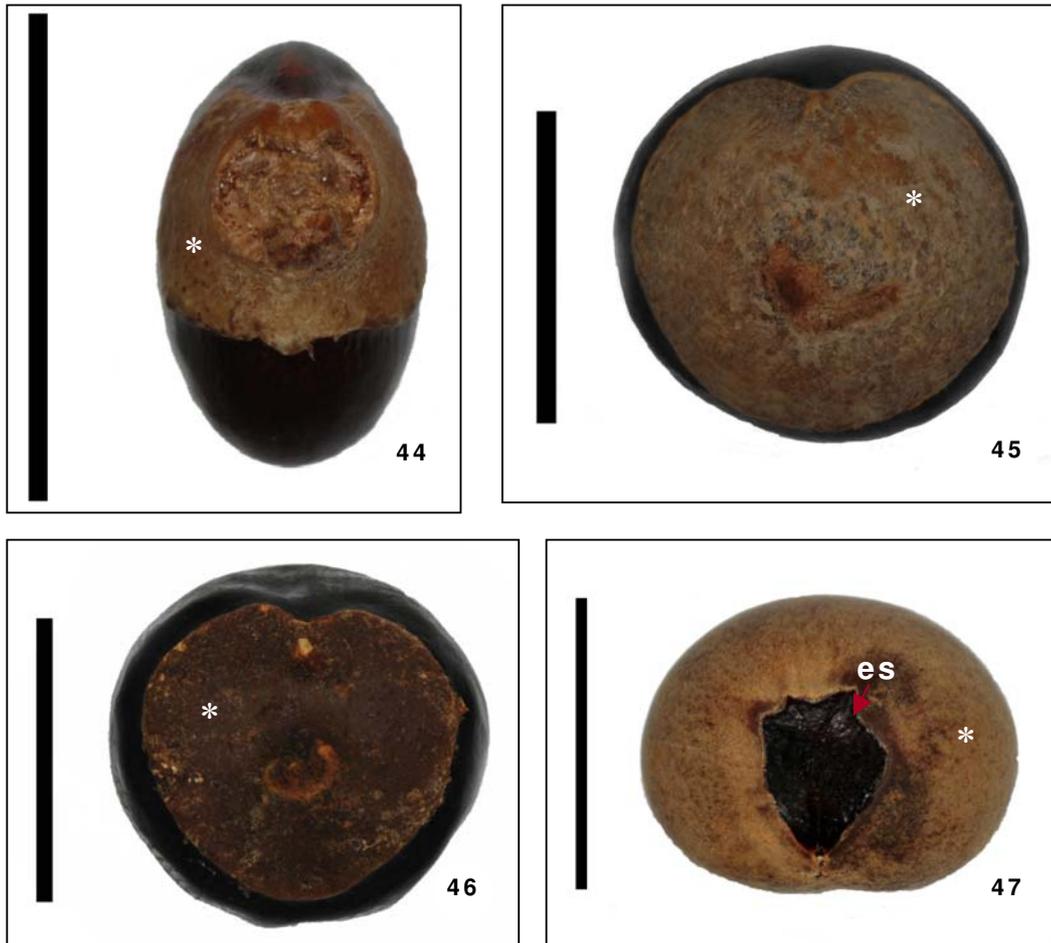
As sementes de *P. elegans*, *P. cristata* e *P. racemosa*, (Figs. 52, 55 e 58) não apresentaram nenhum tipo de constrição se comparada com as quatro espécies que mostraram sementes com morfologia similar, *P. meliaefolia*, *P. coriacea*, *P. racemosa* e *P. trigonia* (Figs. 53, 54, 56 e 57). Nas figuras 59 a 62 é observado o grau de expansão do lóbulo da rafe. Em *P. meliaefolia* o lóbulo está ausente (Fig. 60). Em *P. elegans* e *P. coriacea* (Figs. 59 e 61) o lóbulo é diminuto. No entanto em *P. racemosa* o lóbulo é notável e alongado pela maior parte da rafe (Fig. 62).



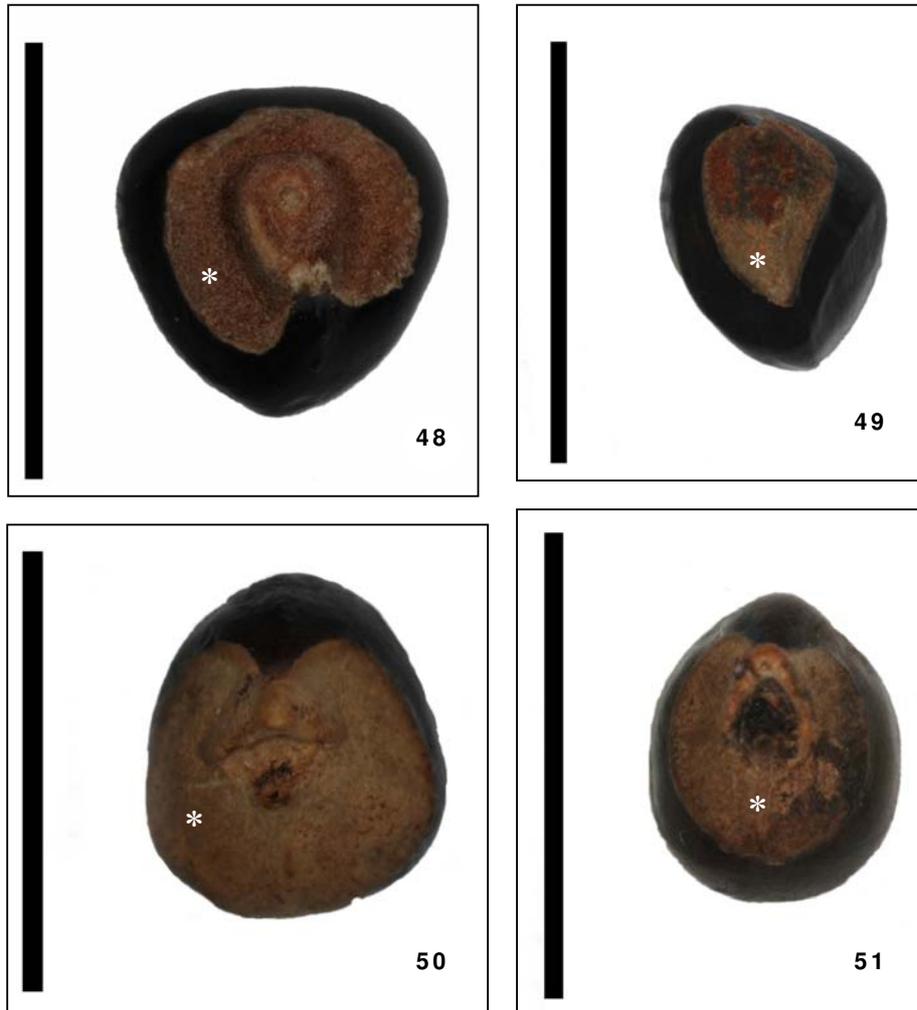
Figuras 36 – 39. Morfologia da semente em vista lateral e detalhe da cicatriz (*) em espécies de *Paullinia* do grupo com frutos ápteros. **36.** *P. elegans* (Obando 289, UEC). **37.** *P. spicata* (Obando 313, UEC). **38.** *P. cupana* (Urdampilleta 275, UEC). **39.** *P. carpopodea* (Obando 297, UEC). Barra: 1 cm.



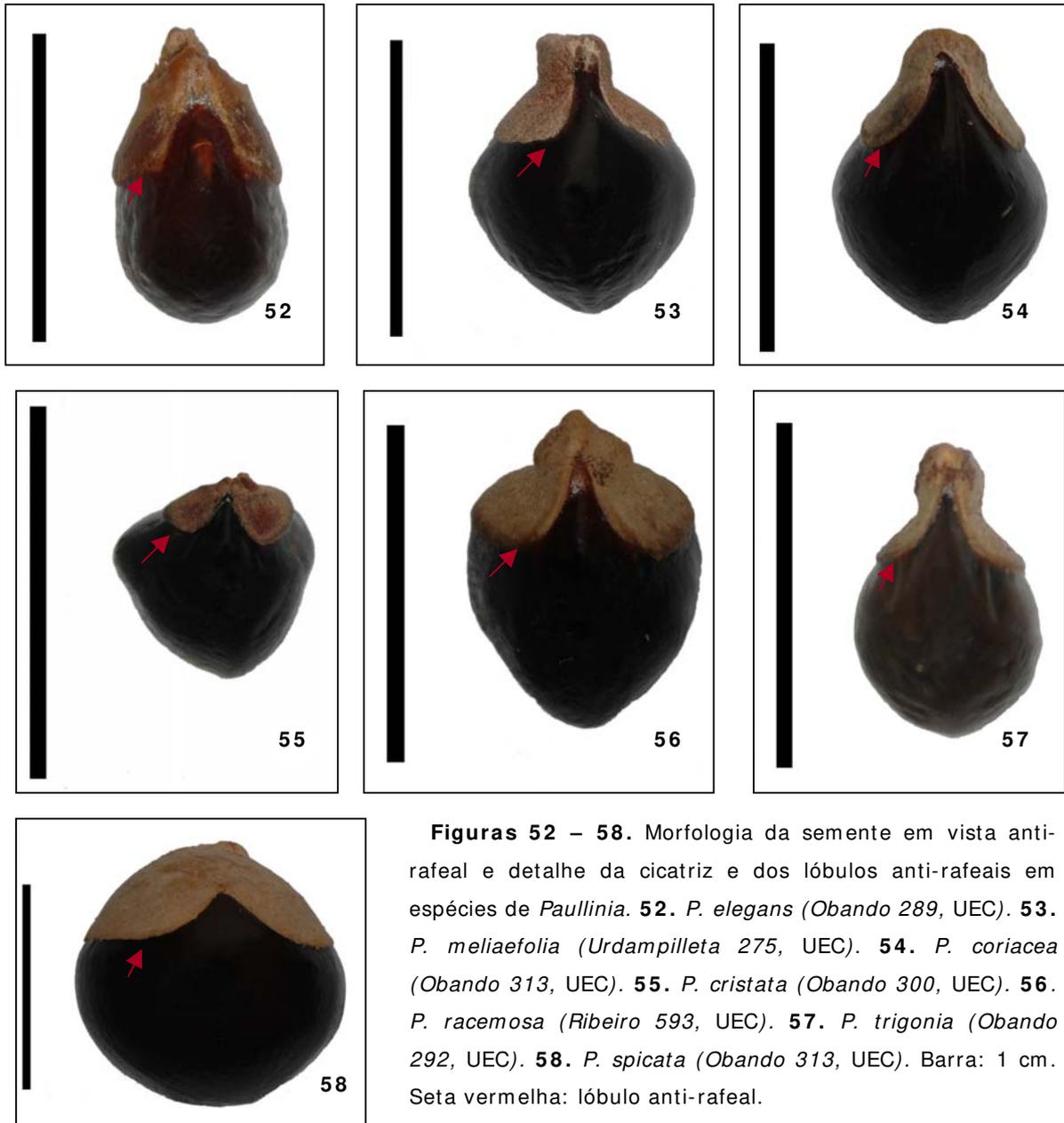
Figuras 40 – 43. Morfologia da semente em vista lateral e detalhe da cicatriz (*) em espécies de *Paullinia* do grupo com frutos alados. **40.** *P. meliaefolia* (Urdampilleta 275, UEC). **41.** *P. cristata* (Obando 300, UEC). **42.** *P. racemosa* (Ribeiro 593, UEC). **43.** *P. trigonia* (Obando 292, UEC). Barra: 1 cm. **c** – cicatriz.



Figuras 44 – 47. Morfologia da semente em vista micropilar e detalhe da cicatriz (*) em espécies de *Paullinia* do grupo com frutos ápteros. **44.** *P. elegans* (Obando 289, UEC). **45.** *P. spicata* (Obando 313, UEC). **46.** *P. cupana* (Urdampilleta 275, UEC). **47.** *P. carpopodea* (Obando 297, UEC). Barra: 1 cm. **es** – envoltório seminal.

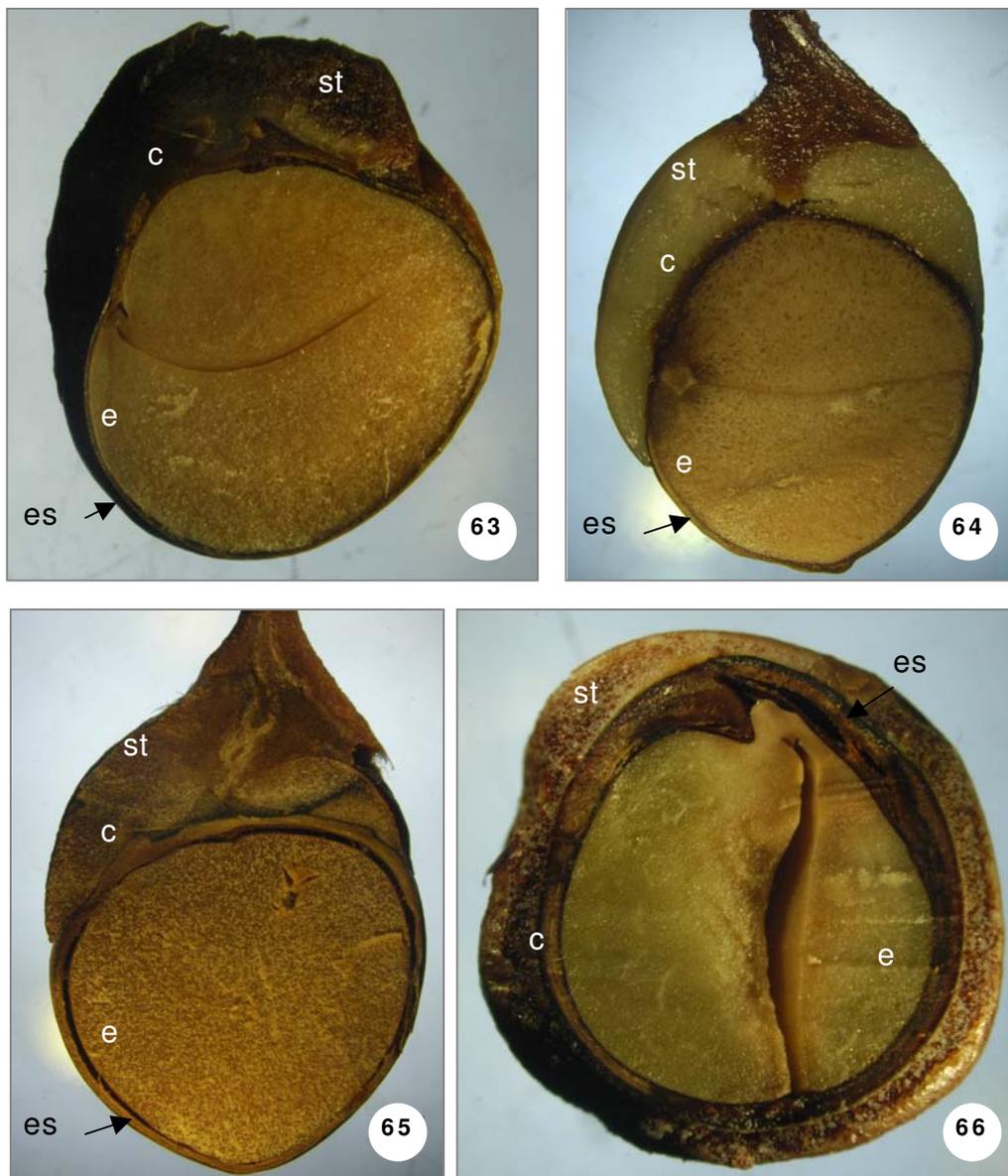


Figuras 48 – 51. Morfologia da semente em vista micropilar e detalhe da cicatriz (*) em espécies de *Paullinia* do grupo com frutos alados. **48.** *P. meliaefolia* (Urdampilleta 275, UEC). **49.** *P. cristata* (Obando 300, UEC). **50.** *P. racemosa* (Ribeiro 593, UEC). **51.** *P. trigonia* (Obando 292, UEC). Barra: 1 cm. c – cicatriz.

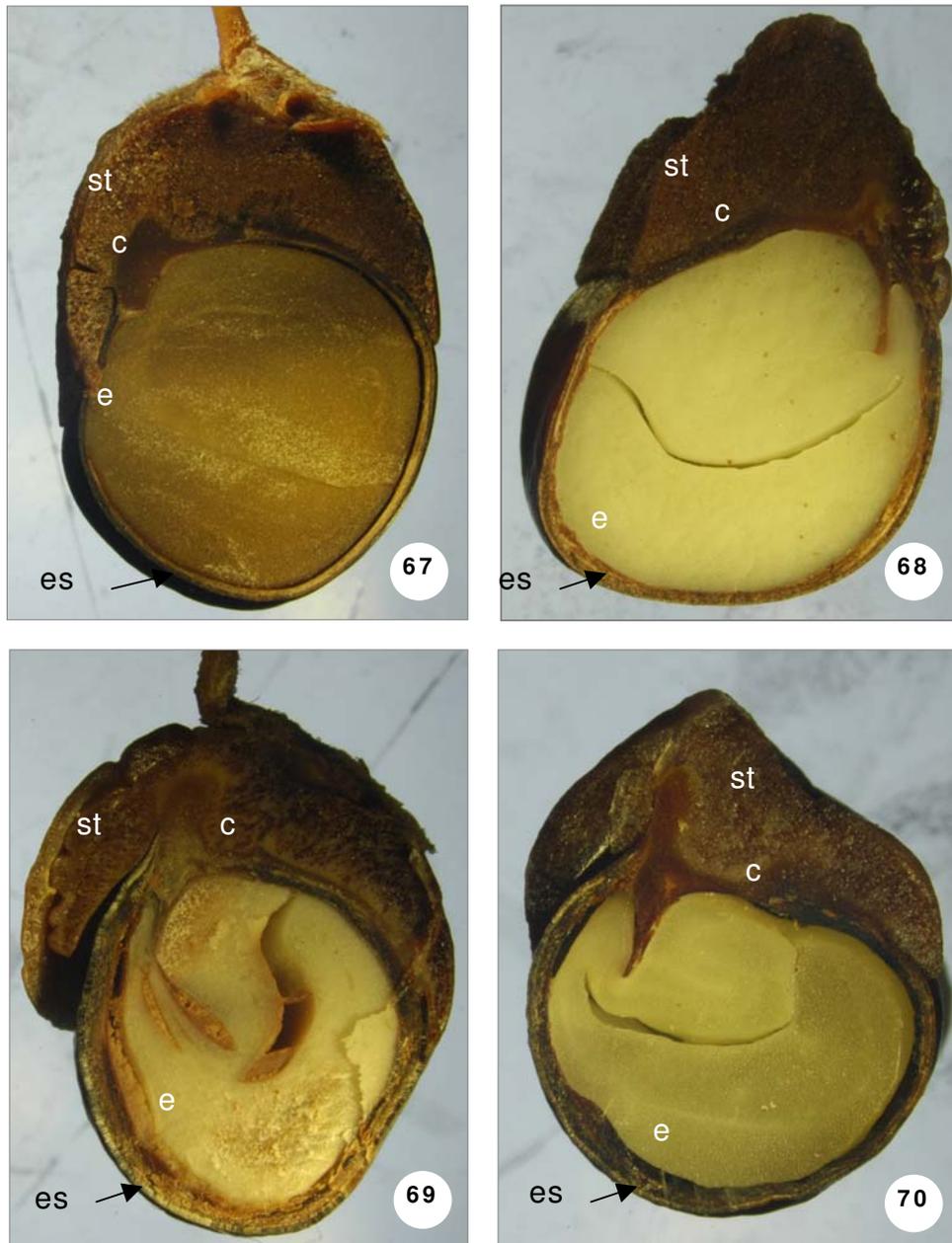




Figuras 59 – 62. Morfologia da semente em vista rafeal e detalhe da cicatriz e do lóbulo rafeal em espécies de *Paullinia*. **59.** *P. elegans* (Obando 289, UEC). **60.** *P. meliaefolia* (Urdampilleta 275, UEC). **61.** *P. coriacea* (Obando 313, UEC). **62.** *P. racemosa* (Ribeiro 593, UEC). Barra: 1 cm. Seta vermelha: lóbulo rafeal. Seta negra: sem lóbulo rafeal.



Figuras 63 – 66. Morfologia interna das sementes de *Paullinia* em seção longitudinal. **63.** *P. elegans* (Obando 289, UEC). **64.** *P. spicata* (Obando 313, UEC). **65.** *P. cupana* (Urdampilleta 275, UEC). **66.** *P. carpopodea* (Obando 297, UEC). **c** – cicatriz, **e** – embrião, **es** – envoltório seminal, **st** – sarcotesta.



Figuras 67 – 70. Morfologia interna das sementes de *Paullinia* em seção longitudinal. **67.** *P. meliaefolia* (Urdampilleta 275, UEC). **68.** *P. cristata* (Obando 300, UEC). **69.** *P. racemosa* (Ribeiro 593, UEC). **70.** *P. trigonia* (Obando 292, UEC). **c** – cicatriz, **e** – embrião, **es** – envoltório seminal, **st** – sarcotesta.

Anatomia

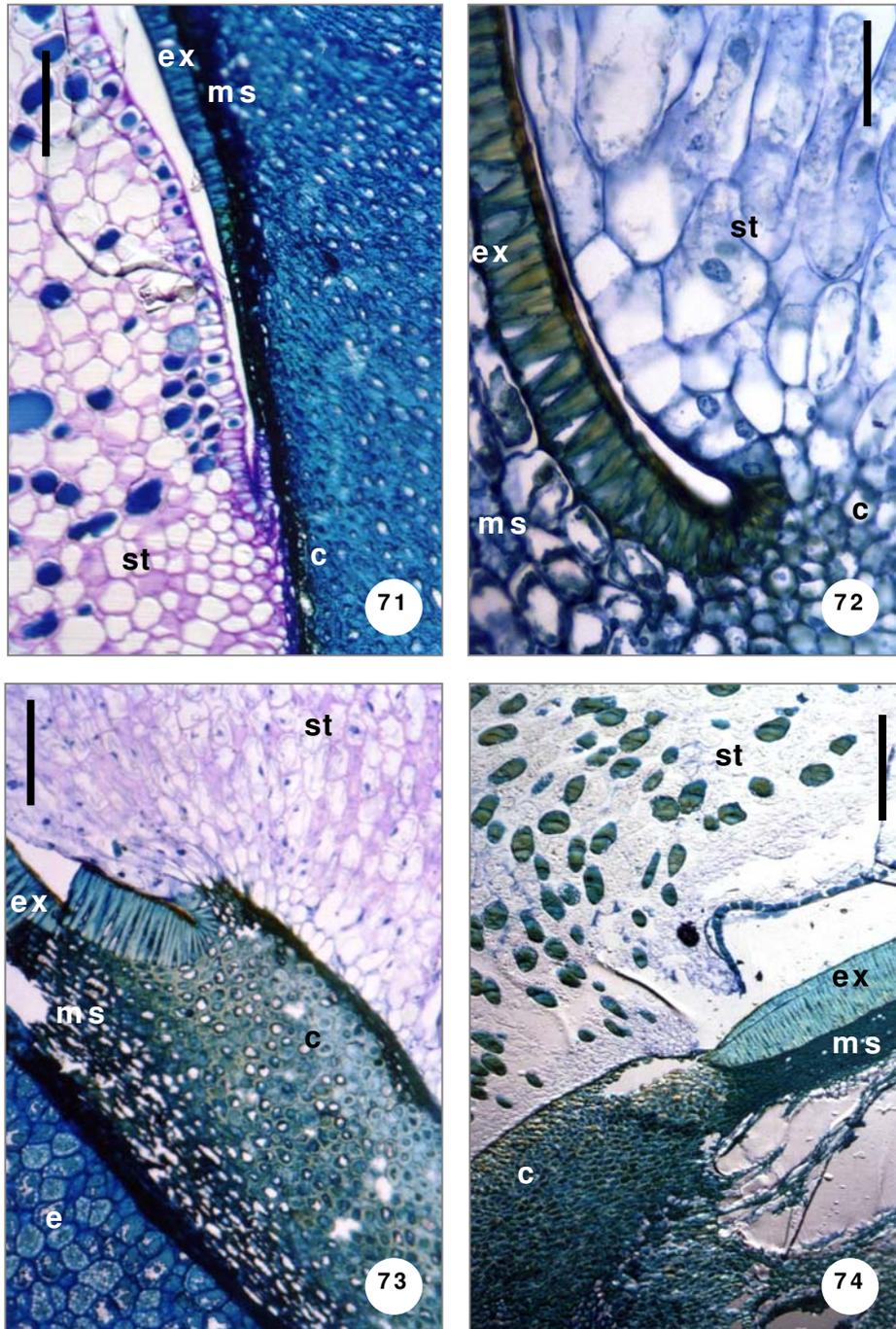
As sementes estudadas apresentaram a região composta pela continuação dos tecidos do envoltório seminal, cicatriz e da sarcotesta com as características similares às descritas no padrão anatômico das sementes de *Paullinia* (Figs. 71-78). As diferenças na região devem-se ao número de camadas que compõem cada tecido, e à morfologia e dimensões particulares das células dos tecidos de cada espécie (Figs. 79- 86).

Situação idêntica é apresentada na região de continuidade entre o embrião, a cicatriz e a sarcotesta. O padrão é similar em todas as espécies estudadas. O número de camadas de esclereídes confere uma espessura diferente ao tecido que conforma a cicatriz. As células da sarcotesta que limitam com a cicatriz apresentam morfologia e dimensões variáveis entre as espécies (Figs. 87-94).

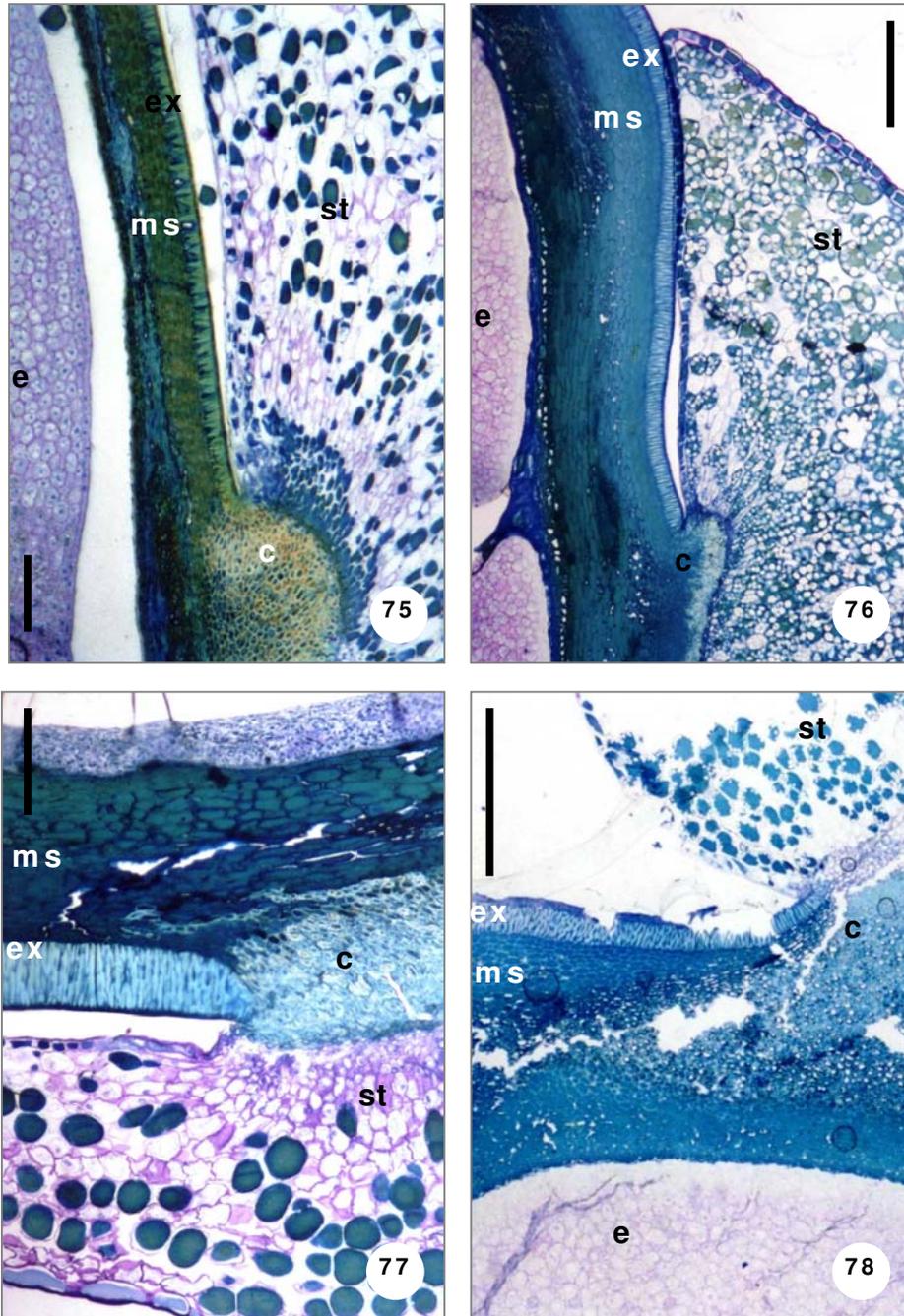
Tabela 4. Medidas do envoltório seminal (que inclui as camadas colapsadas da endotesta e tégmen), da exotesta e mesotesta. Comprimento em μm .

Seção	Taxa	Envoltório Seminal	Exotesta	Mesotesta
I	<i>Paullinia elegans</i> Cambess.	140 - 175	35 - 42	87 - 105
I	<i>Paullinia spicata</i> Benth.	183 - 208	16 - 33	166 - 183
III	<i>Paullinia cupana</i> Kunth	420 - 455	122 - 140	280 - 315
IV	<i>Paullinia carpopodea</i> Cambess.	385 - 437	210 - 245	180 - 220
XII	<i>Paullinia meliaefolia</i> A.L. Juss.	183 - 200	41 - 50	141 - 150
XIII	<i>Paullinia coriacea</i> Casar.	392 - 490	105 - 119	262 - 367
XIII	<i>Paullinia cristata</i> Radlk.	340 - 360	40 - 52	300 - 320
XIII	<i>Paullinia racemosa</i> Wawra	400 - 440	160 - 180	240 - 260

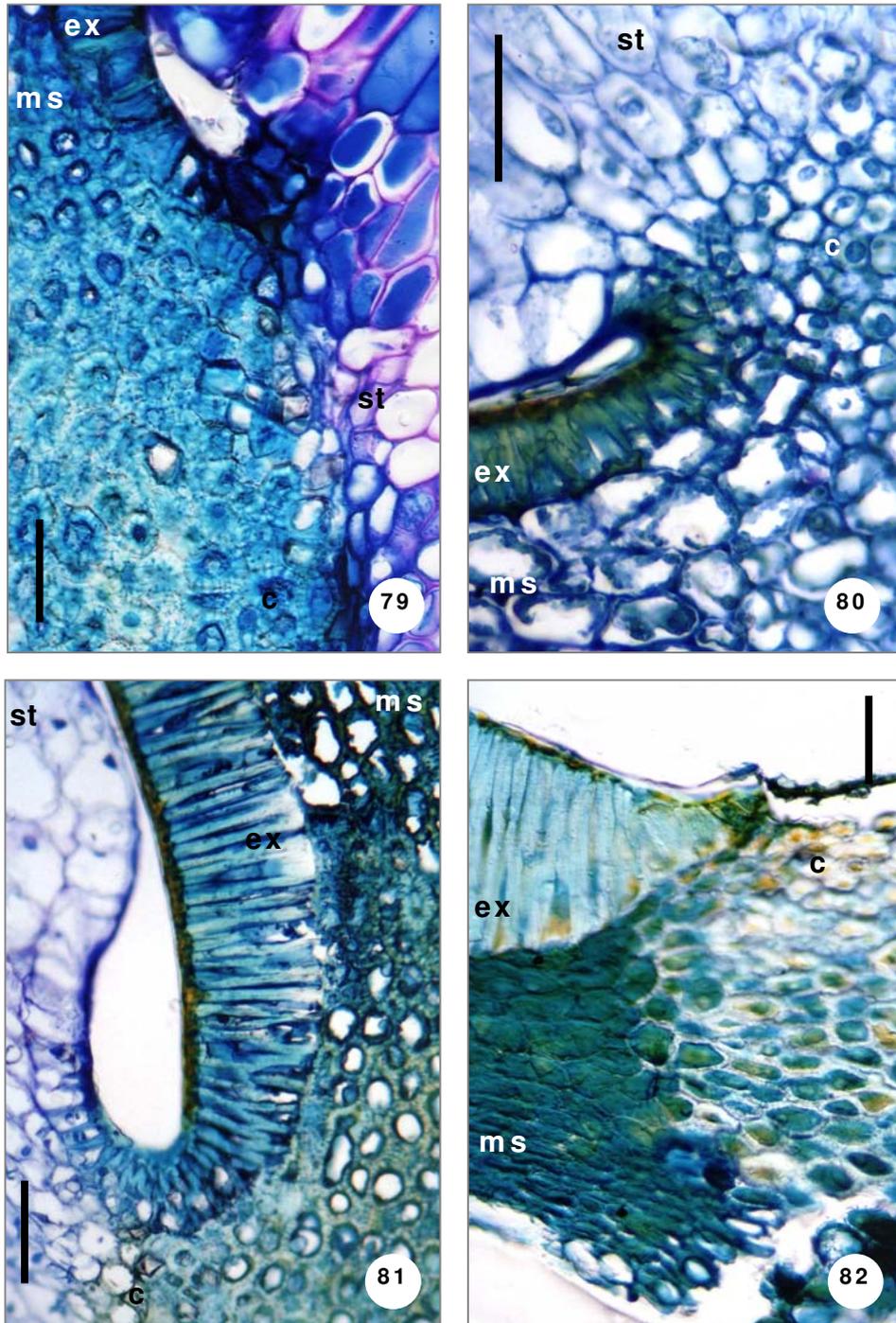
O caracter anatômico considerado de maior utilidade na diferenciação das espécies se encontra no envoltório seminal. A exotesta e a mesotesta apresentam diferenças acentuadas entre as espécies, no comprimento da camada de células paliçádicas exotestais e no tamanho e número de camadas mesotestais. A Tabela 4 apresenta os valores de comprimento para o envoltório seminal e o comprimento da exotesta e da mesotesta.



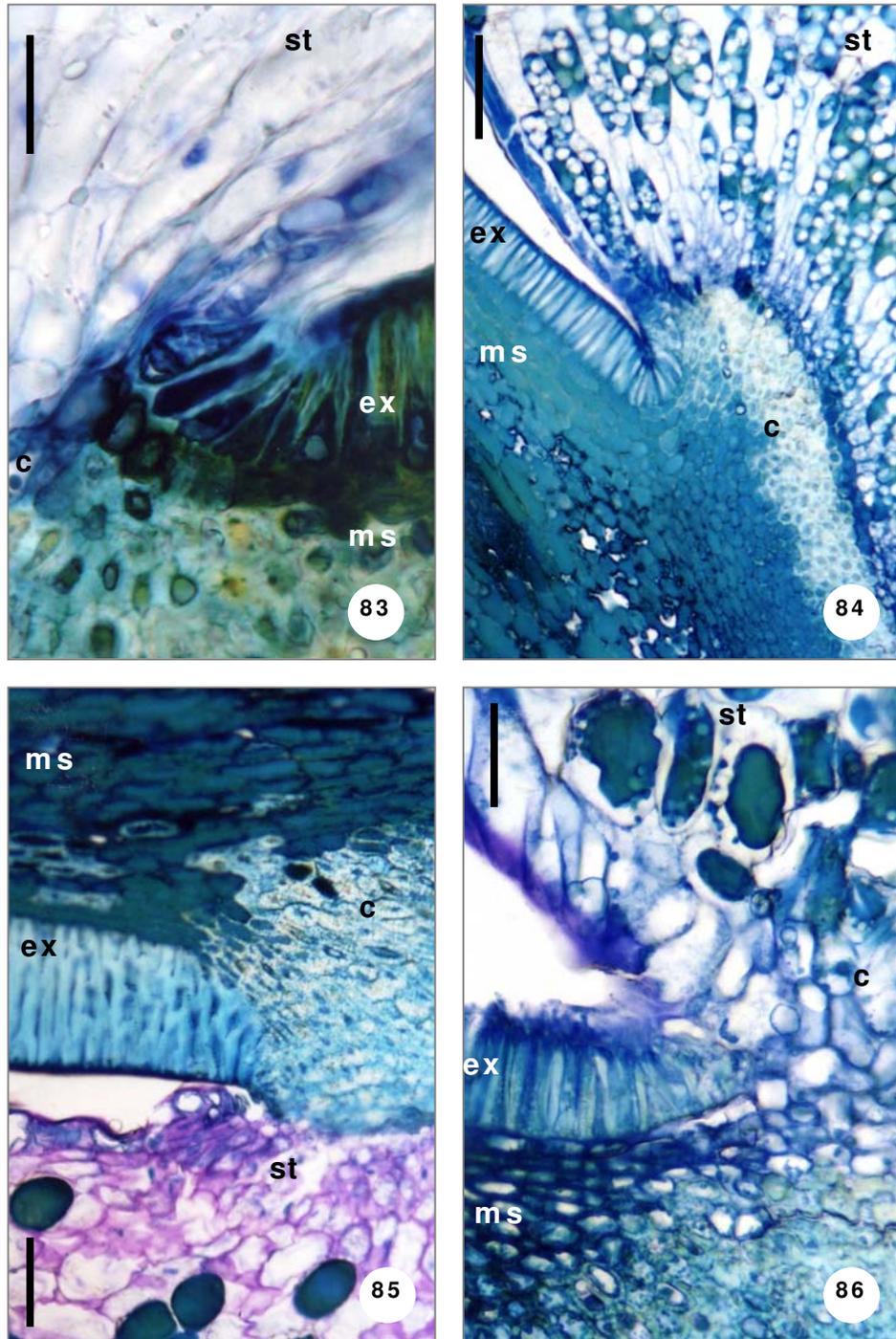
Figuras 71 – 74. Anatomia da região do envoltório seminal, cicatriz e sarcotesta de sementes de *Paullinia*, corte longitudinal. **71.** *P. elegans*. Barra: 80 μ m. **72.** *P. spicata*. Barra: 40 μ m. **73.** *P. cupana*. Barra: 170 μ m. **74.** *P. carpopodea*. Barra: 350 μ m. **c** – cicatriz, **e** – embrião, **ex** – exotesta, **ms** – mesotesta, **st** – sarcotesta.



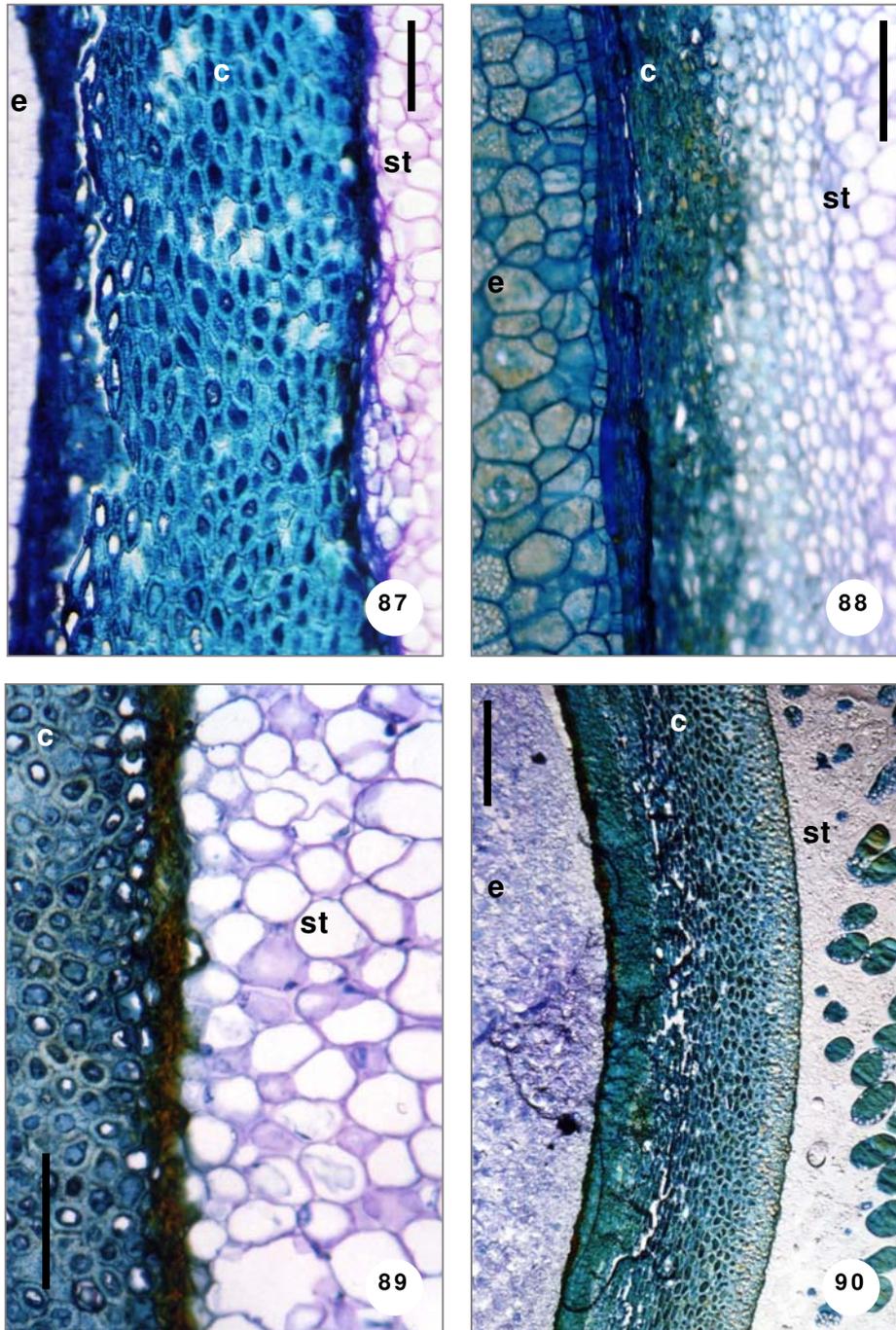
Figuras 75 – 78. Anatomia da região do envoltório seminal, cicatriz e sarcotesta de sementes de *Paullinia*. Corte longitudinal. **75.** *P. meliaefolia*. Barra: 110 μ m. **76.** *P. cristata*. Barra: 210 μ m. **77.** *P. racemosa*. Barra: 210 μ m. **78.** *P. coriacea*. Barra: 350 μ m. **c** – cicatriz, **e** – embrião, **ex** – exotesta, **ms** – mesotesta, **st** – sarcotesta.



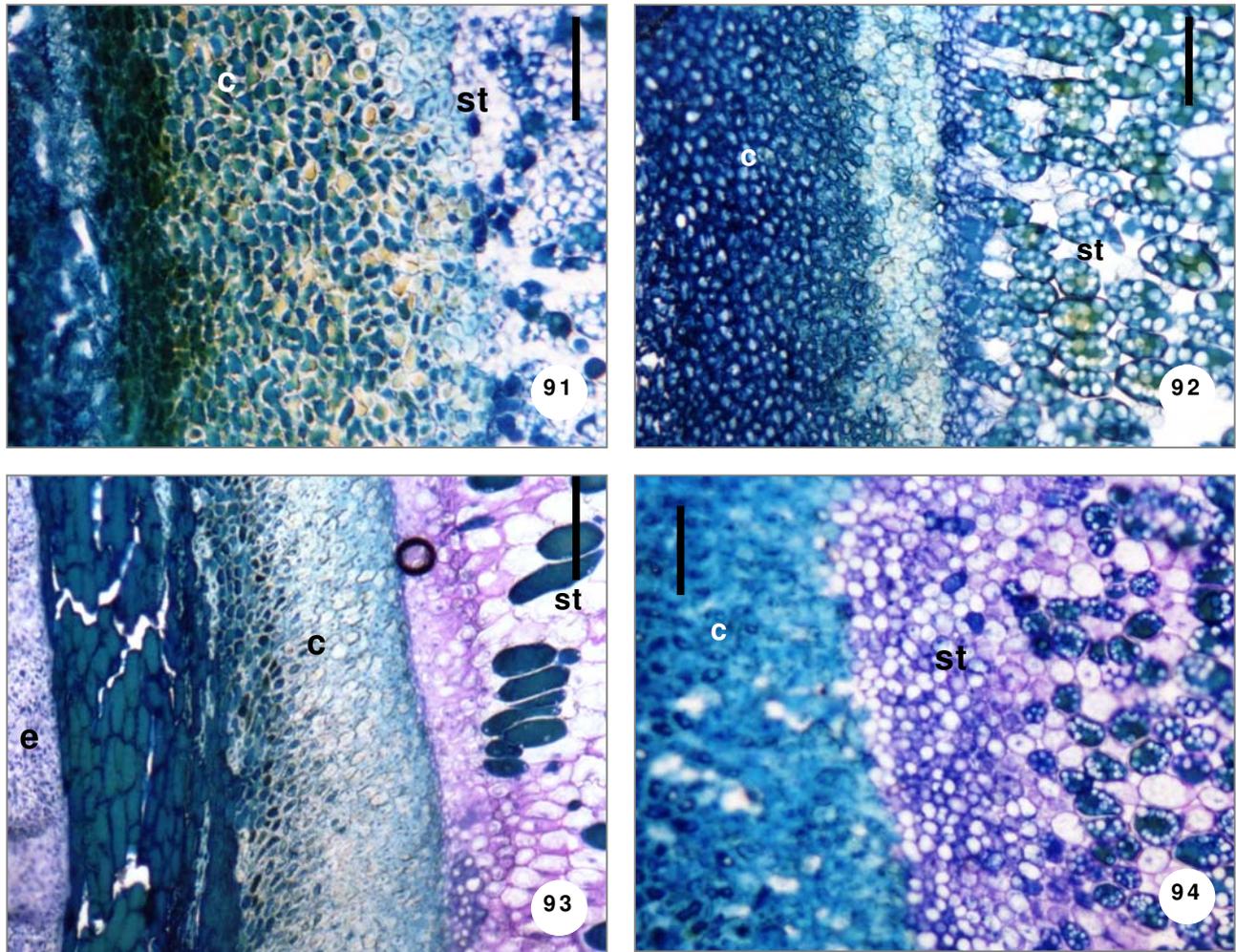
Figuras 79 – 82. Detalhe anatômico da região do envoltório seminal, cicatriz e sarcotesta de sementes de *Paullinia*, corte longitudinal. **79.** *P. elegans*. Barra: 50 μm . **80.** *P. spicata*. Barra: 50 μm . **81.** *P. cupana*. Barra: 70 μm . **82.** *P. carpopodea*. Barra: 70 μm . **c** – cicatriz, **e** – embrião, **ex** – exotesta, **ms** – mesotesta, **st** – sarcotesta.



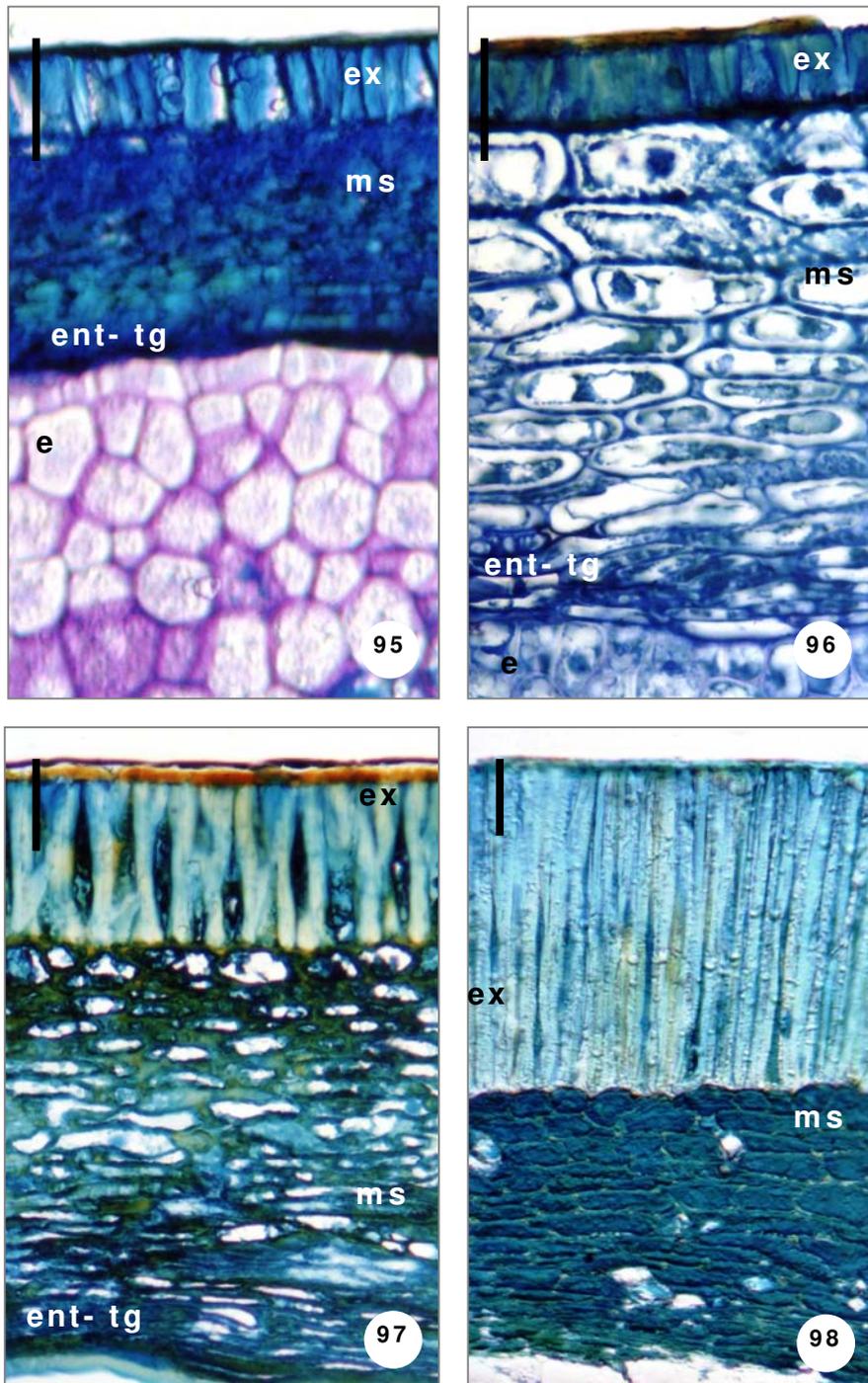
Figuras 83 – 86. Detalhe anatômico da região do envoltório seminal, cicatriz e sarcotesta de sementes de *Paullinia*, corte longitudinal. **83.** *P. meliaefolia*. Barra: 20 μm. **84.** *P. cristata*. Barra: 70 μm. **85.** *P. racemosa*. Barra: 40 μm. **86.** *P. coriacea*. Barra: 50 μm. **c** – cicatriz, **e** – embrião, **ex** – exotesta, **ms** – mesotesta, **st** – sarcotesta.



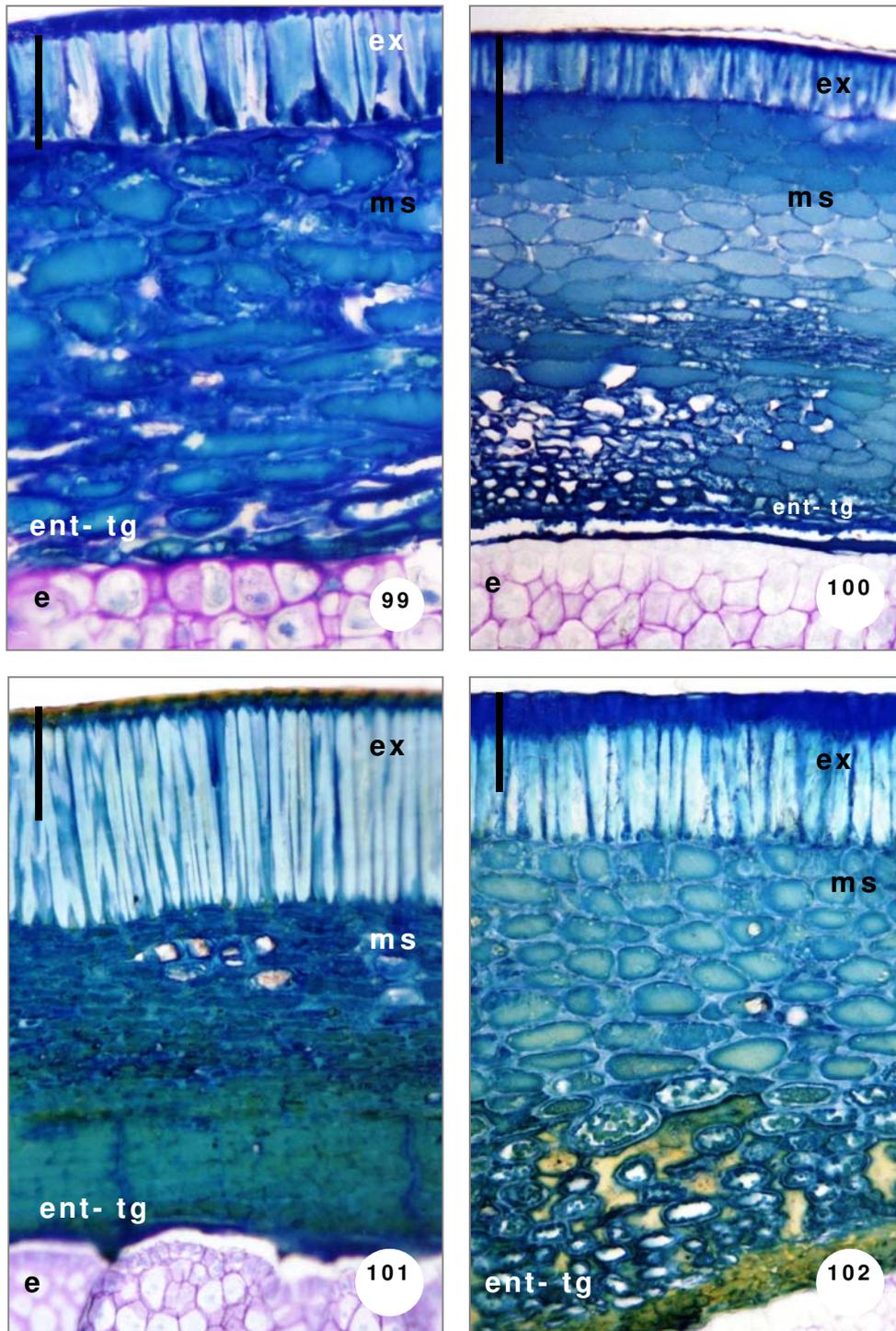
Figuras 87 – 90. Detalhe anatômico da região do embrião, cicatriz e sarcotesta de sementes de *Paullinia*, corte transversal. **87.** *P. elegans*. Barra: 70 μm . **88.** *P. spicata*. Barra: 80 μm . **89.** *P. cupana*. Barra: 70 μm . **90.** *P. carpopodea*. Barra: 350 μm . **c** – cicatriz, **e** – embrião, **st** – sarcotesta.



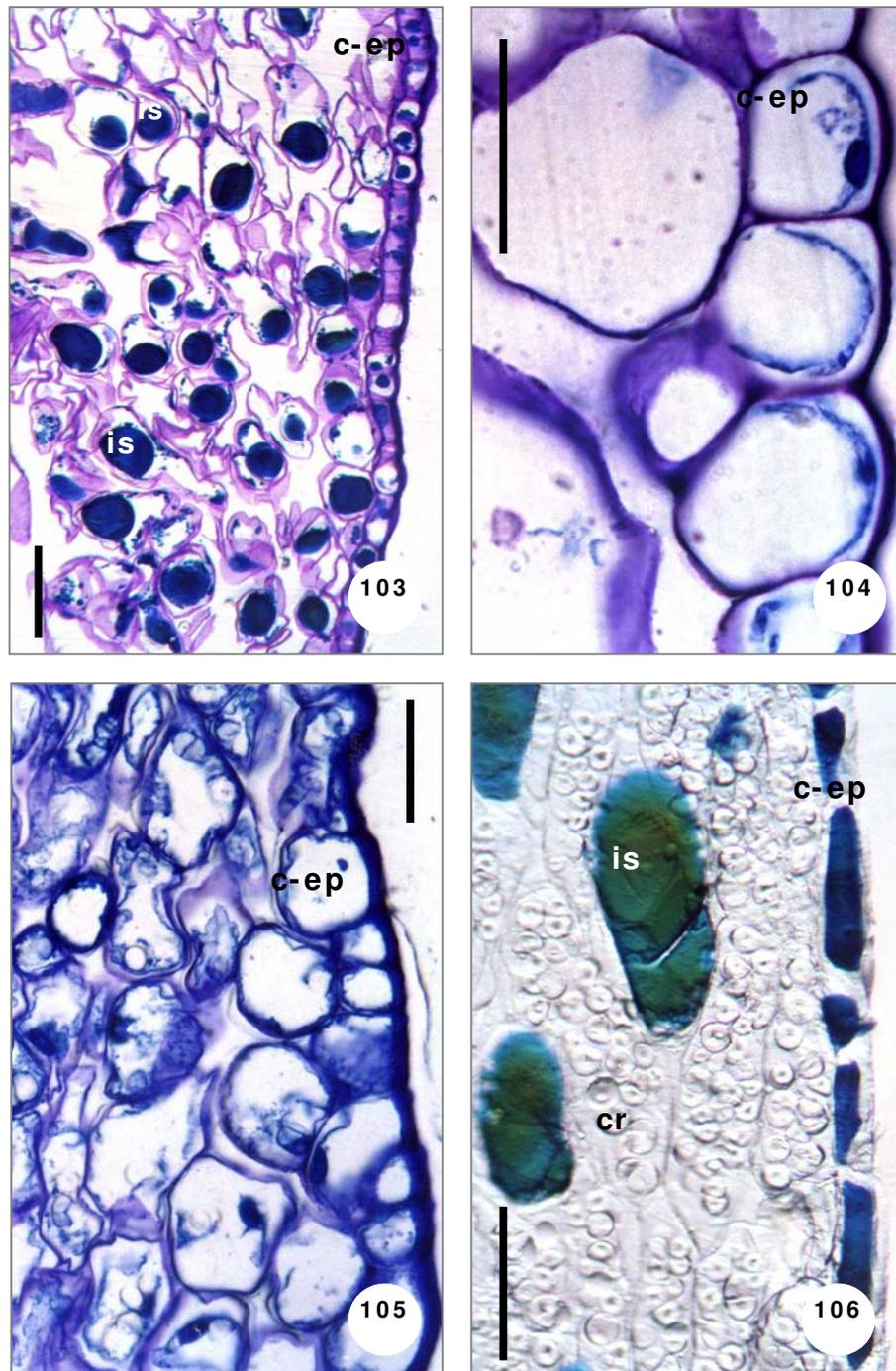
Figuras 91 – 94. Detalhe anatômico da região do embrião, cicatriz e sarcotesta de sementes de *Paullinia*, corte transversal. **91.** *P. meliaefolia*. Barra: 110 μm . **92.** *P. cristata*. Barra: 80 μm . **93.** *P. racemosa*. Barra: 170 μm . **94.** *P. coriacea*. Barra: 80 μm . **c** – cicatriz, **e** – embrião, **st** – sarcotesta.



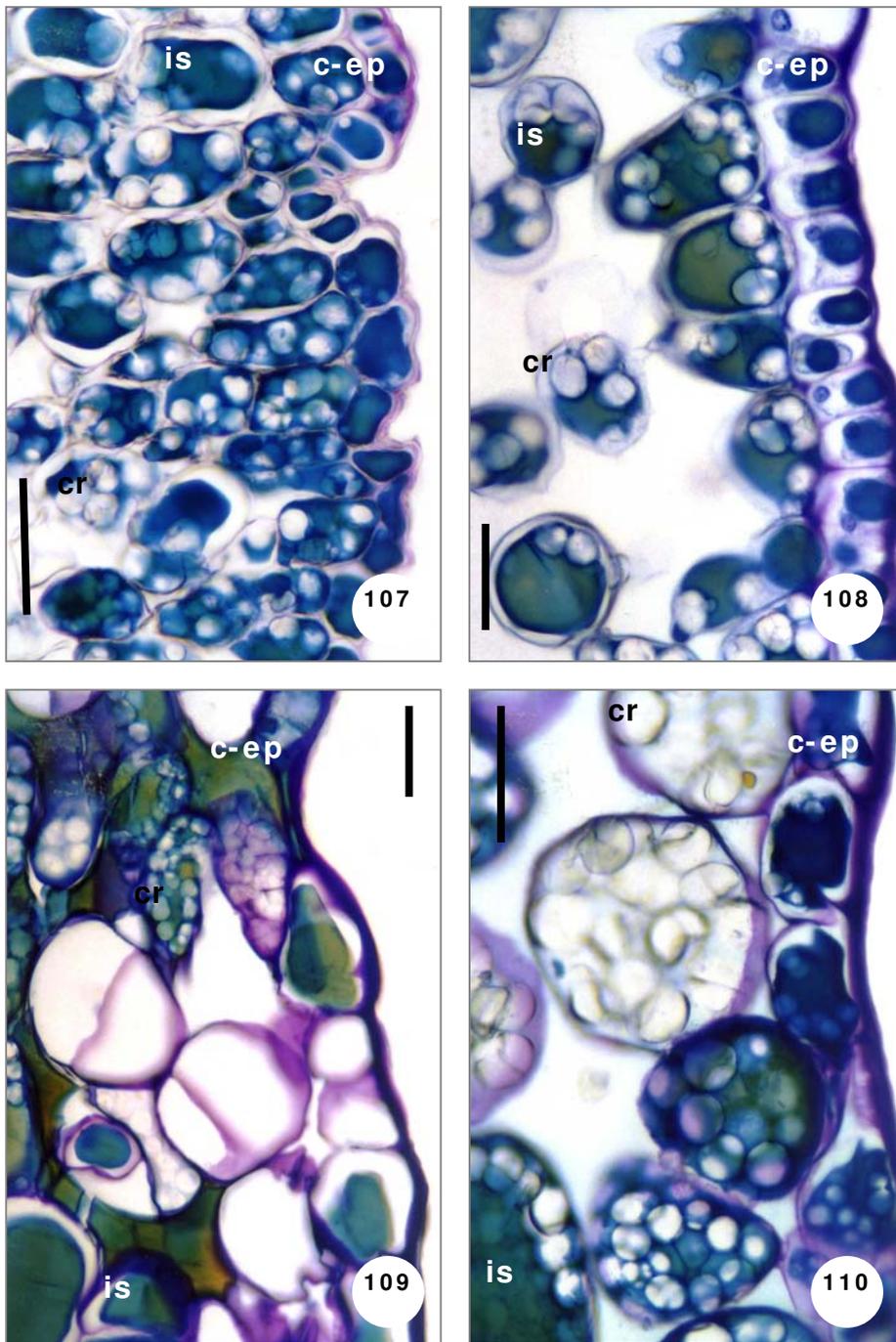
Figuras 95 – 98. Anatomia do envoltório seminal de sementes de *Paullinia*, corte transversal. Detalhe da exotesta, mesotesta, endotesta e tégmen. **95.** *P. elegans*. Barra: 70 μm . **96.** *P. spicata*. Barra: 50 μm . **97.** *P. cupana*. Barra: 70 μm . **98.** *P. carpopodea*. Barra: 70 μm . **c** – cicatriz, **e** – embrião, **ex** – exotesta, **ms** – mesotesta, **ent** – endotesta, **tg** – tégmen.



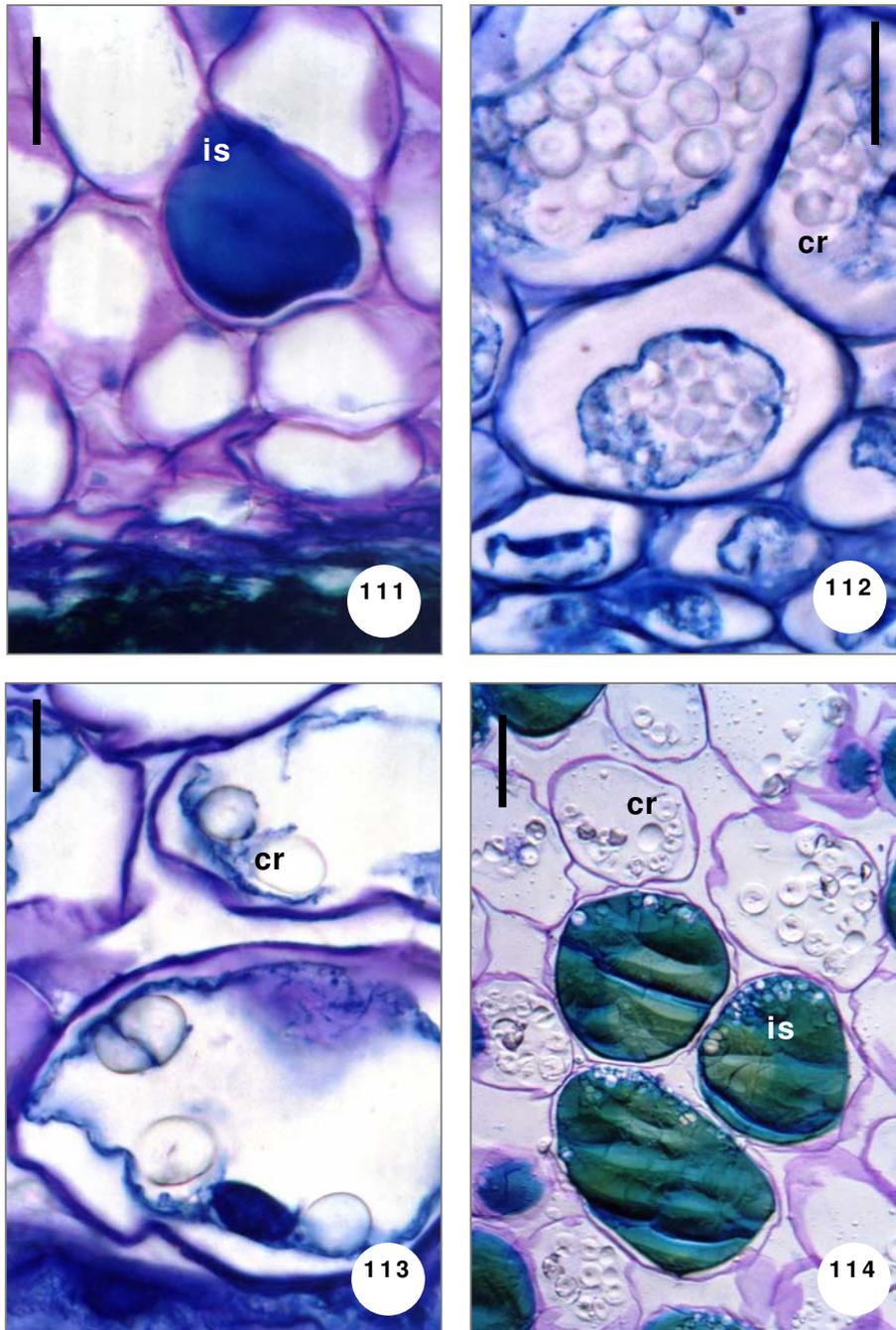
Figuras 99 – 102. Anatomia do envoltório seminal de sementes de *Paullinia*, corte transversal. Detalhe da exotesta, mesotesta, endotesta e tégmen. **99.** *P. meliaefolia*. Barra: 50 μ m. **100.** *P. cristata*. Barra: 80 μ m. **101.** *P. racemosa*. Barra: 80 μ m. **102.** *P. coriacea*. Barra: 70 μ m. **c** – cicatriz, **e** – embrião, **ex** – exotesta, **ms** – mesotesta, **ent** – endotesta, **tg** – tégmen.



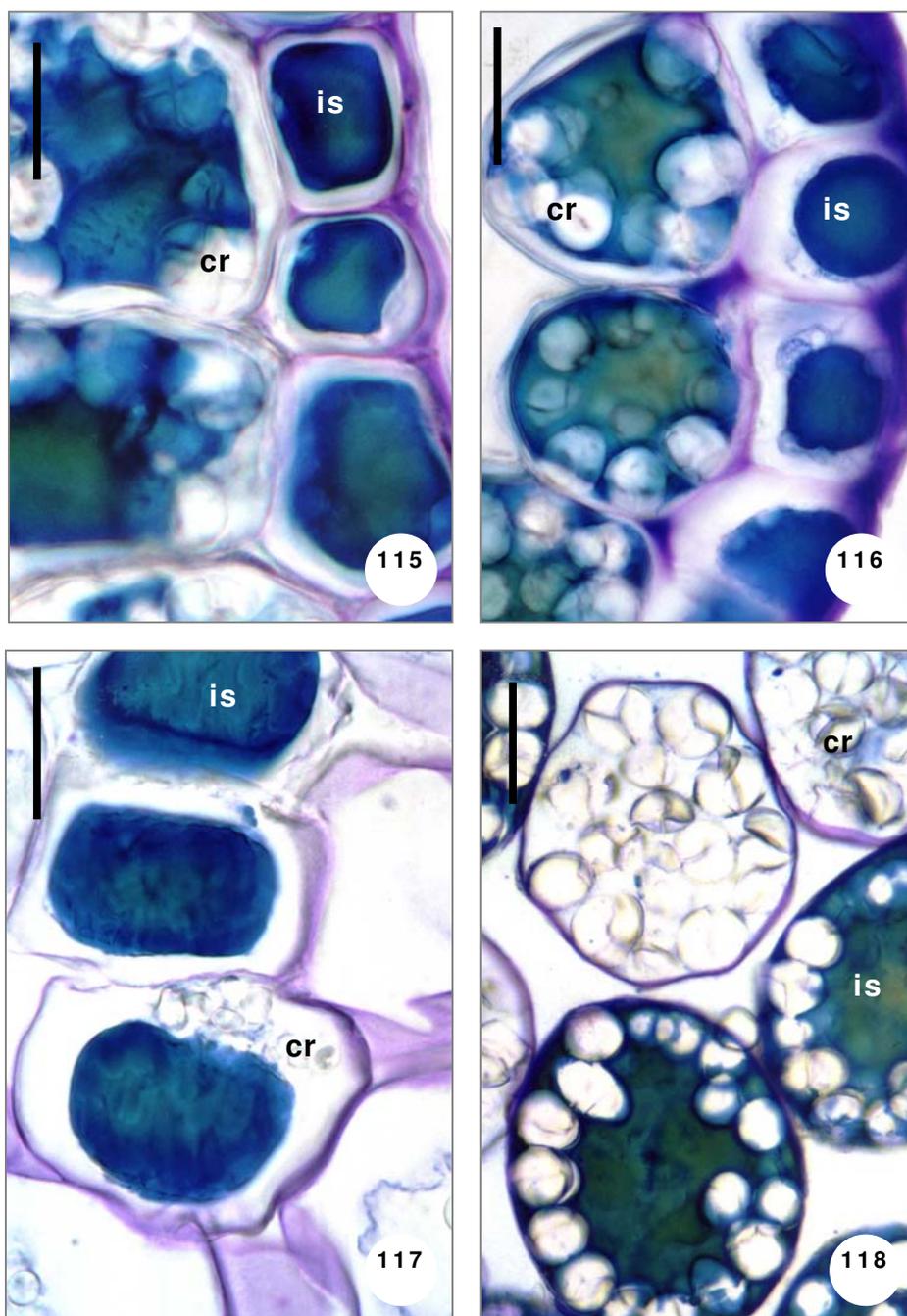
Figuras 103 – 106. Anatomia da sarcotesta de espécies de *Paullinia*, em corte transversal. Detalhe das células parenquimáticas com compostos de reserva, provavelmente amidos e lipídios, e idioblastos secretores, cuja secreção pode ser fenólica pelo tipo de coloração e referencias encontradas na literatura. **103.** *P. elegans*. Barra: 70 μ m. **104.** *P. spicata*. Barra: 50 μ m. **105.** *P. cupana*. Barra: 70 μ m. **106.** *P. carpopodea*. Barra: 50 μ m. **c-ep** – célula da epiderme da sarcotesta, **cr** – compostos de reserva, **is** – idioblasto secretor.



Figuras 107 – 110. Anatomia da sarcotesta de espécies de *Paullinia*, corte transversal. Detalhe das células parenquimáticas com compostos de reserva, provavelmente amidos e lipídios e idioblastos secretores, cuja secreção pode ser fenólica pelo tipo de coloração e as referências encontradas na literatura. **107.** *P. meliaefolia*. Barra: 50 μ m. **108.** *P. cristata*. Barra: 40 μ m. **109.** *P. racemosa*. Barra: 40 μ m. **110.** *P. coriacea*. Barra: 50 μ m. **c-ep** – célula da epiderme da sarcotesta, **cr** – compostos de reserva, **is** – idioblasto secretor.



Figuras 111 – 114. Detalhe anatômico das células componentes da sarcotesta e seu conteúdo, corte transversal. Células parenquimáticas com compostos de reserva, provavelmente amidos e lipídios, e idioblastos secretores, cuja secreção pode ser fenólica. **111.** *P. elegans*. Barra: 20 μm . **112.** *P. spicata*. Barra: 20 μm . **113.** *P. cupana*. Barra: 20 μm . **114.** *P. carpopodea*. Barra: 110 μm . **cr** – compostos de reserva, **is** – idioblasto secretor.



Figuras 115 – 118. Detalhe anatômico das células componentes da sarcotesta e seu conteúdo, corte transversal. Células parenquimáticas com compostos de reserva, provavelmente amidos e lipídios, e idioblastos secretores, cuja secreção pode ser fenólica. **115.** *P. meliaefolia*. Barra: 110 μm . **116.** *P. cristata*. Barra: 30 μm . **117.** *P. racemosa*. Barra: 30 μm . **118.** *P. coriacea*. Barra: 50 μm . **cr** – compostos de reserva, **is** – idioblasto secretor.

As dimensões do envoltório seminal para as espécies estudadas são encontradas na variação de 140 a 490 μm . *P. elegans*, *P. spicata* e *P. meliaefolia* apresentaram envoltórios seminais mais finos (Figs. 95, 96 e 99), desde 140 a 208 μm . *P. cristata* apresentou valores de comprimento intermediários (Fig. 100) e *P. cupana*, *P. carpopodea*, *P. coriacea* e *P. racemosa* apresentaram envoltórios seminais bastante engrossados, variando desde 385-490 μm (Figs. 97, 98, 102 e 101).

A exotesta varia de 16 a 245 μm nas espécies estudadas, e é notavelmente maior em *P. carpopodea* (Fig. 98), 210-245 μm . Em *P. elegans*, *P. spicata*, *P. meliaefolia* e *P. cristata* (Figs. 95, 96, 99, 100) a exotesta é bastante reduzida em tamanho, desde 16 a 52 μm . A exotesta de dimensões intermediárias entre esses valores são encontradas em *P. cupana*, *P. coriacea* e *P. racemosa*, que varia de 105 a 180 μm (Figs. 97, 101 e 102).

Ainda o número de camadas da mesotesta varie entre as espécies, este caracter não foi utilizado devido às células apresentarem arranjos espaciais e de volume celular diferentes na mesma espécie. A mesotesta nas espécies examinadas varia de 87 a 367 μm . Em *P. elegans* a mesotesta é a menor, com 87-105 μm (Fig. 95). *P. cupana*, *P. coriacea*, *P. cristata* e *P. racemosa* apresentaram as mesotestas maiores, variando de 240 – 367 μm (Figs. 97, 100, 101, 102). *P. spicata*, *P. carpopodea* e *P. meliaefolia* apresentaram os valores intermediários, entre 141-220 μm (Figs. 96, 98, 99).

O tecido que conforma a sarcotesta varia visivelmente entre os taxa estudados, mas o formato principal continua igual (Figs. 103-110). O tamanho e o conteúdo das células epidérmicas e parenquimáticas são variados. (Figs. 111-118).

Conclusões

Embora os frutos sejam importantes na distinção do gênero e das espécies, a morfologia e a anatomia da semente das nove espécies de *Paullinia* estudadas fornecem novos dados e caracteres úteis na diferenciação das espécies. Esses caracteres das sementes não tinham sido examinados em detalhe ou unicamente tinham sido referidos na literatura como importantes pela variação entre os taxa.

As características morfológicas externas das sementes apresentam notáveis diferenças entre as espécies. Três caracteres em conjunto permitem distinguir facilmente as espécies. Cada caracter avaliado de maneira independente oferece também indícios claros para identificar as espécies. Os caracteres são os seguintes:

1. Tamanho e forma estrutural da semente.

2. Morfologia da sarcotesta, proporção que cobre a semente e fissuras principalmente na região da anti-rafe.
3. Forma e tamanho da cicatriz, lóbulos na região da rafe e anti-rafe, dimensão e tipo de fusão das projeções e grau de constrição na área intermédia entre os lóbulos e as projeções.

A anatomia do envoltório seminal, sarcotesta e cicatriz apresentam diferenças entre as espécies estudadas. Os caracteres anatômicos de maior utilidade para diferenciar as espécies são os apresentados pelo envoltório seminal: comprimento do estrato exotestal e número de camadas e dimensões da mesotesta.

Os caracteres morfológicos e anatômicos analisados no envoltório seminal, sarcotesta e cicatriz não permitem dar, por enquanto, um indício de um agrupamento apoiando as seções propostas por Radlkofer. Não foi encontrada uma relação evidente entre os principais caracteres que separam as espécies e as seções definidas por Radlkofer, e os caracteres considerados importantes na diferenciação das espécies presentes no envoltório seminal das nove espécies examinadas.

Os resultados da pesquisa encaminhada geraram dados morfológicos e anatômicos infragenéricos de valor sistemático potencial. Sugerimos novas pesquisas morfo-anatômicas nas sementes de *Paullinia* avaliando os mesmos caracteres, porém incrementando o número de indivíduos, populações e espécies para determinar tendências morfológicas relacionadas com os frutos e sementes e/ou indicar possíveis novos agrupamentos adicionando os caracteres seminais no gênero.

Referências Bibliográficas

- Corner, E.J.H. 1976. The seeds of dicotyledons. Cambridge University Press. Cambridge.
- Gerrits, P.O.; Smid, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132:81-85.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. New York, Mc Graw Hill Book.
- Milanez, F. R. 1959. Anatomia do fruto do guaraná. *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*. 16: 57 – 100.

- Mendonça, M. S., Noda, H. & Corrêa, M. P. F. 1992. Aspectos morfológicos da semente e da germinação do guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke). Rev. U. A. Série: Ciências Agrárias, 1 (2): 71 – 82.
- O'Brien, T.P., Feder, N. & McCully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma. 59: 368 – 373.
- Oliveira, C., Iacomini, M., Alquini, Y. & Gorin, P. 2001. Microscopic and NMR analysis of the external coat from seeds of *Magonia pubescens*. New Phytologist. 152: 501 – 509.
- Radlkofer, L. 1892–1900. Sapindaceae. In: V. Martius (ed.), Flora Brasiliensis. Volumen XIII. Pars III. 345 – 414.
- Radlkofer, L. 1931–1934. Sapindaceae. In: A. Engler (ed.), Das Pflanzenreich IV, 165 (Heft 98a-h). Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig. 219 - 352.
- Roth, I. 1977. Fruits of Angiosperms: Encyclopedia of Plant Anatomy. Berlin: Gebruder Borntraeger.
- Somner, G. V. 2001. *Paullinia* L. (Sapindaceae): Morfología, taxonomia e revisão de *Paullinia* sect. *Phygoptilon*. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo.
- van der Pijl. 1955. Sarcotesta, aril, pulpa and the evolution of the angiosperm fruit. I. Proc. K. Ned. Akad. Wet, Ser. C. 58: 154 – 161.
- van der Pijl. 1957. On the arilloids of *Nephelium*, *Euphoria*, *Litchi* and *Aesculus*, and the seeds of Sapindaceae in general. Acta Botanica Neerlandica. 6: 618 – 641.
- van der Pijl, L. 1982. Principles of dispersal in higher plants. New York: Springer – Verlag. Pp 138 – 143.
- Weckerle, C. S., & Rutishauser, R. 2005. Gynoecium, fruit and seed structure of Paullinieae (Sapindaceae). Botanical Journal of the Linnean Society. 147: 159 – 189.

Werker, E. 1997. Seed Anatomy. Berlin. 424 p.

Zavaleta, H., Hernández M., Cuevas, J. & Engleman, M. 2003. Anatomia de la semilla de *Cupania dentata* (Sapindaceae) con énfasis en la semilla madura. Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica. 74 (1): 17 – 29.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Perspectivas dos estudos e Propostas futuras

Para desenvolver no doutorado:

Ampliar os estudos anatômicos do desenvolvimento da semente da espécie *Paullinia trigonia* e combiná-los com observações em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para completar as análises da ontogênese da estrutura carnosa. Observações e dados adicionais permitiriam confirmar os resultados obtidos nesta fase inicial da pesquisa, que usou a anatomia e microscopia de luz para estudo de algumas fases iniciais de desenvolvimento da semente.

Examinar com maior detalhe a origem e anatomia da estrutura carnosa em outras espécies de *Paullinia*, principalmente em espécies representativas dos diversos graus de continuidade das estruturas carnosas, por exemplo, examinar na espécie *Paullinia carpopodea* a semente e seu desenvolvimento. A espécie é muito interessante porque tem uma estrutura carnosa que cobre a semente quase por completo. Examinar as demais espécies que apresentam estruturas carnosas de diversas origens, sarcotesta e arilo. O estudo ontogenético das sementes de diversas espécies permitiria um entendimento mais profundo e uma correta interpretação e descrição da estrutura carnosa no gênero.

Realizar o estudo histoquímico nos cortes de sementes maduras que foram fixados em FAA e realizar cortes com o material fixado em FNT para aplicação dos testes histoquímicos para detecção de diversos compostos encontrados em outros gêneros da família.

Efetuar coletas de indivíduos e populações das espécies estudadas e de espécies adicionais de *Paullinia* que permitam ampliar os estudos morfo-anatômicos e histológicos e assim contribuir ao conhecimento geral das sementes no grupo e poder avaliar os caracteres morfológicos que delimitam as categorias infragenéricas propostas por Radlkofer. Com amostras maiores poderia se definir os caracteres da semente que sejam de utilidade para entender padrões e variações de caracteres de valor taxonômico e sistemático para no futuro combiná-los com dados moleculares, vegetativos e florais, úteis na construção de inferências das relações filogenéticas em *Paullinia*, um dos gêneros de maior importância neotropical.