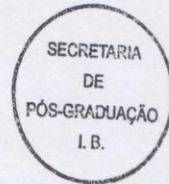


Carolina Carvalho de Mello Freitas

**“Morfologia e Anatomia de frutos e sementes da tribo
Willughbeieae (Apocynaceae, Rauvolfioideae)”**

CAMPINAS

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CAROLINA CARVALHO DE MELLO FREITAS

**“Morfologia e Anatomia de frutos e sementes da tribo Willughbeieae
(Apocynaceae, Rauvolfioideae)”**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Carolina Carvalho de Mello Freitas
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia para obtenção do Título de
Mestra em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. André Olmos Simões
Coorientadora: Profa. Dra. Sandra Maria Carmello Guerreiro

CAMPINAS,
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
 MARA JANAINA DE OLIVEIRA – CRB8/6972
 BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

M489m Mello, Carolina Carvalho de, 1986-
 Morfologia e anatomia de frutos e sementes da tribo
 Willughbeieae (*Apocynaceae*, *Rauvolfioideae*) / Carolina
 Carvalho de Mello Freitas. – Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientador: André Olmos Simões.
 Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
 Campinas, Instituto de Biologia.

1. Morfologia. 2. Anatomia. 3. *Apocynaceae*. 4.
Rauvolfioideae. 5. Filogenia. I. Simões, Andre Olmos.
 II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
 Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em Inglês Fruit and sees morphology and anatomy of Willughbeieae
 (*Apocynaceae*, *Rauvolfioideae*)

Palavras-chave em Inglês:

Morphology

Anatomy

Apocynaceae

Rauvolfioideae

Phylogeny

Área de concentração: Taxonomia Vegetal

Títuloção: Mestra em Biologia Vegetal

Banca examinadora:

André Olmos Simões [Orientador]

Luiza Sumiko Kinoshita

Diego Demarco

Data da defesa: 21-02-2013

Programa de Pós Graduação: Biologia Vegetal

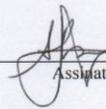
Campinas, 21 de fevereiro de 2013

BANCA EXAMINADORA

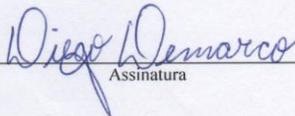
Prof. Dr. André Olmos Simões (Orientador)


Assinatura

Profa. Dra. Luiza Sumiko Kinoshita


Assinatura

Prof. Dr. Diego Demarco


Assinatura

Profa. Dra. Ana Maria Goulart de Azevedo Tozzi

Assinatura

Profa. Dra. Ingrid Koch

Assinatura

“Dedico a Deus e a minha família,
Por toda a proteção e saúde.
Por guiar cada passo da minha vida.
Por me presentear com mais uma conquista.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por seu amor incondicional e por iluminar meu caminho, me guiando e dando forças para sempre seguir em frente.

Ao Departamento de Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Unicamp, principalmente ao laboratório de Anatomia Vegetal, onde recebi toda a infraestrutura para a realização desta dissertação.

Ao meu orientador Prof. Dr. André Olmos Simões, meu especial agradecimento pelo constante apoio, paciência, confiança, pela oportunidade de trabalharmos juntos durante esses anos, por me *envolver* na pesquisa e pela sua amizade.

À minha coorientadora Prof^a. Dr^a. Sandra Maria Carmello-Guerreiro, pela ajuda, apoio, carinho, conselhos e pelos ensinamentos na anatomia vegetal.

Aos membros da pré banca Prof. Dr. Diego Demarco, Prof^a. Dr^a. Luiza Sumiko Kinoshita e a Profa. Dr^a. Beatriz Appezzato-da-Glória pelas excelentes sugestões, correções e discussões que me ajudaram para a elaboração de minha dissertação.

Ao Prof. Dr. Diego Demarco e Prof^a. Dr^a. Luiza Sumiko Kinoshita, Profa. Dr^a. Ingrid Koch e a Profa. Dr^a. Ana Maria Goulart de Azevedo Tozzi por terem aceitado participar como membros da banca examinadora da minha dissertação.

Aos funcionários do Departamento de Biologia Vegetal pela prestatividade a ajuda durante esses anos.

Aos meus pais, Artur e Virgínia e ao meu irmão Artur, responsáveis por cada sucesso obtido, cada degrau avançado e que durante todos esses anos foram para mim um grande exemplo de força, coragem, perseverança e energia infinita para nunca desistir diante do primeiro obstáculo encontrado. Obrigada simplesmente por participarem comigo durante essa caminhada, me ajudando a construir os alicerces de um futuro que começa agora.

Ao meu marido Alaor, pelo amor, carinho e compreensão por todos esses anos.

Aos amigos lindos, queridos, companheiros, alguns deles muito longe, mas que mesmo assim nunca deixaram de ser amigos.

Aos amigos do laboratório de Anatomia Vegetal (Bárbara, Juliana, Cristina, Elizabeth, Emília, Diego e Rafael) por serem sempre tão prestativos e carinhosos comigo.

Assim, agradeço a todas as pessoas que me ajudaram a transformar este meu sonho em realidade! Muito obrigado!

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO GERAL	1
JUSTIFICATIVA	7
OBJETIVO GERAL	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
Capítulo 1: Morfoanatomia de frutos em Willughbeieae (Apocynaceae, Rauvolfioideae)	9
INTRODUÇÃO	9
OBJETIVO	10
MATERIAIS E MÉTODOS	10
Microscopia de luz	11
Histoquímica.....	12
RESULTADOS	12
DISCUSSÃO	18
CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
Capítulo 2: Anatomia e histoquímica de ovários e sementes da tribo Willughbeieae (Apocynaceae, Rauvolfioideae).....	29
INTRODUÇÃO	29
OBJETIVO	30
MATERIAIS E MÉTODOS	30
Microscopia de luz	31
Histoquímica.....	31
RESULTADOS	32
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
Capítulo 3: Ontogenia do pericarpo dos frutos de <i>Hancornia speciosa</i> Gomes e <i>Parahancornia fasciculata</i> (Poir.) Benoist (Apocynaceae)	47
INTRODUÇÃO	47
OBJETIVO	48
MATERIAIS E MÉTODOS	48
Microscopia de luz	51
RESULTADOS	51
DISCUSSÃO	66
CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75

RESUMO

Este estudo teve como objetivo caracterizar, através da anatomia, os frutos e as sementes de quatro espécies neotropicais e assim levantar caracteres que possuam potencial valor sistemático e evolutivo para tribo, além de contribuir para o conhecimento das Apocynaceae. Flores, frutos e sementes foram coletados, fixados e submetidos a técnicas usuais de anatomia. No primeiro capítulo foram estudados frutos maduros de *Couma rigida* Mull. Arg, *Lacmellea panamensis* (Woodson) Monach, *Hancornia speciosa* Gomes e *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist. Os frutos possuem exocarpo uniestratificado, com cutícula espessa, ornamentações na cutícula foram encontradas somente em *P. fasciculata*. O mesocarpo apresenta parênquima fundamental, laticíferos, feixes vasculares e idioblastos com compostos fenólicos. Esclereídes foram encontradas apenas em *C. rigida*, sendo que os arranjos dos idioblastos mudam entre as espécies e aerênquima foi observado somente em *P. fasciculata*. Em todas as espécies o endocarpo é uniestratificado. No segundo capítulo, sementes maduras das quatro espécies também foram estudadas. Mesmo possuindo características variadas, estas sementes apresentam diversas similaridades, como envoltório único repleto de compostos fenólicos e endosperma com reserva. Todas as sementes são exotestais, sendo que foi encontrada mucilagem nessa camada apenas em *P. fasciculata*. As principais substâncias de reserva encontradas foram lipídios e proteínas. As proteínas se encontram na forma de cristais somente em *L. panamensis*. Lipídios foram detectados em todas as espécies, na forma de lipídios totais ou ácidos graxos em gotículas no endosperma das sementes. No terceiro capítulo, foi realizado um estudo ontogenético dos frutos de *H. speciosa* e *P. fasciculata*. Os dois frutos possuem o exocarpo originado exclusivamente da epiderme externa do ovário, é formado por uma camada de células epidérmicas, cutícula espessa e estômatos. Sendo que a cutícula de *P. fasciculata* possui ornamentações. O mesocarpo origina-se do mesofilo ovariano e é constituído de células parenquimáticas, feixes vasculares, laticíferos e idioblastos com compostos fenólicos. Em *H. speciosa*, os idioblastos com compostos fenólicos permanecem apenas nas primeiras camadas

subepidérmicas, quando maduro. Em *P. fasciculata*, o mesocarpo apresenta também tecido aerenquimático. O endocarpo das duas espécies é formado por apenas uma camada de células de paredes delgadas e é originado apenas da epiderme interna do ovário.

ABSTRACT

This study aimed to characterize, through the anatomy, the fruits and seeds of four neotropical species and thus raise characters that have potential value for systematic and evolutionary tribe, besides contributing to the knowledge of the Apocynaceae. Flowers, fruits and seeds were collected, fixed and submitted to the usual techniques of anatomy. In the first chapter, the ripe fruits of *Couma rigida* Mull. Arg, *Lacmellea panamensis* (Woodson) Monach, *Hancornia speciosa* Gomes and *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist, were studied. The fruits have unistratified exocarp with thick cuticle, but cuticle ornamentation was found only in *P. fasciculata*. The mesocarp presents fundamental parenchyma, laticifers, vascular bundles and idioblasts with phenolic compounds. Sclereids were found only in *C. rigida*, the arrangement of idioblasts with phenolic compounds changes among the species and the presence of aerenchyma is present only in *P. fasciculata*. In all species, the endocarp is unistratified. In the second chapter, ripe seeds of the four species were also studied. Even having varied features these seeds have many similarities, such as single seed-coat with phenolic compounds and endosperm reserves. All seeds are exotestais, mucilage was found only in *P. fasciculata* in this layer. The main reserve substances found were lipids and proteins. The proteins are found in crystal form only in *L. panamensis*. Lipids were observed in all species, in the form of lipids or fatty acids in the endosperm of the seeds. In the third chapter, an ontogenetic study of the *Hancornia speciosa* and *Parahancornia fasciculata* fruits were made. Both fruits, originated exclusively from the external epidermis of the ovary, are formed by one layer of epidermal cells with thick cuticle and stomata. Since the cuticle of *P. fasciculata* has ornamentations. The mesocarp originates from the mesophyll and consists of parenchyma cells, vascular bundles, laticifers and idioblasts with phenolic compounds. In *H. speciosa*, idioblasts with phenolic compounds remain only in the first subepidermal,

when ripe. In *P. fasciculata*, the mesocarp has aerenchyma tissue too. The endocarp of the two species, are formed by a single layer of cells with thin walls and originated only the internal epidermis of the ovary.

INTRODUÇÃO GERAL

Apocynaceae pertence a ordem Gentianales e possui sua distribuição principalmente em zonas tropicais e subtropicais, com poucos representantes em zonas temperadas (Sennblad *et al.*, 2002; Judd *et al.*, 2009). É uma das maiores famílias de angiospemas, com 375 gêneros e mais de 5.000 espécies (Endress, 2004; Endress *et al.*, 2007). Todos os representantes da família são latescentes e produzem vários alcaloides e cardenolidas, dos quais alguns possuem propriedades medicinais. O exemplo mais conhecido é *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (pervinca-rosa), que contém vimblastina e vincristina, que são compostos usados em todo o mundo para o tratamento de leucemia infantil (Souza & Lorenzi, 2008). A família também possui muitas plantas ornamentais bem conhecidas, tais como *Allamanda cathartica* L. (dedal-de-rainha), *Nerium oleander* L. (espirradeira) e *Hoya carnosa* (L. F.) R. Br. (flor-de-cera). (Sennblad *et al.*, 2002; Judd *et al.*, 2009).

Segundo Tournefort (1694), a família Apocynaceae foi estabelecida por Adanson em 1768 sob o nome de Apocyna, a qual englobava Apocynaceae s.str. (atuais subfamílias Rauvolfioideae e Apocynoideae) e Asclepiadaceae (atuais subfamílias Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae) como uma única família. Posteriormente, Jussieu (1789) modificou o termo “Apocyna” para “Apocineae”, sem alterar a sua circunscrição e, a partir daí, vem sendo citado como autor da família na maioria dos trabalhos. Em 1810, Brown considerou estas duas famílias separadamente baseando-se na presença de um translador portando polínias em Asclepiadeae (Asclepiadaceae) e ausência deste em Apocineae (Apocynaceae). Segundo Cronquist (1981), estas famílias são as mais relacionadas entre si na ordem Gentianales, e esta proximidade taxonômica se deve, dentre outros fatores, à presença de laticíferos, glicosídeos cardiotônicos e sifonostelo anfifloico.

Embora a classificação de Brown tenha sido universalmente aceita e implementada por autores subseqüentes, questionamentos sobre a delimitação das duas famílias e o relacionamento entre estas permaneceram entre os taxonomistas do grupo. No entanto, novas evidências mais detalhadas e extensos estudos morfológicos, bem como o crescente acúmulo de informações moleculares (Judd *et al.*, 1994; Endress & Albert, 1995; Sennblad & Bremer, 1996; Sennblad, 1997; Civeyrel *et al.*, 1998;

Sennblad *et al.*, 1998; Sennblad & Bremer, 2002; Potgieter & Albert, 2001; Simões *et al.*, 2007, 2010; Livshultz *et al.*, 2007; Ionta & Judd, 2007), sugere que a delimitação de Brown não reflete grupos monofiléticos. Estas novas informações e interpretações cladísticas apoiam o reconhecimento de uma família única com ampla circunscrição (Endress & Bruyns, 2000; Endress *et al.*, 2007), possuindo uma divisão em cinco subfamílias: Rauvolfioideae, Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (Endress & Bruyns, 2000).

Algumas características chave que são úteis na classificação de nível superior dentro de Apocynaceae e Asclepiadaceae foram descritas por Goyder (1990) e Endress & Bruyns (2000). Elas incluem: a direcionalidade dextrorsa vs sinistrorsa dos lobos da corola em pré-floração, a presença vs ausência de tecidos lignificados na região dorsal das anteras, o número de sacos polínicos, o tipo de abertura de pólen, a formação ou não de um ginostégio (órgão formado pela fusão dos estames ao gineceu), o grau de fusão dos ovários, o tipo de fruto, a presença ou ausência de tricomas sobre a semente, e a presença ou ausência de alcaloides indólicos. Quando todas essas características são levadas em consideração, alguns gêneros da subfamília Apocynoideae, mostram ter mais características em comum com táxons tradicionalmente posicionados em Asclepiadaceae (atualmente, subfamílias Asclepiadoideae e Secamonoideae) do que com táxons de Rauvolfioideae.

Na maioria das famílias de angiospermas, a antera é um estrutura bilateral simétrica que produz quatro sacos polínicos dispostos em dois pares (tecas), em ambos os lados. Em Asclepiadoideae, um saco de pólen em cada lado da antera foi perdido durante a evolução, de modo que cada antera produz apenas dois sacos polínicos, um em cada teca. O conteúdo de pólen total de cada saco polínico se fundiu e está rodeado por uma espessa camada exterior. Esta massa aglutinada de pólen é chamada de polínia (Endress & Bruyns, 2000).

Cada flor, em Asclepiadoideae, tem cinco anteras e, portanto, dez polínias e um dispositivo para o transporte de pólen em massa, chamado translador. Em Apocynaceae s.str., o pólen amadurecido está na forma de monades ou organizados em tétrades, mas nunca formando polínias e o translador está ausente (Endress & Bruyns, 2000).

Dessa forma, muitos estudiosos argumentaram que Asclepiadaceae poderia ser distinta de Apocynaceae com base em duas características, a presença de translador e o pólen unidos em polínias (Sennblad, 1997; Endress & Bruyns, 2000).

Esta proposta, no entanto, não encontra suporte em estudos filogenéticos e, por esta razão, o conceito amplo de Apocynaceae é largamente aceito pelos taxonomistas da família.

A subfamília Rauvolfioideae possui 41 gêneros e 10 tribos (Endress *et al.*, 2007; Simões *et al.*, 2007). Esta subfamília é particularmente distinta das demais em Apocynaceae pela grande variação na morfologia dos frutos e sementes. Seus representantes podem ter ovários variando de totalmente sincárpico a apocárpico, com diferentes graus de hemissincarpia. A sincarpia pode ser congênita, quando os primórdios carpelares já se encontram fusionados desde os estágios iniciais de desenvolvimento, ou pós-gênita, quando os primórdios fusionam-se apenas em estágios posteriores de desenvolvimento (Gomes, 2008). Os frutos podem ser indeiscentes ou deiscentes, do tipo baga, drupa, folículo ou cápsula, com pericarpo carnoso ou seco, endocarpo muitas vezes lignificado e sementes nuas, aladas ou total a parcialmente revestidas por tricomas (Judd *et al.*, 1999; Endress & Bruyns, 2000).

Porém, ovários sincárpico, frutos indeiscentes, sementes aladas e cabeça do estilete simples são exemplos de características utilizadas na taxonomia tradicional para delimitação de tribos em Rauvolfioideae (De Candolle 1844, Schumann 1895, Leeuwenberg 1994, entre outros), mas que se mostraram incongruentes com os relacionamentos filogenéticos entre táxons pela sua condição homoplástica. Este padrão sugere uma evolução convergente destas características em diferentes linhagens da subfamília (Endress *et al.*, 2007; Simões *et al.*, 2007). A recente identificação do caráter homoplástico de características de frutos e sementes previamente utilizados para delimitar as tribos em Rauvolfioideae é a principal fonte de incongruência entre as classificações tradicionais e recentes (Potgieter & Albert, 2001; Simões *et al.*, 2007).

Em Rauvolfioideae, os frutos são bacáceos na maioria dos representantes das tribos Willughbeieae, Carisseae, Hunterieae, Plumerieae e Melodineae, e em alguns representantes de Tabernaemontaneae, drupáceos em espécies de Vinceae e

Alyxieae, capsulares em *Allamanda* L. (Sakane & Shepherd 1986) e *Plectaneia* Thou. (Endress & Bruyns 2000), foliculares carnosos em diversos gêneros de Tabernaemontaneae, ou foliculares secos, como os presentes em espécies de Aspidospermeae, Alstonieae, Vinceae, Plumerieae e nas subfamílias Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (Endress & Bruyns 2000, Aguiar, 2003, 2007; Endress *et al.*, 2007; Simões *et al.*, 2007). Já as sementes podem ser ariladas, como as dos frutos foliculares carnosos de Tabernaemontaneae (Aguiar 2009; Simões *et al.*, 2010), aladas, como em espécies de Aspidospermeae e Vinceae, (Marcondes-Ferreira 2005), ciliadas, como em espécies de Alstonieae e Vinceae (Endress & Bruyns, 2000) ou comosas, como as presentes em espécies das subfamílias Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (Endress & Bruyns 2000; Aguiar 2009)

Estudos filogenéticos (Endress *et al.*, 1996; Sennblad & Bremer, 1996; Potgieter & Albert, 2001; Simões *et al.*, 2007) sugerem que frutos carnosos e indeiscentes têm evoluído várias vezes em Rauvolfioideae, uma vez que ocorrem em representantes de nove das dez tribos atualmente reconhecidas. Além disso, existem casos isolados de um táxon com frutos carnosos e indeiscentes de uma tribo que na verdade seriam caracterizados por frutos deiscentes com pericarpo seco e sementes aladas. Podemos citar, como exemplo, a tribo Aspidospermeae, onde *Geissospermum* Allemão (fruto do tipo baga) e *Vallesia* Ruiz & Pav. (fruto do tipo drupa) são estreitamente relacionados com *Aspidosperma* (fruto apocárpico seco). Padrões semelhantes ocorrem com determinadas características em famílias de angiospermas, como em Myrtaceae, Melastomataceae e Rubiaceae (Endress, 1996). Isso sugere que ocorreu uma forte oscilação na evolução dos frutos carnosos e secos, deiscente e indeiscente em respostas a pressões seletivas do meio, principalmente pela dispersão desses pelo vento, água ou por animais (Endress & Bruyns, 2000).

Em Rauvolfioideae também podem ser encontrados árvores, arbustos, lianas e raramente ervas. O grupo contém poucas flores especializadas na família, tendo poucos caracteres distintivos florais úteis para diagnosticar tribos, gêneros e espécies. As flores são geralmente pequenas e esbranquiçadas.

Embora já tenham havido grandes progressos na compreensão da filogenia e as relações de Apocynaceae nos últimos anos, continuam a existir certas subfamílias que ainda são pouco conhecidas, e mesmo aquelas que são mais bem investigadas, existem lacunas taxonômicas para preencher. Dentro de Rauvolfioideae, existe a necessidade de estudos focados na circunscrição genéricos e das relações intertribais (Endress & Bruyns, 2000). Dentre as tribos com potencial para estudos filogenéticos e evolutivos, destaca-se Willughbeieae.

Segundo Endress *et al.* (2007), a tribo possui 108 espécies e 18 gêneros, e apresenta distribuição pantropical. As espécies neotropicais são árvores ou mais raramente arbustos com a exceção de *Pacouria* Aubl, um pequeno gênero contendo três espécies de hábito lianescente. Já as espécies paleotropicais são arbustos ou mais comumente lianas com inflorescências ramificadas e por vezes portando gavinhas. Todas as espécies de Willughbeieae possuem folhas opostas, ovário sincárpico, frutos indeiscentes e carnosos do tipo baga, pericarpo não fibroso (com camada lenhosa em alguns gêneros paleotropicais, como *Ancylobotris* e *Landolphia*), e um grande número de sementes no interior do mesocarpo (Endress & Bruyns, 2000).

Embora superficialmente similares aos frutos carnosos de representantes de outras tribos, como Carisseae e Tabernaemontaneae, detalhes da anatomia de frutos de espécies de Willughbeieae são desconhecidos. Mesmo existindo alguns trabalhos relacionados à morfoanatomia de frutos e sementes em espécies de Apocynaceae (Thomas & Dave, 1991; Kuriachen *et al.*, 1992; Souza & Moscheta, 1992; Thomas & Dave, 1994; Souza *et al.*, 2004, Aguiar, 2003; Gomes, 2008; Aguiar *et al.*, 2009, entre outros) eles são poucos frente à riqueza de espécies e diversidade de frutos e sementes apresentada pela família,

Além disso, todo e qualquer sistema de classificação de frutos tem de lidar com dificuldades consideráveis, sendo o principal problema a complexa e muitas vezes contínua variação na estrutura do fruto. Outra dificuldade relacionada à classificação de frutos advém da recorrente evolução paralela e convergente de estruturas associadas a ele, pois é sabido que frutos funcionalmente similares muitas vezes surgiram independentemente em diferentes linhagens dentro de uma mesma família (Judd, 1999). Desta forma, o levantamento de características anatômicas dos frutos da tribo

JUSTIFICATIVA

Um dos fatores importantes para o desenvolvimento desta tese foi levantar caracteres que sejam importantes na distinção das espécies e que possam servir como subsídios para futuros trabalhos taxonômicos e filogenéticos em Apocynaceae.

Além disso, este estudo está inserida em grupo de pesquisa sediado no Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UNICAMP. Este grupo tem como líderes o Prof. Dr. André Olmos Simões, que desenvolve estudos em sistemática, filogenia, taxonomia e morfoanatomia de flores e frutos de Apocynaceae, a Profa. Dra. Sandra Maria Carmello-Guerreiro, que desenvolve projetos em anatomia de fruto na família, e a Profa. Dra. Luiza Sumiko Kinoshita, especialista com ampla experiência na taxonomia de representantes diversos de Apocynaceae.

Mesmo existindo alguns trabalhos relacionados à morfoanatomia de frutos e sementes em espécies de Apocynaceae, eles são poucos frente à riqueza de espécies e a diversidade encontrada na família. Em particular, há uma escassez de estudos relacionados à anatomia de frutos em Willughbeieae, sendo digno de nota o estudo de Aguiar (2007) com a espécie *Hancornia speciosa*.

As espécies que serão estudadas neste trabalho ocorrem na flora brasileira, sendo, portanto, uma família muito representativa nos biomas brasileiros.

Desta forma, estudos que contemplem espécies de nossa flora são de grande importância nos dias de hoje, levando-se em conta a enorme diversidade ainda pouco estudada e constantemente ameaçada pela ação humana.

OBJETIVO GERAL

O trabalho tem como objetivo estudar a anatomia do fruto e semente de quatro espécies da tribo Willughbeieae (*Couma rigida* Mull.Arg, *Lacmellea panamensis* (Woodson) Monach, *Hancornia speciosa* Gomes e *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist) e assim contribuir para futuros trabalhos taxonômicos e filogenéticos e para o maior conhecimento da família.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar, através da anatomia, os frutos e as sementes das quatro espécies e levantar dados que possam ser utilizados para a distinção dos gêneros.

Levantar caracteres anatômicos que possuam potencial valor sistemático e evolutivo na tribo

Descrever a anatomia e caracterizar os tipos de substâncias de reserva presente nas sementes maduras das quatro espécies, como uma contribuição para o conhecimento da família

Compilar dados para contribuir com um maior conhecimento das Rauvolfioideae neotropicais

Tabela 1 – Lista das tribos da subfamília Rauvolfioideae baseada em Endress & Bruyns (2000), Endress et al. (2007) e Simões et al. (2007) e dos frutos já estudados em cada uma delas

TRIBOS	ESPÉCIES ESTUDADAS
Aspidospermea	<i>Aspidoperma polyneuron</i> Müll. Arg. (Souza & Moscheta 1992) e <i>Aspidosperma parvifolium</i> A.DC. (Gomes 2008)
Alstonieae	<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R. Br. (Thomas & Dave 1994)
Vinceae	<i>Rauvolfia serpentina</i> Benth. ex Kurz (Gupta & Lampa 1981), <i>Catharanthus pusillus</i> G. Don, <i>Catharanthus roseus</i> G. Don e <i>Vinca major</i> L. (Thomas & Dave 1994)
Willughbeieae	-----
Tabernaemontaneae	<i>Tabernaemontana catharinensis</i> A. DC. (Aguiar 2003)
Alyxieae	-----
Hunterieae	-----
Plumerieae	-----
Carisseae	-----

Capítulo 1

Morfoanatomia de frutos em Willughbeieae (Apocynaceae, Rauvolfioideae)

INTRODUÇÃO

Todo e qualquer sistema de classificação de frutos tem de lidar com dificuldades consideráveis, sendo o principal problema a complexa e muitas vezes contínua variação na estrutura do fruto. Outra dificuldade relacionada à classificação de frutos advém da recorrente evolução paralela e convergente de estruturas associadas a ele, pois é sabido que frutos funcionalmente similares muitas vezes surgiram independentemente em diferentes linhagens dentro de uma mesma família (Judd, 1999).

Apocynaceae pertence a ordem Gentianales e possui sua distribuição principalmente em zonas tropicais e subtropicais, com poucos representantes em zonas temperadas (Sennblad *et al.*, 2002). É uma das maiores famílias de angiospermas, com 375 gêneros e mais de 5.000 espécies (Endress, 2004; Endress *et al.*, 2007). Atualmente a família é dividida em cinco subfamílias, sendo os gêneros estudados pertencentes a subfamília Rauvolfioideae e a tribo Willughbeieae (Endress & Bruyns, 2000).

A subfamília Rauvolfioideae possui 41 gêneros e 10 tribos (Endress *et al.*, 2007; Simões *et al.*, 2007). Os frutos da subfamília são bacáceos na maioria dos representantes das tribos Willughbeieae, Carisseae, Hunterieae, Plumerieae e Melodineae, e em alguns representantes de Tabernaemontaneae, (Endress & Bruyns, 2000), Segundo Endress *et al.* (2007), a tribo Willughbeieae possui 108 espécies e 18 gêneros, e apresenta distribuição pantropical. Todas as espécies da tribo possuem ovário sincárpico, frutos indeiscentes do tipo baga e numerosas sementes no interior do mesocarpo (Endress & Bruyns, 2000).

Embora superficialmente similares aos frutos carnosos de representantes de outras tribos, como Carisseae e Tabernaemontaneae, detalhes da anatomia de frutos de espécies de Willughbeieae são desconhecidos. Mesmo existindo alguns trabalhos relacionados à morfoanatomia de frutos e sementes em espécies de Apocynaceae (Thomas & Dave, 1991; Kuriachen *et al.*, 1992; Souza & Moscheta, 1992; Thomas &

Dave, 1994; Souza *et al.*, 2004, Aguiar, 2003; Gomes, 2008; Aguiar *et al.*, 2009, entre outros) eles são poucos frente à riqueza de espécies e diversidade de frutos e sementes apresentada pela família, havendo pouquíssimos estudos relacionados exclusivamente em anatomia de frutos em Willughbeieae. Desta forma, o levantamento de características anatômicas dos frutos da tribo Willughbeieae é de grande importância para auxiliar a distinção entre os gêneros, além de contribuir para o conhecimento de Apocynaceae e da subfamília Rauvolfioideae.

OBJETIVO

O trabalho tem como objetivo estudar a anatomia do fruto de quatro espécies da tribo Willughbeieae (*Couma rigida* Mull.Arg, *Lacmellea panamensis* (Woodson) Monach, *Hancornia speciosa* Gomes e *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist) e levantar dados que possam ser utilizados para a distinção dos gêneros.

Levantar caracteres anatômicos que possuam potencial valor sistemático e evolutivo na tribo

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras para estudos anatômicos foram obtidas a partir da coleção já existente no Departamento de Biologia Vegetal da Unicamp. Os frutos de *Couma rigida* Mull.Arg foram coletados no município de Mucugê, BA, Brasil, os de *Lacmellea panamensis* (Woodson) Monach na Península de Osa, na Costa Rica, América Central, os de *Hancornia speciosa* Gomes no Parque Nacional da Serra do Cipó, no município Cardeal Mota, MG, Brasil, e os de *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist no município de Muaná (PA). Todas as amostras foram identificadas em laboratório pelo Dr. André Simões. As exsiccatas destes espécimes foram incorporadas nos herbários INBIO, INPA e UEC e os números do coletor estão descritos abaixo:

Couma rigida: M. Watanabe 7 (ZUEFS)

Lacmellea panamensis: J.F. Morales et al. s.n. (INB, UEC)

Hancornia speciosa: L.S. Kinoshita et al. 03/214 (UEC)

Parahancornia fasciculata: S.S. Viana et al. 38 (MG)



Figura: Frutos jovens. **A.** *Couma rigida*; **B.** *Lacmellea panamensis*; **C.** *Hancornia speciosa*; **D.** *Parahancornia fasciculata*. Fotos feitas por A.O, Simões.

Microscopia de luz

Frutos maduros das quatro espécies foram fixados em FAA50 (formaldeído, ácido acético glacial, etanol 50%, 1:1:18 (v/v)) (Johansen, 1940) por um período mínimo de 24 horas, colocados em bomba de vácuo para auxiliar na penetração do fixador, e estocados em álcool etílico 70%. A região mediana de frutos maduros foi incluída em resina plástica (Historesin® Leica) seguindo o método proposto por Gerrits & Smid (1983) e as recomendações do fabricante. Após a inclusão, os materiais foram montados em blocos de madeira e seccionados, transversal e longitudinalmente, a uma espessura entre 8-10 micrômetros em micrótomo rotativo manual com navalha de aço. Os cortes foram aderidos em lâminas de vidro e corados com azul de toluidina (C.I. 52040) a 0,05% em tampão acetato, pH 4,7 (Sakai, 1973) por cinco minutos. As lâminas foram montadas temporariamente em água e examinadas em microscópio de luz. Os cortes foram fotografados em microscópio de luz Olympus BX 51 com câmera digital 59 acoplada modelo DP71, utilizando o programa Olympus DP Controller.

Histoquímica

Para as análises histoquímicas, os cortes foram corados com Preto de Sudão B (Pearse, 1980) para a detecção de lipídios totais e submetidos à reação com Cloreto de Ferro III (Johansen, 1940) para a detecção de compostos fenólicos. Os cortes foram fotografados em microscópio de luz Olympus BX 51 com câmera digital 59 acoplada modelo DP71, utilizando o programa Olympus DP Controller.

RESULTADOS

O fruto, segundo Roth (1977), é dividido em três camadas distintas: exocarpo, mesocarpo e endocarpo, por isso os resultados aqui descritos estão divididos dessa forma. Na tabela 1 estão descritas as principais características anatômicas encontradas nas espécies estudadas.

Exocarpo: A camada externa que recobre o fruto das quatro espécies estudadas é formada por apenas uma camada celular. As células do exocarpo apresentam paredes delgadas e justapostas (Fig. 1, 3, 5 e 7). Todas as espécies possuem cutícula espessa que penetra entre as paredes anticlinais das células epidérmicas formando o flange cuticular (Fig. 11, 14, 17 e 20). Apenas *P. fasciculata* apresenta em sua cutícula ornamentações (Fig. 7, 19 e 20). Estômatos são encontrados em todas as espécies estudadas (Fig. 1 e 7).

Mesocarpo: Todas as espécies possuem mesocarpo multiestratificado, constituído por parênquima fundamental, laticíferos, idioblastos fenólicos e feixes vasculares. Em *C. rigida* são observados também esclereídes (Fig. 1) com paredes secundárias espessas e muito lignificadas, podendo essas estar agrupadas nas primeiras camadas (1/3 externo) ou isoladas no interior do parênquima fundamental. A distribuição dos idioblastos com compostos fenólicos (Fig. 12, 15, 18 e 21) pode mudar entre as quatro espécies, mas todas elas possuem, logo abaixo do exocarpo, camadas quase contínuas (duas a sete camadas) destes idioblastos, nessa região do mesocarpo as células parenquimáticas são justapostas e possuem paredes espessadas (Fig. 1, 3, 5, 7, 10, 13, 18 e 19). Abaixo dessas camadas, os idioblastos ficam mais dispersos, sendo

eles restritos apenas às primeiras camadas em *H. speciosa* (Fig. 5). Em *L. panamensis*, esses idoblastos também podem estar formando grupos em diferentes orientações no mesocarpo do fruto (Fig. 4) e nas camadas mais internas do mesocarpo, as células são ainda maiores, com paredes celulares delgadas e estão arranjadas formando grandes espaços intercelulares (Fig. 4). Já em *P. fasciculata*, é formado aerênquima com grandes espaços intercelulares (Fig. 8). Grandes quantidades de laticíferos estão presentes nas quatro espécies (Fig. 1, 3, 16). Os laticíferos observados apresentam parede celular espessada e estão distribuídos entre as células parenquimáticas na região no mesocarpo, principalmente na região onde estão inseridas as sementes. Os feixes vasculares estão distribuídos na região do mesocarpo. Em *H. speciosa*, os feixes apresentam maior calibre e estão em diferentes alturas no interior do mesocarpo (Fig. 6). O mesmo não ocorre nas outras espécies, onde os feixes vasculares possuem um calibre menor.

Endocarpo: Todas as espécies apresentam endocarpo de camada única com células de parede delgadas. Algumas dessas células apresentam compostos fenólicos. Os prolongamentos das células da testa da semente penetram entre as células do endocarpo (Fig. 2, 4, 6 e 9).

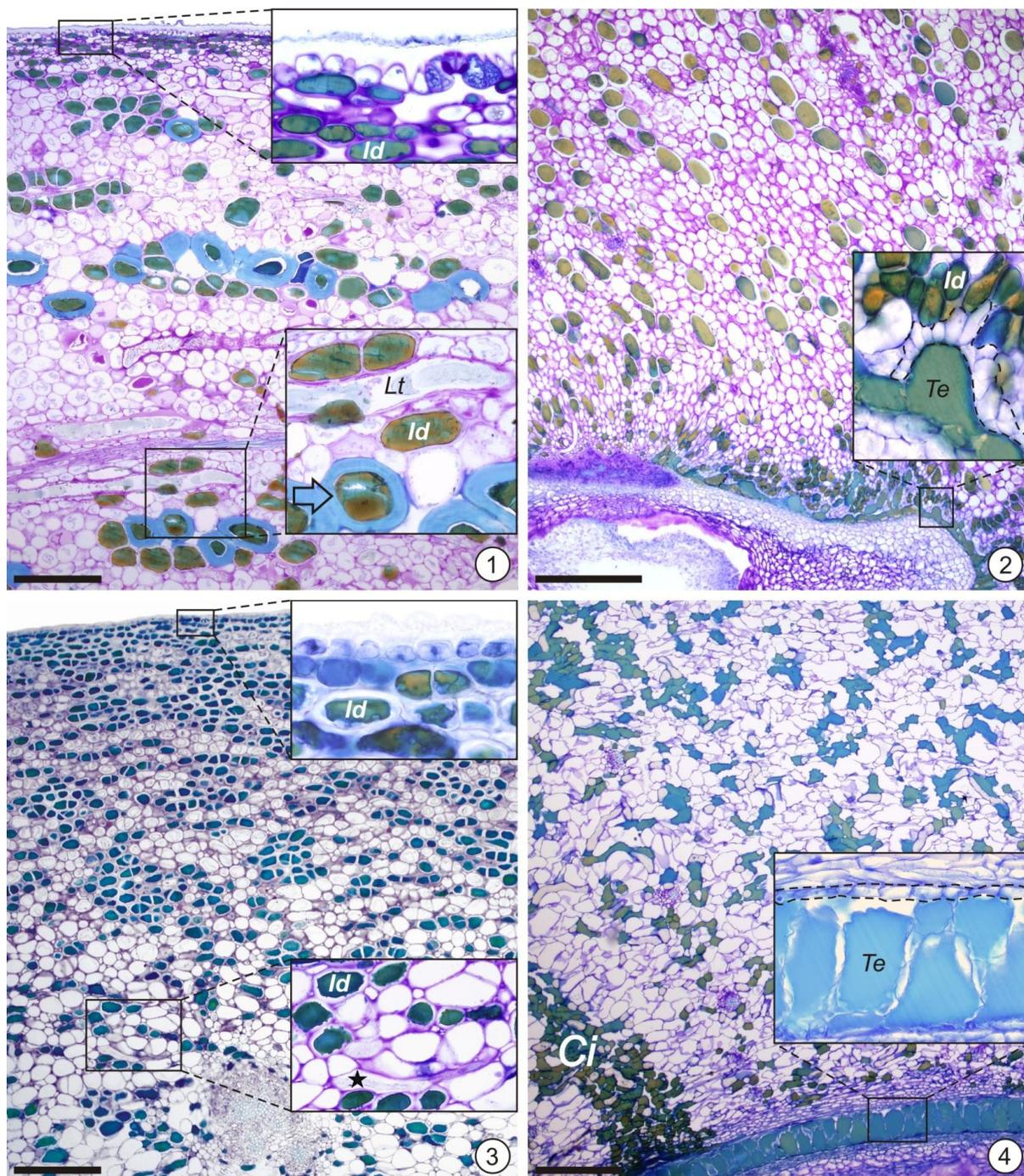


Figura 1-4: Secções transversais e longitudinais do fruto de *Couma rigida* e *Lacmellea panamensis*. **1-2:** *C. rigida*, em cortes longitudinais e **3-4:** *L. panamensis*, em cortes transversais. **1.** Exocarpo - mesocarpo. Exocarpo uniestratificado (“inset” superior), idioblastos fenólicos, laticíferos e esclerócitos (seta) (“inset” inferior), **2.** Mesocarpo – endocarpo. Mesocarpo com idioblastos fenólicos, endocarpo uniestratificado (pontilhado) (“inset”). **3.** Exocarpo - mesocarpo. Exocarpo uniestratificado (“inset” superior), idioblastos fenólicos e laticíferos (estrela) (“inseto” inferior), no mesocarpo. **4.** Mesocarpo – endocarpo. Mesocarpo com espaços intercelulares, idioblastos isolados e em conjunto. Endocarpo de camada única (pontilhado) (“inset”). *Ci*= conjunto de idioblastos; *Id*= idioblasto fenólicos; *Lt*= laticíferos; *Te*= testa. **Escala:** 200µm.

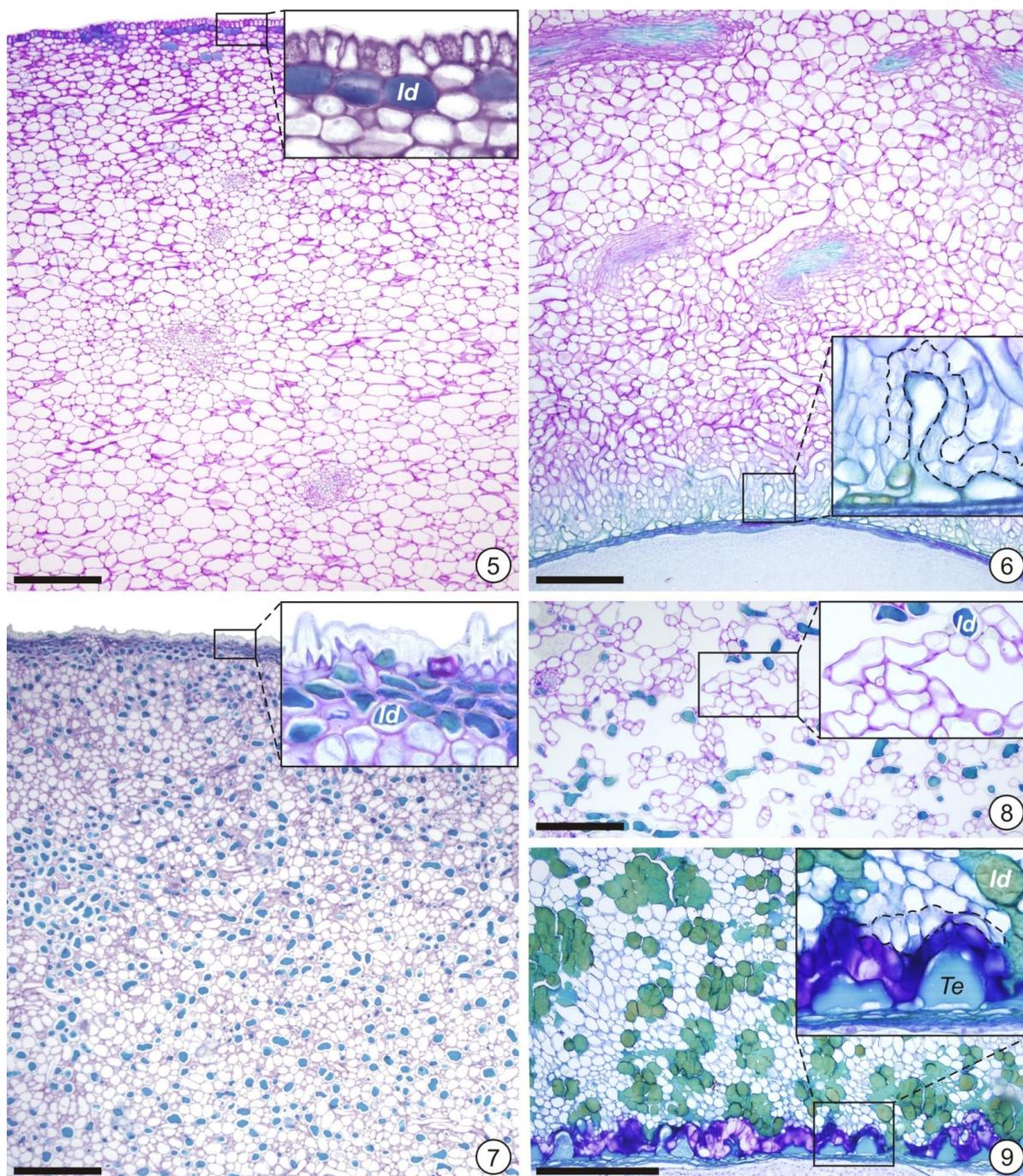


Figura 5-9: Secções transversais do fruto de *Hancornia speciosa* e *Parahancornia fasciculata*. **5-6:** *H.speciosa*. **7-9** *P. fasciculata*. **5.** Exocarpo - mesocarpo. Exocarpo uniestratificado, idioblastos fenólicos somente nas primeiras camadas do mesocarpo (“inset”). **6.** Mesocarpo – endocarpo. Endocarpo uniestratificado (“inset”). **7.** Exocarpo - mesocarpo. Exocarpo uniestratificado, idioblasto fenólicos (“inset”). **8.** Mesocarpo com aerênquima (“inset”). **9.** Endocarpo de camada única (pontilhado) e idioblastos fenólicos (“inset”). *ld*= idioblasto fenólicos; *Te*= testa. **Escala:** 200µm.

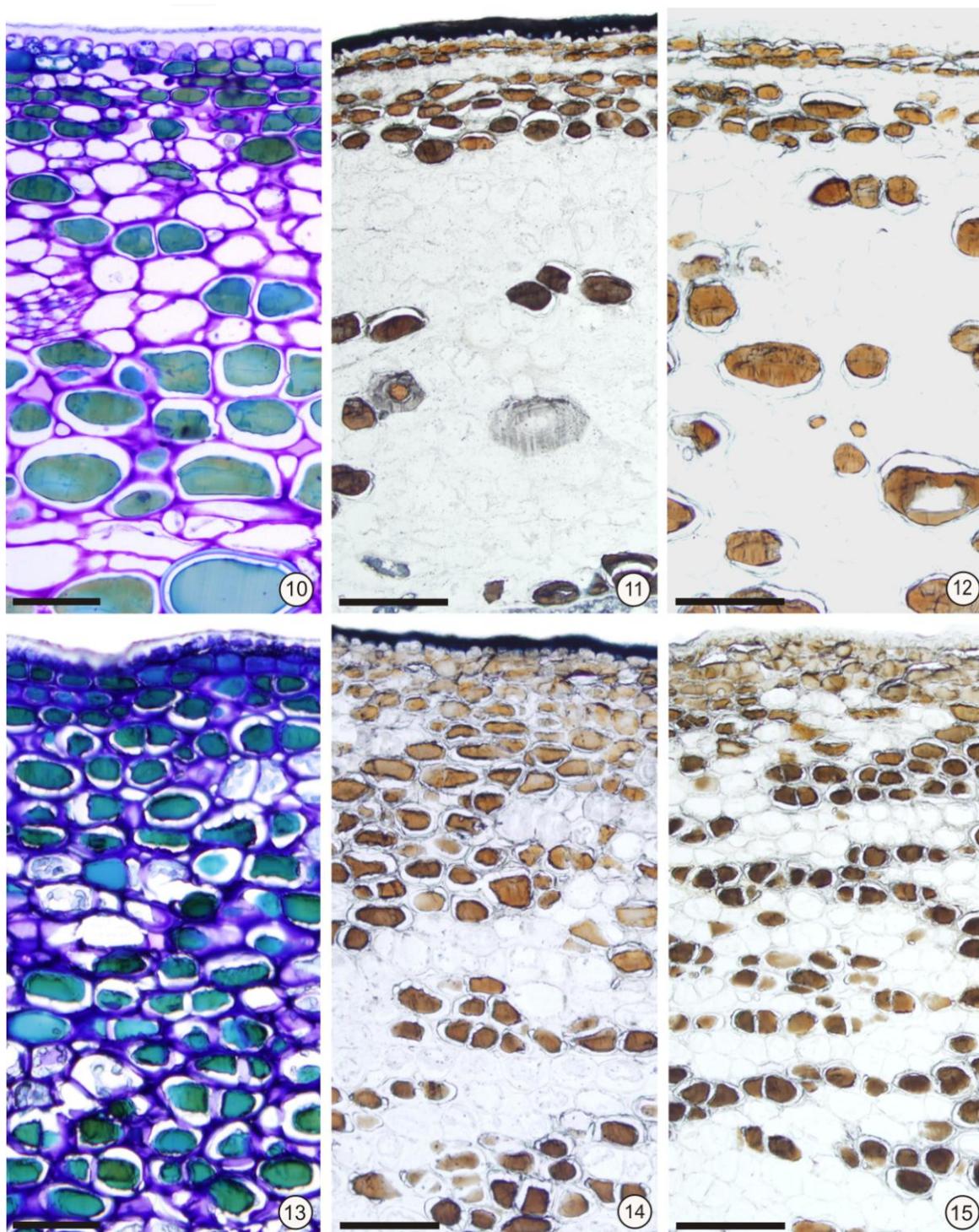


Figura 10-15: Secções transversais do fruto de *Couma rigida* e *Lacmellea panamensis*. **10, 11,12:** *C. rigida*. **13, 14,15:** *L. panamensis*. **10.** Vista geral do pericarpo do fruto corado com azul de toluidina. **11.** Teste de Preto de Sudão B corando a cutícula. **12.** Teste de Cloreto de Ferro III corando os idioblastos. **13.** Vista geral do pericarpo do fruto corado com azul de toluidina. **14.** Teste de Preto de Sudão B corando a cutícula. **15.** Teste de Cloreto de Ferro III corando os idioblastos. **Escalas:** 10 e 13= 50µm; 11, 12 e 15= 200µm; 14= 100µm.

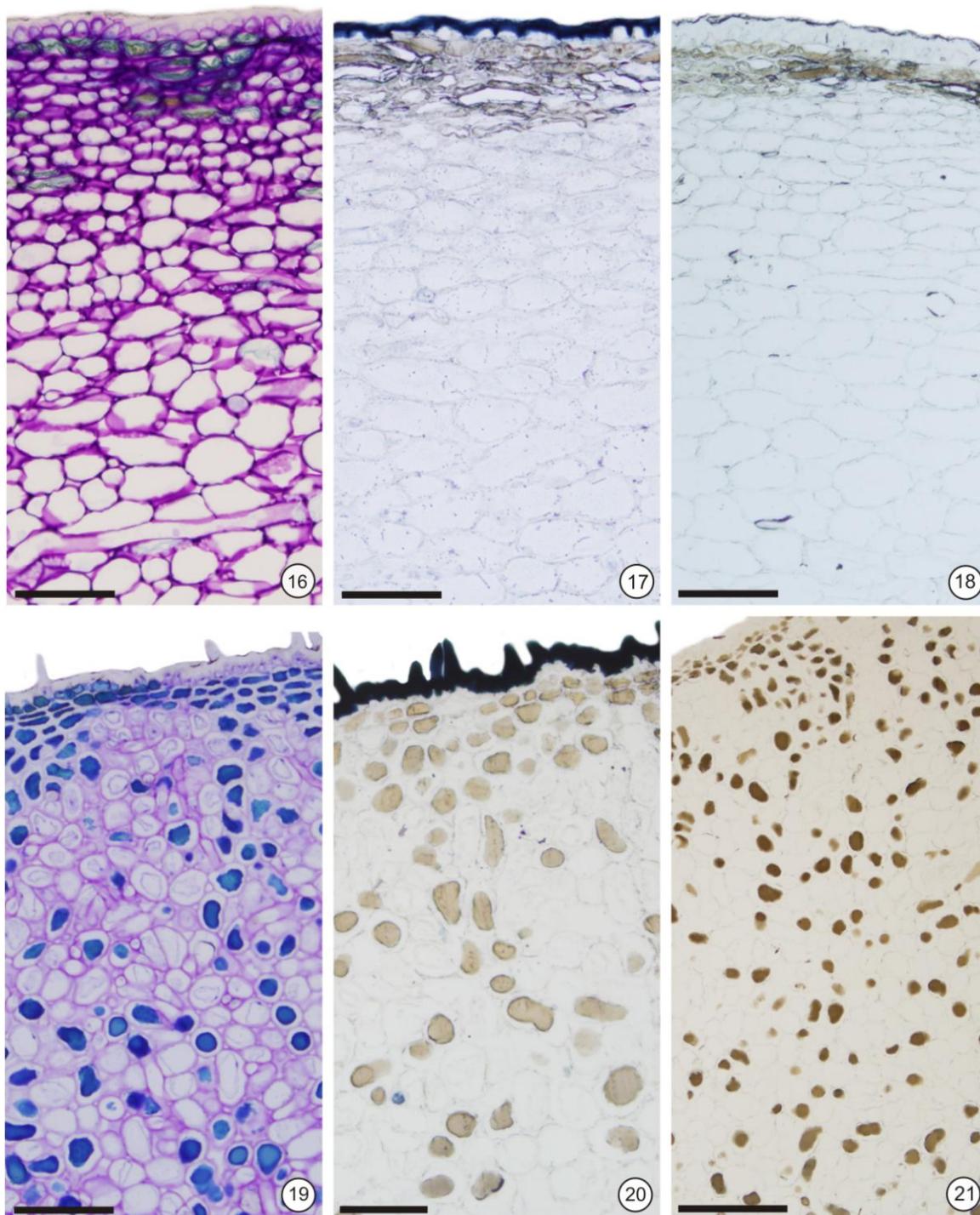


Figura 16-21: Secções transversais do fruto de *Hancornia speciosa* e *Parahancornia fasciculata*. **16, 17, 18:** *H. speciosa*. **19, 20, 21:** *P. fasciculata*. **16.** Vista geral do pericarpo do fruto corado com azul de toluidina. **17.** Teste de Preto de Sudão B corando a cutícula. **18.** Teste de Cloreto de Ferro III corando os idioblastos. **19.** Vista geral do pericarpo do fruto corado com azul de toluidina. **20.** Teste de Preto de Sudão B corando a cutícula. **21.** Teste de Cloreto de Ferro III corando os idioblastos. **Escala:** 16, 17, 18, 19 e 20= 100µm; 21= 200µm.

Quadro 1: Resumo das principais características anatômicas do fruto das quatro espécies. + = presente; - =ausente.

CARACTERÍSTICAS ANATÔMICA	<i>Couma rigida</i>	<i>Lacmellea panamensis</i>	<i>Hancornia speciosa</i>	<i>Parahancornia fasciculata</i>	
Epicarpo	Nº camadas	1	1	1	
	Estômatos	+	+	+	
	Flange cuticular	+	+	+	
	Cutícula ornamentada	-	-	-	+
Mesocarpo	Idioblastos fenólicos	+	+	+	
	Aerênquima	-	-	-	+
	Laticíferos	+	+	+	+
	Esclereídes	+	-	-	-
	Feixes vasculares	+	+	+	+
Endocarpo	Nº camadas	1	1	1	
	Paredes delgadas	+	+	+	+
	Cutícula	-	-	-	-

DISCUSSÃO

As características encontradas em todas as espécies estudadas são: 1) presença de exocarpo uniestratificado, 2) cutícula formando flange cuticular; 3) idioblastos com compostos fenólicos; 4) laticíferos; 5) endocarpo uniestratificado; 6) frutos do tipo baga advindos de gineceu sincárpico.

A cutícula é encontrada na superfície dos frutos e sua formação pode ser influenciada por fatores ambientais, como a intensidade da luz. A cutícula é a camada mais importante dos frutos bacáceos e drupáceos, por constituir uma camada de proteção que impede a perda excessiva de água (Roth, 1977). A cutícula é composta por substâncias lipídicas – poliésteres insolúveis – substância graxa complexa e consideravelmente impermeável à água que se encontra como uma camada que recobre a epiderme (Alquini *et al.*, 2006), fato que podemos constatar em todas as espécies estudadas, a partir das análises histoquímicas. Essa cutícula espessada

provavelmente se deve ao fato de que todas as espécies são encontradas em áreas de alta incidência solar. *C. rigida* e *H. speciosa* são espécies encontradas em áreas de campo aberto, enquanto *L. panamensis* e *P. fasciculata* são encontradas em áreas de floresta fechada, porém possuem a copa de suas árvores no dossel (A.O. Simões, com. pess.). A cutícula pode ser encontrada em muitos frutos de Apocynaceae, como em *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Aguiar, 2003), *Allamanda blanchettii* A. DC., *Allamanda shottii* Pohl, *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Aguiar, 2009), *Prestonia riedelli* (Mull.Arg.) Markgr. (Aguiar *et al.* 2009), *Ambelania duckei* Markgr, *Macoubea sprucei* (Mull.Arg.) Markgr. (Vilalba-Ferreira, 2012). Apesar de todas as espécies aqui estudadas apresentarem cutícula espessada, somente em *P. fasciculata* foram observadas ornamentações cuticulares. Essas ornamentações na cutícula também foram encontradas em frutos em *Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn. (Aguiar, 2009) e possivelmente proporcionam proteção adicional a esta espécie, que vivem em lugares com excesso de luminosidade e radiação solar (Alquini *et al.*, 2006).

A parede do fruto é dividida anatomicamente em três regiões: exocarpo, mesocarpo e endocarpo. Esta separação serve para facilitar a descrição anatômica, sendo que a definição desses termos varia conforme cada autor (Fahn, 1990). De acordo com Roth (1977), o exocarpo é a camada mais externa do pericarpo, é geralmente uniestratificada e em alguns frutos representa a camada de proteção. A presença de exocarpo uniestratificado ocorreu em todas as espécies estudadas, sendo uma característica comum com outras espécies de Rauvolfioideae (Gomes, 2008; Aguiar, 2003; Aguiar, 2009; Aguiar *et al.*, 2009; Vilalba-Ferreira, 2012). Já a presença de exocarpo multiestratificado é mais comum em espécies da subfamília Apocynoideae, como em *Aganosma caryophyllata* G. Don, *Nerium oleander* L. (Thomas & Dave, 1991), *Prestonia coalita* (Gomes, 2008), *Prestonia riedelli* (Aguiar *et al.*, 2009). O fato de possuir o exocarpo uniestratificado ou multiestratificado não está relacionado ao tipo de fruto, já que alguns frutos foliculares de Rauvolfioideae possuem exocarpo uniestratificado como em *Tabernaemontana catharinensis* A. DC e *Tabernaemontana elegans* A. DC (Aguiar, 2003; Aguiar, 2009) e alguns frutos foliculares de Apocynoideae possuem exocarpo multiestratificado. Assim a diferenciação na estratificação do epicarpo pode estar mais relacionado com a subfamília do que com o tipo de fruto.

As quatro espécies estudadas neste trabalho possuem estômatos apenas na superfície externa do fruto. Os estômatos se desenvolvem ou apenas no exocarpo ou em ambos os lados do pericarpo, sendo menos frequente, o desenvolvimento deles apenas no endocarpo do fruto (Roth, 1977). Segundo Roth (1977), os estômatos desempenham a função de controle de temperatura e de balanço hídrico por meio da evapotranspiração. Eles podem ser encontrados em diferentes espécies da subfamília Rauvolfioideae, também na superfície externa do fruto (Kuriachen *et al.*, 1991; Kuriachen *et al.*, 1992; Souza *et al.*, 2004; Aguiar, 2009).

Segundo Evert (2006), as esclereídes são células que estão relacionadas ao sistema de sustentação e proteção mecânica das plantas. Essas células podem estar isoladas, intercaladas com células do parênquima ou acumuladas em pequenos ou grandes grupos. Elas podem também formar camadas contínuas ou desenvolver padrões especiais relacionados com a simetria do fruto (Roth, 1977). As esclereídes estão presentes somente em *C. rigida*. Nesta espécie, as esclereídes estão organizadas em grupos ou isoladas em diferentes direções no mesocarpo do fruto, sendo assim uma característica distintiva entre as espécies em estudo. Elas podem ser encontradas em algumas espécies da tribo Tabernaemontaneae, com sua distribuição em diferentes arranjos (Vilalba-Ferreira, 2012). Em *Aspidosperma parvifolium* A.DC estão distribuídas em pequenos grupos entre as células do parênquima (Gomes, 2008). Tanto a tribo Tabernaemontaneae quanto Alstonieae, a qual está inserida a espécie *A. parvifolium*, pertencem à subfamília Rauvolfioideae, estando assim relacionados com *C. rigida*. Assim presença de esclereídes no mesocarpo do fruto pode ser uma característica de união do grupo dentro da subfamília e o arranjo desses podem separá-las em diferentes tribos ou gêneros.

O aerênquima, observado apenas no mesocarpo de *P. fasciculata*, é um tipo de parênquima com grandes espaços intercelulares que ocorrem em alguns tipos de frutos (Roth, 1977). Nesses espaços intercelulares o ar é acumulado, sendo comum encontrá-los, principalmente, em plantas aquáticas, mas podem estar presentes em outras plantas que tem seus frutos e sementes dispersos pelo vento (Scatena *et al.*, 2006; Roth, 1977). Como esse não é caso, outra explicação para o aparecimento desse tecido nesta espécie seria que, este aerênquima possui a função de aumentar o tamanho do

fruto e torná-lo mais macio, para que dessa forma, o tecido possa ser comprimido e acomodar as sementes que ainda estão em processo de maturação (Roth,1977). A presença de aerênquima já foi relatada em *Spongiosperma macrophyllum* (Mull.Arg.) Zarucchi, *Tabernaemontana elegans* Stapf, *T. sananho* Ruiz & Pav., *Blepharodon bicuspidatum*, *Oxypetalum appendiculatum* Mart., *O. balansae* Malme, *O. glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquette (Aguiar, 2009; Vilalba-Ferreira, 2012). A presença desse tecido em apenas uma espécie em estudo pode servir como uma característica para distingui-la das outras, porém parece ser comum em tribos da subfamília Rauvolfioideae, podendo assim ser uma homoplasia dentro do grupo.

Idioblastos secretores estão presentes na maioria dos frutos (Roth, 1977), e a presença de compostos fenólicos nesses idioblastos tem como função auxiliar no mecanismo de interação entre plantas e animais, agindo como dissuasivo alimentar e reduzindo a herbivoria (Castro *et al.*, 2006). O sabor de um fruto é dado, principalmente, pelo conteúdo de açúcares e ácidos orgânicos, sendo que o sabor adstringente de alguns frutos é atribuído à presença de compostos fenólicos (taninos), assim os frutos tendem a se tornar menos adstringentes durante sua maturação (Tucker, 1993). Os idioblastos com compostos fenólicos apareceram como característica comum em todas as espécies aqui estudadas. A principal diferença é em termos de disposição de idioblastos, como foi observado em *H. speciosa*, no qual eles aparecem apenas nas primeiras camadas do mesocarpo, podendo essa ser uma característica distintiva entre as espécies. A presença desses idioblastos é muito comum em frutos carnosos da família Apocynaceae (Dave & Kuriachen 1991, Souza & Moscheta 1992, Kuriachen *et al.* 1993, Aguiar 2003, 2009, Vilalba-Ferreira, 2012, entre outros), assim como em outras famílias e podem estar relacionados com a fase de maturação do fruto. De modo geral, as funções dos compostos fenólicos não são claramente conhecidas, podendo atuar na proteção contra herbívoros, especialmente insetos, e também contra fungos e bactérias e conferirem a coloração e o sabor típico do fruto (Swain, 1979).

Os laticíferos estão presentes em todas as espécies estudadas e sua presença em Apocynaceae é amplamente conhecida (Metcalf & Chalk, 1950), tendo sido relatada em diversos frutos de espécies da família (Kuriachen & Dave, 1989; Kuriachen *et al.*, 1990, 1991; Dave & Kuriachen, 1991; Thomas & Dave, 1991; Kuriachen *et al.*,

1992; Thomas & Dave, 1994; Gomes, 2008; Aguiar, 2009; Aguiar *et al.*, 2009, Vilalba-Ferreira, 2012). Desta forma, a presença de laticíferos parece revelar mais uma provável peculiaridade da família a que pertencem do que um caráter especial do fruto (Roth, 1977). Os laticíferos possuem um fluido chamado látex, sendo suas principais funções proteger a planta contra herbivoria e selar ferimentos (Fahn, 1979; Evert, 2006). Sua composição química pode ser bastante complexa, podendo possuir terpenos, amido, ceras, resinas, proteínas, óleos essenciais, mucilagens, entre outras substâncias (Fahn, 1979). Eles agrupam-se em duas categorias: não articulados e articulados. Os laticíferos não articulados são formados por células isoladas que se diferenciam em estruturas tubulares que apresentam crescimento intrusivo, já os articulados são formados por fileiras de células, podendo suas paredes terminais permanecerem integras ou serem parcial ou totalmente destruídas (Castro, *et al.*, 2006). Segundo Demarco *et al.*, (2006), somente através de estudos ontogenéticos se pode classificar os tipos de laticíferos. Assim, como não foram realizados estudos do desenvolvimento dos frutos, optou-se por não classificá-los.

O endocarpo das quatro espécies estudadas são uniestratificados, com células de parede delgada. No endocarpo é frequente a presença de células menores comparadas com as células do exocarpo, especialmente em frutos carnosos, e suas funções são bem diferentes. O exocarpo tem função de proteger quimicamente e fisiologicamente o pericarpo. Já o endocarpo, principalmente de frutos do tipo baga e cápsula, não possui essa função de proteção e é pouco desenvolvido, com células de paredes mais delgadas (Roth, 1977). Endocarpo uniestratificado pode ser encontrado em espécies da subtribo Ambelane, como em *Ambelania duckei*, *Macoubea sprucei*, *Spongiosperma macrophyllum* e em espécies da subtribo Tabernaemontana, como em *Tabernaemontana elegans* e *T. sananho* (Vilalba-Ferreira, 2012). Todavia, endocarpo com mais de uma camada também é encontrado em outras espécies da família, como em *Allamanda blanchettii*, *A. shottii*, *Prestonia riedelii* (Aguiar, 2009; Aguiar *et al.*, 2009).

As quatro espécies estudadas apresentam características anatômicas semelhantes que unem o grupo, como presença de cutícula espessa com flange cuticular, exocarpo uniestratificado, mesocarpo com idioblastos com compostos fenólicos, laticíferos e endocarpo uniestratificado. Todavia, apesar das semelhanças,

cada uma das espécies estudadas nessa tribo apresenta características exclusivas. *Couma rigida* apresenta em seu mesocarpo esclereídes com parede secundária bem espessada, podem estar isolados ou em grupos e dispersos entre as células parenquimáticas do mesocarpo. *Hancornia speciosa*, por sua vez, apresenta idioblastos somente nas primeiras camadas (2-3 camadas) do mesocarpo. *Lacmellea panamesis* apresenta idioblastos com compostos fenólicos na região do mesocarpo, mas estes podem se organizar de uma forma diferente, formando conjuntos ou agrupamentos de idioblastos entre as células do mesocarpo. Nesta região, existem grandes espaços intercelulares, embora não tenha sido detectada a presença de aerênquima. *Parahancornia fasciculata* foi a espécie com maior número de características exclusivas. Sua cutícula apresenta ornamentações, e no interior no mesocarpo é formado aerênquima. No interior desse aerênquima, assim como na parte externa do fruto foi verificada a presença de látex, possivelmente extravasado de laticíferos que romperam suas paredes.

CONCLUSÃO

A partir das análises anatômicas, podemos concluir que as quatro espécies dividem características em comum podendo incluí-las dentro da mesma tribo. Mas cada uma apresenta também características exclusivas, podendo essas ser sinapomórficas dentro de cada gênero. Desta forma, este trabalho está demonstrando a importância da utilização de caracteres anatômicos de frutos para distinção das espécies e também fornecendo dados que possam ser utilizados em futuras análises filogenéticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adanson, M. 1768. Familles des plantes. (Reimp. 1966. Introdução de F.A. Stafleu.) Paris, Ed. Lehre.

Aguiar, S. 2003. Morfologia e ontogenia de frutos e sementes de espécies de Apocynaceae do cerrado do estado de São Paulo. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Aguiar, S. 2009. Morfoanatomia de frutos e sementes de Apocynaceae. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Aguiar, S.; Carmello-Guerreiro, S.M. & Kinoshita L.S. 2009. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll.Arg.) Markgr. (Apocynaceae). Acta Botanica Brasilica 23: 729-737.

Alquini, Y.; Bona, C.; Boeger, M. R. T.; Costa, C. G.; Barros, C. F. Epiderme. Anatomia Vegetal. 2nd. Ed. UFV, 2006. 3: 87-96

Brow, R. 1810. On the Asclepiadeae, a natural order of plants separated from the Apocineae of Jussieu. Mem. Wern. Nat. Hist. Soc. 1: 12 – 78.

Candolle, A. de. 1844. Apocynaceae. *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis* 8: 317—489. Fortin, Masson & Soc., Paris.

Castro, M. M.; Machado, S. R. Células e Tecidos Secretores. Anatomia Vegetal. 2nd. Ed. UFV, 2006. 7: 179-188.

Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1991. Comparative anatomical characters of Periplocaceae follicles and their taxonomic significance. Feddes Repertorium. 102: 63-68.

Demarco, D.; Kinoshita, L.S & Castro, M de M. 2006. Laticíferos articulados anastomosados- novos registros para apocynaceae. Revista Brasileira de Botânica. 29: 133-144.

Endress, M.E., Sennblad, B., Nilsson, S., Civeyrel, L., Chase, M.W., Huysmans, S., Grafström, E. & Bremer, B. 1996. A phylogenetic analysis of Apocynaceae s. str. and some related taxa in Gentianales: a multidisciplinary approach. Opera Botanica Belgica 7:59–102.

Endress, M.E. & Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.1. The Botanical Review 66(1): 1 – 56.

- Endress, M.E. 2004. Apocynaceae: Brown and now. *Telopea* 10: 525–541.
- Endress, M.E.; Liede-Schumann, S. & Meve, U. 2007. Advances in Apocynaceae: the enlightenment, an introduction. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94(2): 260 – 267.
- Esau, K. 1965. *Plant Anatomy*. 2nd. ed. John Wiley and Sons, New York, USA.
- Evert, R.F. 2006. *Esau's Plant Anatomy*, 3a. ed. Wiley-Interscience, New Jersey.
- Fahn, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. Academic Press Inc., London.
- Fahn, A. 1990. *Plant anatomy*. 3th ed. Pergamon Press, Oxford.
- 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.
- Gomes, S.M. 2008. Morfo-anatomia de frutos em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. *Acta Botanica Brasilica* 22: 521-534.
- Ionta, G.M. & Judd, W.S. 2007. Phylogenetic relationships in Periplocoideae (Apocynaceae s.l.) and insights into the origin of pollinia. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94(2): 360-375.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F. *Plant systematic: a phylogenic approach*. Sunderland: Sinauer Associates, 1999.
- Judd, W.S.; Sanders, R.W. & Donoghue, M.J. 1994. Angiosperm family pairs: preliminary phylogenetic analysis. *Harvard Papers in Botany* 5: 1 – 51.
- Jussieu, A.L. 1789. *Genera plantarum*. Zurique, Viduam Herissant.
- Kuriachen, P.M. & Dave, Y. 1989. Structure and development of fruit wall ornamentations in *Pergularia daemia* (Forsk.) Chiov (Asclepiadaceae). *Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Plant Sciences)* 99: 15-20.
- Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1990. Morphohistogenic studies in the follicle of *Tylophora dalzellii* HK. F. *Phytomorphology* 40: 349-347.
- Kuriachen, P.M.; Dave, Y. & Thomas, V. 1991. Development, structure and dehiscence of follicles of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. (Asclepiadaceae). *Korean Journal of Botany* 34: 107-112.

Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1992. Taxonomic and phylogenetic significance of fruit walls in Asclepiadaceae. *Feeds Repertorium* 103: 179-193.

Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1993. Ultrastructural studies of the ovary wall and pericarp of *Asclepias curassavica* L. II. Mesocarp development. *Feddes Repertorium* 104: 227-235.

Leeuwenberg, A.J.M. 1994. Taxa of the Apocynaceae above the genus level. Series of revisions of Apocynaceae. XXXVIII. *Wageningen Agric. Univ. Pap.* 94: 45—60.

Livshultz, T., D. J. Middleton, M. E. Endress & J. K. Williams. 2007. Phylogeny of Apocynoideae and the APSA clade (Apocynaceae s.l.). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 94: 324–359.

Marcondes-Ferreira, W. 2005. *Aspidosperma* Mart. Pp. 39 – 47. In: M.G.L. Wanderley; G.J. Shepherd; T.S. Melhem & A.M. Giulietti (orgs.). *Flora fanerogâmica do estado de São Paulo*. vol. 4. São Paulo, FAPESP/HUCITEC.

Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford: Clarendon.

Pearse, A.G.E. 1980. *Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology*. 4ed. Edinburgh. Churchill Livingston.

Potgieter, K. & Albert, V.A. 2001. Phylogenetic relationships within Apocynaceae s.l. based on trnL intron and trnL – F spacer sequences and propagule characters. *Annals of Missouri Botanical Garden* 88: 523 – 549.

Roth, I. 1977. *Fruits of angiosperms: encyclopedia of plant anatomy*. Berlin, Gebrüder Borntraeger. *Stain Technology* 43: 247-249.

Sakane, M. & Shepherd, G.J. 1986. Uma revisão do gênero *Allamanda* L. (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 9: 125 – 149.

Scatena, V. L; Scremin-Dias, E. *Parênquima, Colênquima e Esclerênquima*. *Anatomia Vegetal*. 2nd. Ed. UFV, 2006. 4: 109-119.

Schumann, K. 1895. Apocynaceae. Pp. 109-189 in: Engler, A. & Prantl, K. (eds.), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien* 4(2). Engelmann, Leipzig.

Seenblad, B. & Bremer, B. 1996. The familial and subfamilial relationships of Apocynaceae and Asclepiadaceae evaluated with rbcL data. *Plant Systematics and Evolution* 202: 153 – 175.

Sennblad, B. & Bremer, B. 1996. The familial and subfamilial relationships of Apocynaceae and Asclepiadaceae evaluated with *rbcL* data. *Pl. Syst. Evol.* 202: 153–175.

Sennblad, B.; Endress, M.E. & Bremer, B. 1998. Morphology and molecular data in phylogenetic fraternity: the tribe Wrightieae (Apocynaceae) revisited. *American Journal of Botany* 85:1143-1158.

Sennblad, B & Bremer, B. 2002. Classification of Apocynaceae s.l. According to a New Approach Combining Linnaean and Phylogenetic Taxonomy. *Systematic Biology* 51: 389-409.

Simões, A. O., Livshultz, T., Conti, E., Endress, M. E. 2007. Phylogeny and systematics of the Rouvolfioideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 268–297.

Simões, A.O., Endress, M.E. & Conti, E. 2010. Systematics and character evolution of Tabernaemontaneae based on molecular and morphological evidence. *Taxon* 59: 772-790.

Souza, L.A. & Moscheta, I.S. 1992. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Biologia* 52: 439-447.

Souza, L, A. Morfologia e Anatomia vegetal: células, tecidos, órgãos e plântulas. Ed. UEPG, 2003. 72-79.

Souza, L, A. Anatomia do fruto e da semente. Ed. UEPG, 2006. .

Souza, L.A.; lawazaki, M.C. & Oliveira, R.C. 2004. Morfologia do fruto e da semente em desenvolvimento de *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae). *Insula* 33: 39-49.

Swain, T. 1979. Tanins and lignins. In *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites* (G. A. Rosenthal & D. H. Janzen, ed.) Academic Press, New York, p.657-682.

Thomas, V. & Dave, Y. 1991. Structure and development of follicles of *Nerium indicum* Mill. (Apocynaceae). *Feddes Repertorium* 102: 399-407.

Thomas, V. & Dave, Y. 1994. Significance of follicle anatomy of Apocynaceae. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 63: 9-20.

Tournefort, P. 1694. *Éléments de Botanique ou méthode pour connoitre Les Plantes*. Tome Première – Les Campaniformes: 161 – 170.

Tucker, G. A. Introduction. In: Seymour, G. B.; Taylor, J. E.; Tucker, G. A. *Biochemistry of fruit ripening*. London: Chapman & Hall, 1993. Cap. 1, p. 2-51.

Vilalba-Ferreira, C. A. 2012. *Morfoanatomia de frutos de espécies neotropicais da tribo Tabernaemontana (Apocynaceae, Rauvolfioideae)*. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. Dados não publicados.

Capítulo 2

Anatomia e histoquímica de ovários e sementes da tribo Willughbeieae (Apocynaceae, Rauvolfioideae)

INTRODUÇÃO

As sementes podem ser consideradas como a principal forma de propagar as espécies, bem como de propiciar a sobrevivência das plantas em condições adversas. Além disso, suas reservas acumuladas servem de alimento para vários seres vivos, inclusive o homem, que pode consumi-las sob forma natural ou industrializada, porém não se tem registros de sementes da família sendo consumidas pelo homem (Souza, 2009).

A identificação de sementes através de características morfológicas e anatômicas é importante na sistemática e taxonomia (Esau, 1965), além de sua importância nas investigações de filogenia, na conservação e regeneração de florestas, na recuperação de áreas degradadas, entre outras (Souza, 2009). Mesmo tendo uma grande importância, são poucos os trabalhos voltados para anatomia e morfologia de sementes, tendo destaque os trabalhos de Pearson (1948), Khan (1970), Corner (1976), Aguiar (2003), Souza *et al.*, (2004) e Aguiar *et al.*, (2009), que tratam da anatomia de sementes em Apocynaceae.

Apocynaceae pertence a ordem Gentianales e possui sua distribuição principalmente em zonas tropicais e subtropicais, com poucos representantes em zonas temperadas (Sennblad *et al.*, 2002). É uma das maiores famílias de angiospema, com 375 gêneros e mais de 5.000 espécies (Endress, 2004; Endress *et al.*, 2007). Atualmente a família é dividida em cinco subfamílias, sendo os gêneros estudados pertencentes a subfamília Rauvolfioideae e a tribo Willughbeieae (Endress & Bruyns, 2000). As sementes da família podem ser ariladas, como as dos frutos foliculares carnosos de Tabernaemontaneae (Aguiar 2009; Simões *et al.*, 2010), aladas, como em espécies de Aspidospermeae e Vinceae, (Marcondes-Ferreira, 2005), ciliadas, como em espécies de Alstonieae e Vinceae (Endress & Bruyns, 2000) ou comosas, como as presentes em espécies das subfamílias Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (Endress & Bruyns, 2000; Aguiar, 2009).

Devido à escassez de estudos e à grande diversidade morfológica das sementes dentro da família, o objetivo do trabalho foi descrever a anatomia e caracterizar os tipos de substâncias de reserva presentes nas sementes maduras de *Couma rigida*, *Lacmellea panamensis*, *Hancornia speciosa* e *Parahancornia fasciculata* ressaltando assim a importância de estudos morfoanatomicos de sementes para a família.

OBJETIVO

Caracterizar, através da anatomia, as sementes maduras das quatro espécies neotropicais e levantar dados que possam ser utilizados para a distinção das mesmas.

Levantar caracteres anatômicos que possuam potencial valor sistemático e evolutivo na tribo.

Descrever e caracterizar os tipos de substâncias de reserva presente nas sementes maduras das quatro espécies

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras para estudos anatômicos foram obtidas a partir da coleção já existente no Departamento de Biologia Vegetal da Unicamp. As flores e os frutos de *Couma rigida* foram coletados na Reserva Florestal Adolpho Ducke (Manaus, AM), os de *Lacmellea panamensis* (Woodson) Monach na Península de Osa na Costa Rica, América Central, os de *Hancornia speciosa* Gomes no Parque Nacional da Serra do Cipó, no município Cardeal Mota, e os de *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist em Muaná (PA), e identificados pelo Dr. André Simões. As exsicatas destes espécimes foram incorporadas nos herbários INBIO, INPA e UEC, e os números do coletor estão descritos abaixo:

Couma rigida: M. Watanabe 7 (ZUEFS)

Lacmellea panamensis: J.F. Morales et al. s.n. (INB, UEC)

Hancornia speciosa: L.S. Kinoshita et al. 03/214 (UEC)

Parahancornia fasciculata: S.S. Viana et al. 38 (MG)

Para as secções do ovário do gênero *Couma* foi usado outra espécie, já que não foram possíveis de serem coletadas as flores de *Couma rigida*. A espécie estudada foi *Couma macrocarpa* Barb. Rodr.

Couma macrocarpa: Costa Rica, Guanacaste, J.F. Morales et al. s.n. (INB, UEC)

Microscopia de luz

Sementes maduras das quatro espécies foram fixados em FAA50 (formaldeído, ácido acético glacial, etanol 50%, 1:1:18 (v/v)) (Johansen, 1940) por um período mínimo de 24 horas, colocados em bomba de vácuo para auxiliar na penetração do fixador, e estocados em álcool etílico 70%. A região mediana de frutos maduros foi incluída em resina plástica (Historesin® Leica) seguindo o método proposto por Gerrits & Smid (1983) e as recomendações do fabricante. Após a inclusão, os materiais foram montados em blocos de madeira e seccionados, transversal e longitudinalmente, a uma espessura entre 8-10 micrômetros em micrótomo rotativo manual com navalha de aço. Os cortes foram aderidos em lâminas de vidro e corados com azul de toluidina (C.I. 52040) a 0,05% em tampão acetato, pH 4,7 (Sakai, 1973) por cinco minutos. As lâminas foram montadas temporariamente em água e examinadas em microscópio de luz. Os cortes foram fotografados em microscópio de luz Olympus BX 51 com câmera digital 59 acoplada modelo DP71, utilizando o programa Olympus DP Controller.

Histoquímica

Para as análises histoquímicas, os cortes foram submetidos aos seguintes corantes e reagentes: Negro Sudão B (Pearse, 1980) para detecção de lipídios totais e Cloreto de Ferro III (Johansen, 1940), para compostos fenólicos, Acetato de cobre/Ácido rubeânico (Ganter & Jollés, 1969) para detecção de ácidos graxos, Vermelho de rutênio (Johansen, 1940) para pectinas, Ácido tânico/ Cloreto férrico (Pizzolato, 1977) para mucilagem, Reação PAS (Jensen, 1962) para polissacarídeos totais e Xylidine Ponceau (Cortelazzo & Vidal, 1991) para proteínas totais. Os cortes foram fotografados em microscópio de luz Olympus BX 51 com câmera digital 59 acoplada modelo DP71, utilizando o programa Olympus DP Controller.

Tabela 1: Testes histoquímicos utilizados na caracterização do tipo de substâncias de reserva nas sementes.

	Grupo de Compostos	Testes Histoquímicos
Lipídios	Lipídios totais	Preto de Sudão B
	Ácidos Graxos	Acetato de Cobre/ Ácido Rubeânico
Carboidratos	Mucilagem	Ácido Tânico/ Cloreto férrico
	Pectinas	Vermelho de Rutênio
	Polissacarídeos totais	Reação PAS
Proteínas	Proteínas totais	Xylidine Ponceau
Compostos Fenólicos	Compostos fenólicos totais	Cloreto Férrico

RESULTADOS

Abaixo segue a descrição anatômica dos ovários e de cada uma das sementes estudadas e dos principais resultados obtidos nos testes histoquímicos, que estão sumarizados na tabela 2. O ovário de *Couma macrocarpa* será classificado como ovário tipo 1 e o ovário de *Lacmellea panamensis*, *Hancornia speciosa* e *Parahancornia fasciculata* estão juntos na mesma descrição, já que possuem estrutura e desenvolvimento similares e estão classificados como ovário tipo 2.

Ovário Tipo 1

Estrutura do ovário e óvulos

O ovário de *Couma macrocarpa* é sincárpico e unilocular e se desenvolve a partir de dois carpelos, que estão parcialmente separados entre si desde o início de seu desenvolvimento (Fig. 1, 3, 4, 5). Duas projeções no interior do ovário constituem os septos, e esses não se fundem em nenhuma porção do ovário (Fig. 3, 4, 5). Cada margem desses septos se desenvolve e forma a placenta (Fig.2) ocorrendo um maior afastamento deles evidenciando assim a compartimentação do ovário. A placentação é do tipo parietal e inúmeros óvulos estão inseridos nesse septo (Fig. 1, 3, 5). Os óvulos possuem um funículo curto e apenas um tegumento (Fig. 2). Esse tegumento possui células maiores que as demais e são repletas de compostos fenólicos. A camada

externa do ovário é constituída por células de paredes periclinais externas espessadas, mesofilo com células parenquimáticas, idioblastos, laticíferos e feixes vasculares (Fig. 1), já a epiderme interna é constituído apenas por uma camada de paredes delgadas (Fig. 2).

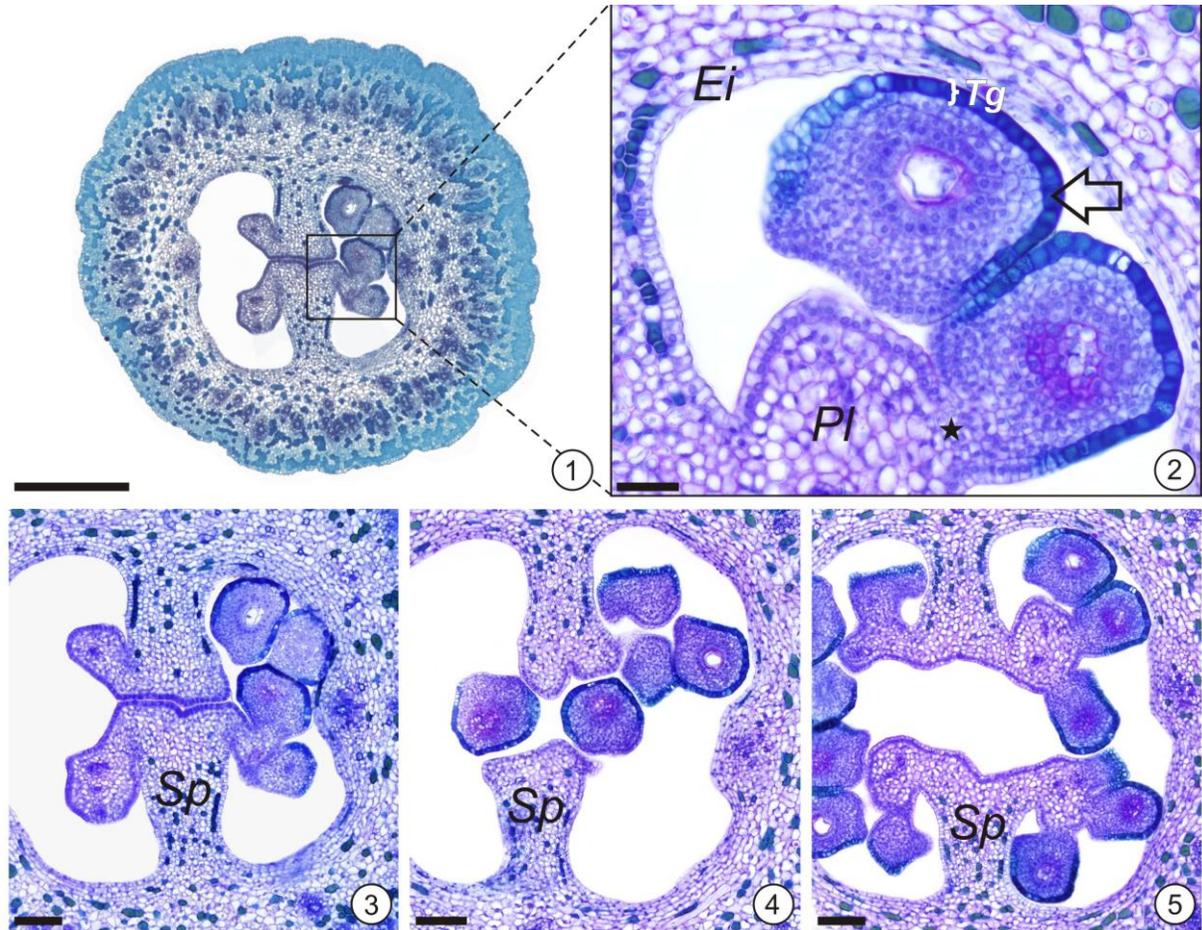


Figura 1-5: Ovário de *Couma rigida*. Secções transversais. 1. Visão geral. 2. Detalhe do óvulo unitégmico com células ricas em compostos fenólicos (seta) e com funículo curto (estrela), epiderme interna uniestratificada. 3 – 5. Estágios sequenciais da separação dos septos, da base ao ápice do ovário. Ei= epiderme interna, Pl= placenta, Sp= septo, Tg= tegumento. **Escala:** 11= 200 µm; 12-15= 50 µm.

Ovário Tipo 2

Estrutura do ovário e óvulos

Nas três espécies, o ovário é sincárpico e unilocular e se desenvolve a partir de dois carpelos (Fig. 10), totalmente unidos na região basal do ovário no início de seu desenvolvimento (Fig. 6, 8) e que se separam posteriormente na porção apical (Fig. 9, 10). Assim, duas projeções no interior do ovário são formadas, os septos (Fig. 8, 9, 10).

Cada margem desses septos se desenvolve e forma a placenta. A placentação é mista, sendo do tipo parietal, porém possui sua origem é de uma placentação axilar, e inúmeros óvulos estão inseridos nesse septo (Fig. 6, 8, 9, 10). Os óvulos possuem um funículo curto e apenas um tegumento. Esse tegumento possui células maiores que as demais e são repletas de compostos fenólicos (Fig. 7). A camada externa do ovário é uniestratificada e constituída por células de paredes periclinais e anticlinais espessadas, mesofilo com células parenquimáticas, idioblastos, laticíferos e feixes vasculares (Fig. 6), já a epiderme interna é constituído apenas por uma camada de paredes delgadas (Fig.7).

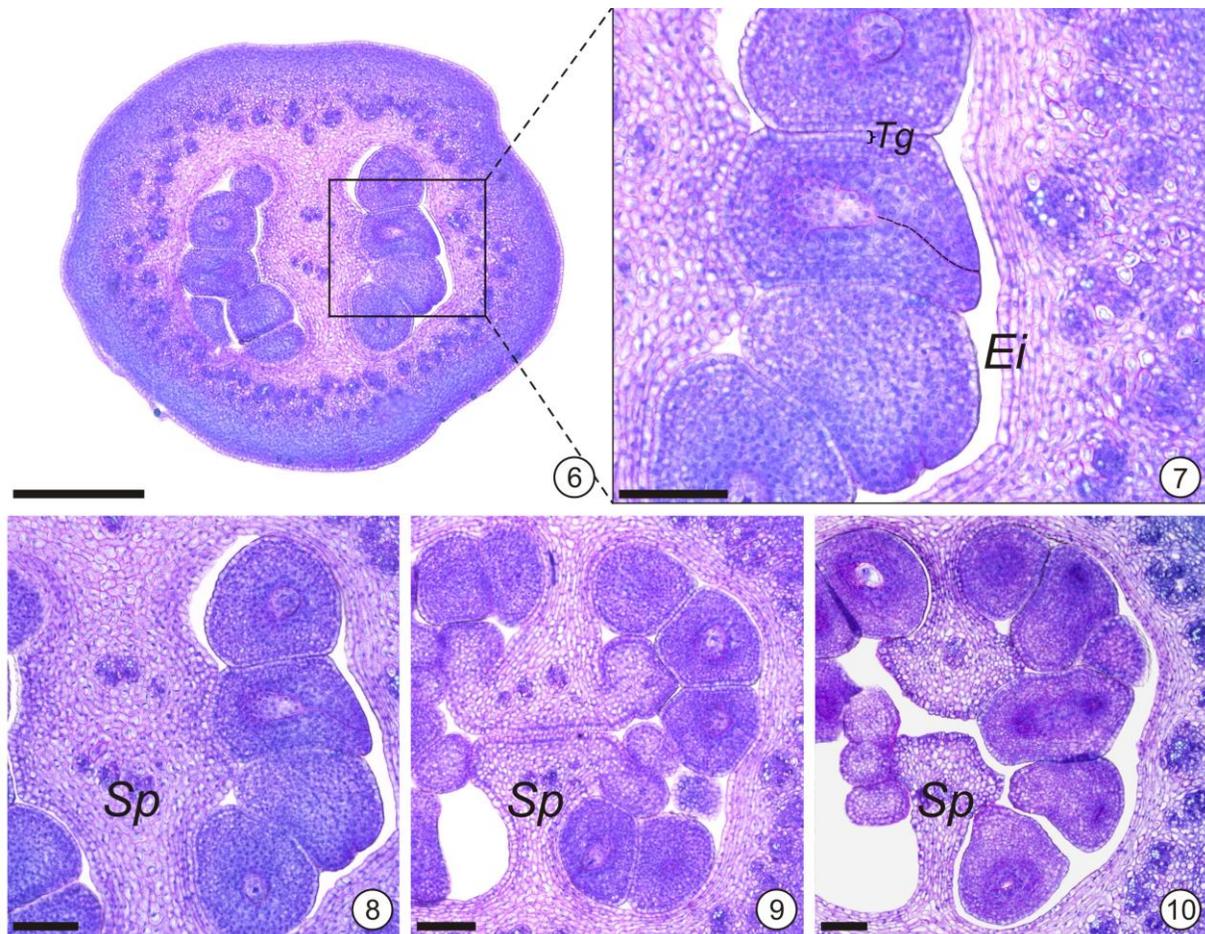


Figura 6-10: Ovario de *Hancornia speciosa*. Seções transversais. **6.** Visão geral. **7.** Óvulo unitégmico com micrópila evidente (linha tracejada) epiderme interna. **8 - 10.** Estágios sequenciais da separação dos septos, da base ao ápice do ovário. *Ei*= epiderme interna, *Sp*= septo; *Te*= tegumento. **Escala:** 6= 200 µm; 7-10= 50 µm

Estrutura da semente de *Couma rigida*

A semente madura é constituída por um envoltório (testa), endosperma e embrião (Fig. 11, 12). A testa é formada pela exotesta, mesotesta e endotesta (Fig. 11). A exotesta é uniestratificada, repleta de saliências e reentrâncias e de compostos fenólicos (Fig. 11). Tanto na região das reentrâncias quanto na região das saliências as paredes periclinais e anticlinais são espessas, deixando pouco espaço entre essas regiões. Não foi possível verificar quantas camadas de células compõem a mesotesta e a endotesta, já que ambas encontram-se colapsadas entre a exotesta e o endosperma da semente (Fig.11). Endosperma possui células desprendidas devido à mobilização de suas reservas pelo embrião (Fig. 12). O endosperma é constituído por células de parede pécticas espessas e citoplasma repleto de gotas de reserva (Fig. 13, 14, 15). Através dos testes histoquímicos, pode-se constatar que essas gotas de reserva presentes no citoplasma são ácidos graxos (Fig.15).

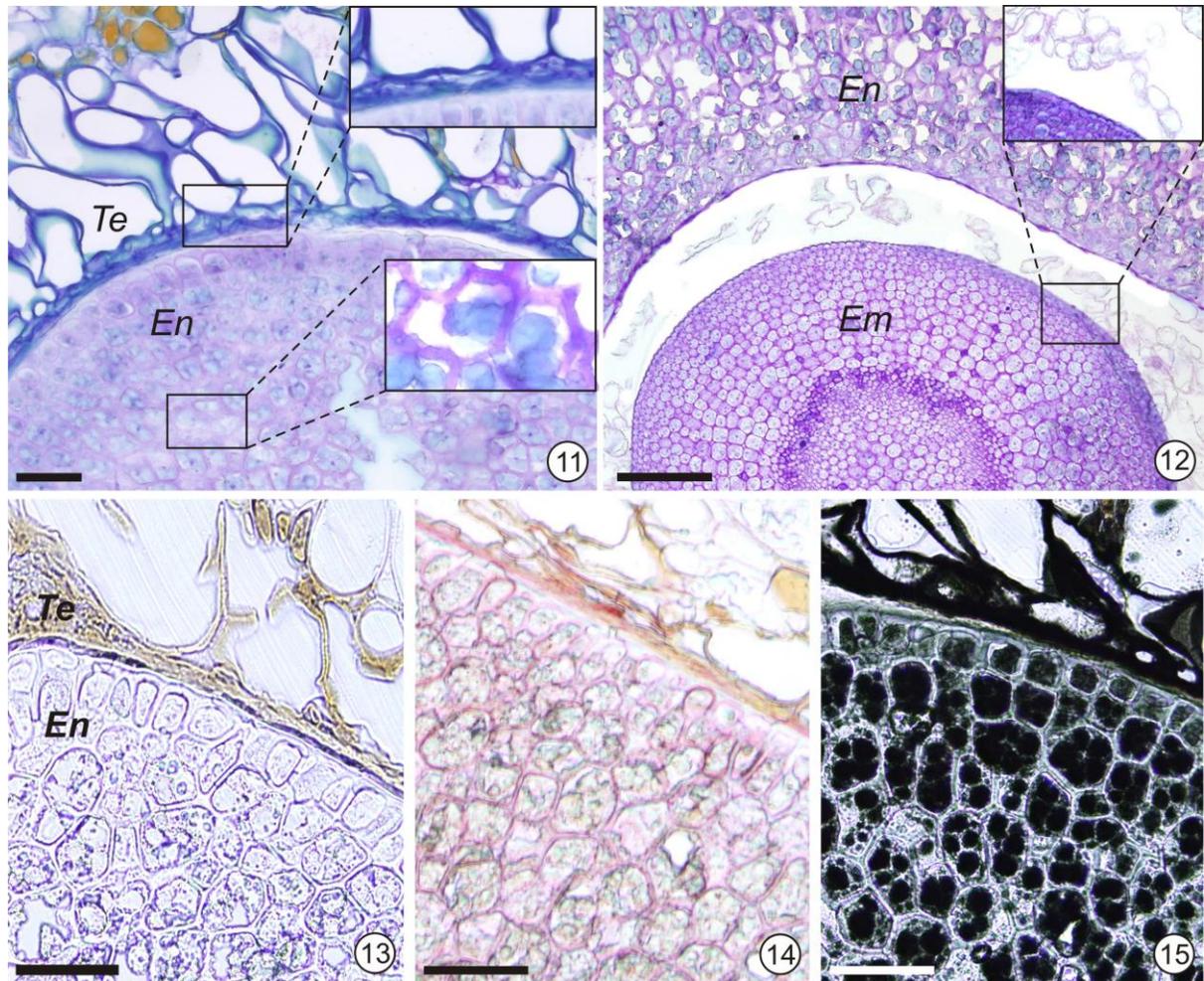


Figura 11-15: Semente madura de *Couma rigida*. Secções transversais. **11.** Testa da semente. Mesotesta e endotesta com células colapsadas (“inset” superior). Endosperma com células de paredes espessadas e ricas em reserva (“inset” inferior). **12.** Endosperma com células desprendidas (“inset”) devido à mobilização de suas reservas pelo embrião. **13.** Teste com Cloreto férrico. Testa com compostos fenólicos. **14.** Teste com Vermelho de Rutênio. Células do endosperma evidenciando as paredes espessadas com pectinas. **15.** Teste de Acetato de cobre/ Ácido rubeânico. Endosperma lipídico com células ricas em ácidos graxos. *Em*= embrião, *En*= endosperma, *Te*= testa. **Escalas:** 11,14,15= 50µm, 12,13= 100µm

Estrutura da semente de *Lacmellea panamensis*

Há duas a três sementes no fruto de *L. panamensis* e essas são maiores em relação às outras espécies estudadas. A semente é envolta pela testa, que é constituída pela exotesta, mesotesta e endotesta (Fig.16). As camadas de mesotesta e endotesta já estão totalmente colapsadas entre as camadas da exotesta e do

endosperma (Fig.16). A exotesta é uniestratificada e formada por uma camada de saliências e reentrâncias repletas de compostos fenólicos (Fig.16,18). Tanto na região das reentrâncias como na região das saliências as paredes periclinais e anticlinais são espessas, deixando pouco espaço entre essas regiões. Endosperma possui células desprendidas devido à mobilização de suas reservas pelo embrião (Fig. 17). O endosperma é constituído por células de paredes delgadas e citoplasma repleto de cristais de proteína (Fig.16, 20), também são encontradas células no endosperma com gotículas de lipídios (Fig. 19).

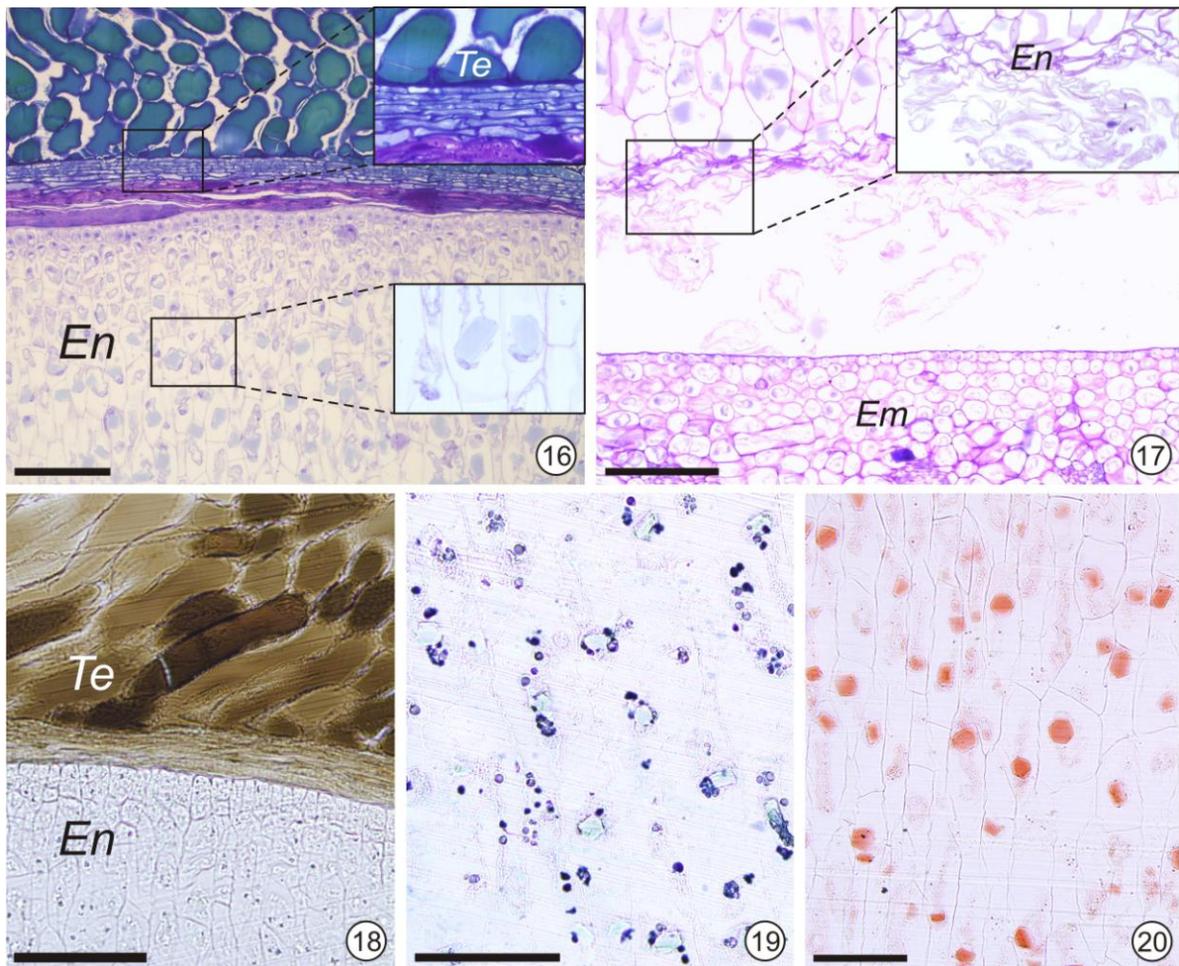


Figura 16-20: Semente madura de *Lacmellea panamensis*. Seções transversais. **16.** Testa da semente. Mesotesta e endotesta com células amassadas (“inset” superior). Endosperma com células de paredes delgadas (“inset” inferior). **17.** Restos de paredes celulares do endosperma (“inset”) devido à mobilização de suas reservas pelo embrião. **18.** Teste com Cloreto férrico. Testa rica em compostos fenólicos. **19.** Teste com Preto de Sudão B. Células do endosperma com gotas lipídicas. **20.** Teste com Xylidina Ponceau. Células do endosperma com cristais de proteína. Em= embrião, En= endosperma, Te= testa. **Escala:** 16,17,18= 100µm, 19, 20= 50µm.

Estrutura da semente

A semente madura é envolta pela testa (Fig. 21). A testa é formada pela exotesta, mestesta e endotesta (Fig. 21). A exotesta é uniestratificada com sua camada repleta de saliências e reentrâncias e de compostos fenólicos (Fig. 21, 23). Tanto na região das reentrâncias quanto na região das saliências as paredes periclinais e anticlinais são espessadas, deixando pouco espaço entre essas regiões. Na região da exotesta também são formados espessamentos em suas paredes. Não foi possível verificar quantas camadas de células compõem a mesotesta e a endotesta já que essas estão colapsadas entre a exotesta e o endosperma da semente, porém pode-se verificar que são poucas o número de camadas (Fig. 21). Endosperma possui células desprendidas devido à mobilização de suas reservas pelo embrião (Fig. 22).

O endosperma é constituído por células de paredes delgadas e citoplasma repleto de grânulos de reserva (Fig. 24, 25). Através dos testes histoquímicos, pode-se constatar que os grânulos de reserva presentes no citoplasma são compostos por ácidos graxos (Fig. 24) e proteínas (Fig. 25).

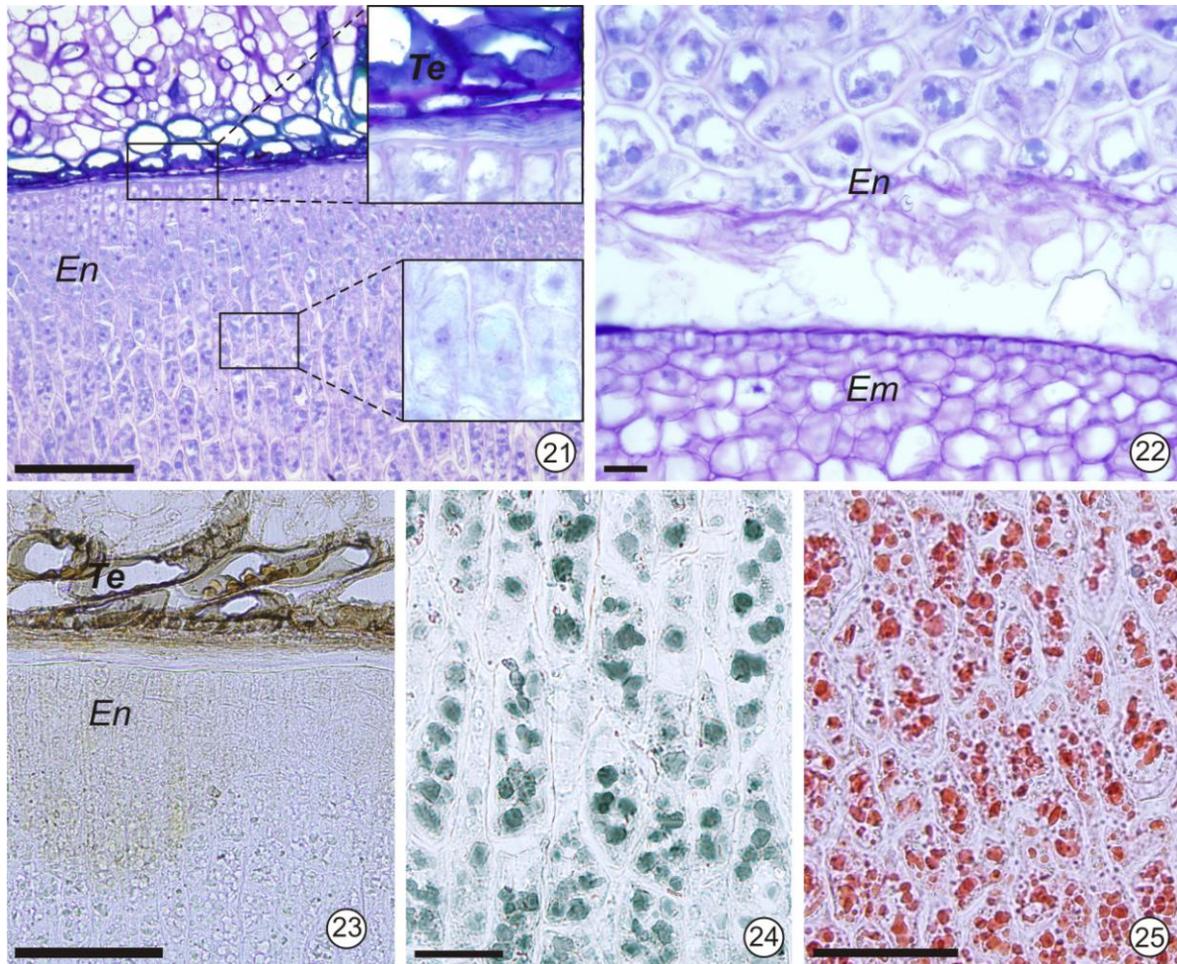


Figura 21-25: Semente madura de *Hancornia speciosa*. Secções transversais. **21.** Testa da semente. Mesotesta e endotesta com células colapsadas (“inset”). Endosperma com células de paredes delgadas (“inset”). **22.** Restos de paredes celulares do endosperma devido à mobilização de suas reservas pelo embrião. **23.** Teste com Cloreto férrico. Testa com compostos fenólicos. **24.** Teste de Acetato de cobre/Ácido rubeânico. Endosperma constituído de células com ácidos graxos. **25.** Teste com Xylidine Ponceau. Células do endosperma com corpos protéicos. *Em*= embrião; *En*= endosperma; *Te*= testa. **Escala:** 21= 100µm, 22,24,25= 20µm, 23= 50µm.

Estrutura da semente de *Parahancornia fasciculata*

A semente madura é envolta pela testa. A testa é formada pela exotesta, mesotesta e endotesta (Fig.26). A exotesta uniestratificada possui sua camada repleta de saliências e reentrâncias, com compostos fenólicos (Fig.26,29) e mucilagem (Fig.26,28). Tanto na região das reentrâncias como na região das saliências as paredes periclinais e anticlinais são espessadas, deixando pouco espaço entre essas regiões. Não se consegue verificar quantas camadas de células compõem a mesotesta e a endotesta já que essas estão colapsadas entre a exotesta e o endosperma da semente,

porém pode-se verificar que é pequeno número de camadas (Fig.26). O endosperma é constituído por células de paredes delgadas e citoplasma repleto de grânulos lipídicos (Fig. 30) e proteicos (Fig. 31).

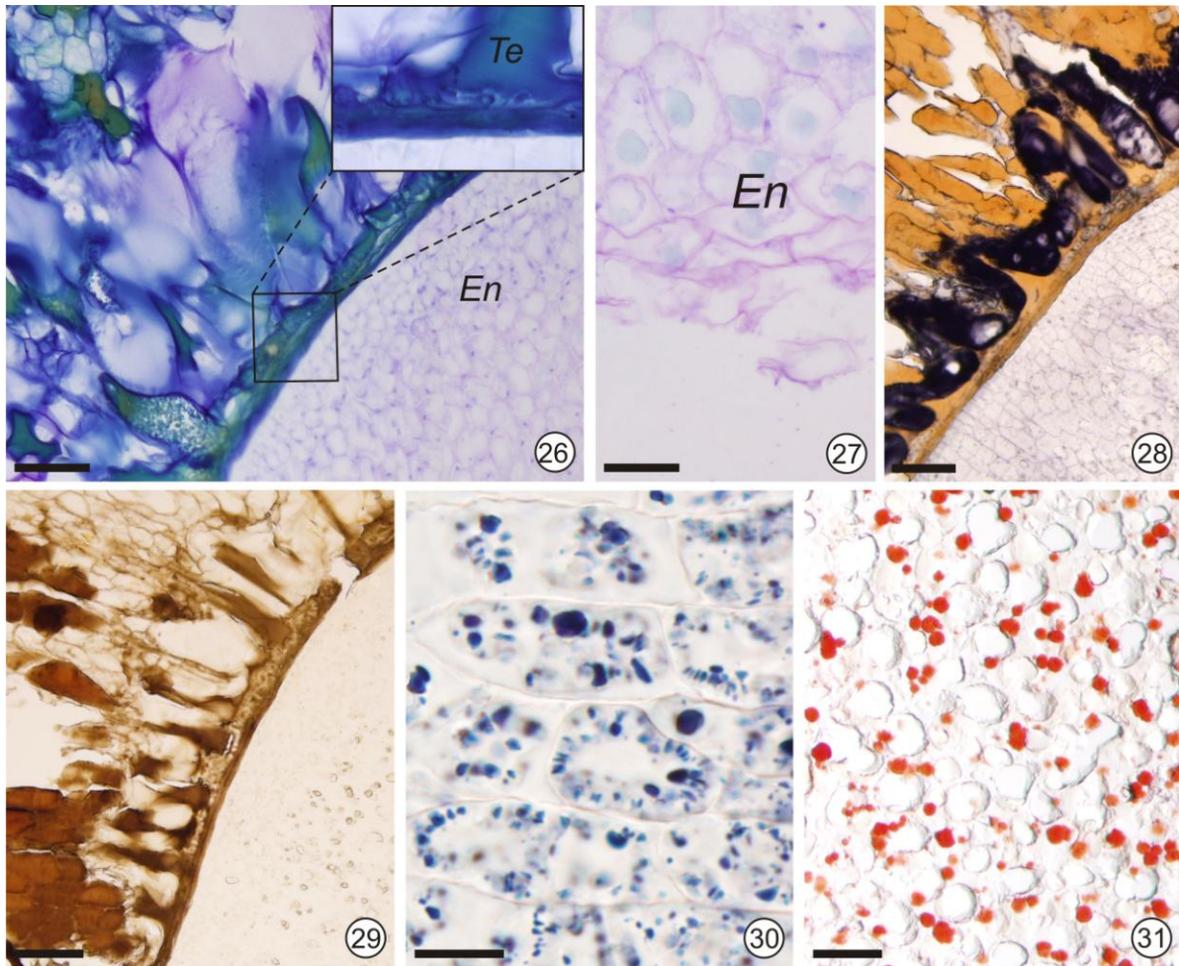


Figura 26-30: Semente madura de *Parahancornia fasciculata*. Secções transversais. **26.** Testa da semente. Mesotesta e endotesta com células colapsadas (“inset”). Notar presença de mucilagem sobre a testa. **27.** Restos de paredes celulares do endosperma devido à mobilização de suas reservas pelo embrião. **28.** Teste com Ácido tânico/Cloreto férrico. Testa com mucilagem. **29.** Teste com Cloreto férrico. Testa com compostos fenólicos. **30.** Teste com Preto de Sudão B. Células do endosperma com gotas lipídicas. **31.** Teste com Xylidine Ponceau. Células do endosperma com corpos protéicos. **Em**= embrião, **En**= endosperma; **Te**= testa. **Escalas:** 26-29,31= 50µm, 30= 10µm.

Tabela 2: Resultados dos testes histoquímicos aplicados em sementes maduras de *Couma rigida*, *Lacmellea panamensis*, *Hancornia speciosa* e *Parahancornia fasciculata*. + = reação positiva, - = reação negativa. Teste com Cloreto Férrico e o teste com Ácido tânico/Cloreto férrico foram positivo apenas para a região da testa e os outros testes revelam os resultados para o endoperma da semente.

Grupo de Compostos	Testes Histoquímicos	<i>Couma rigida</i>	<i>Lacmellea panamensis</i>	<i>Hancornia speciosa</i>	<i>Parahancornia fasciculata</i>
Lipídios totais	Preto de Sudão B	-	+	-	+
Ácidos Graxos	Acetato de cobre/ Ácido rubeânico	+	-	+	-
Mucilagem	Ácido tânico/ Cloreto férrico	-	-	-	-
Pectinas	Vermelho de Rutênio	+	-	+	-
Polissacarídeos totais	Reação PAS	-	-	-	-
Proteínas totais	Xylidine Ponceau	-	+	+	+
Compostos fenólicos totais	Cloreto Férrico	+	+	+	+

DISCUSSÃO

As características encontradas em todas as espécies são: 1) Ovário bicarpelar, 2) Presença de um tegumento, 3) Testa formada por saliências e reentrâncias, 4) Exotesta com compostos fenólicos, 5) Endosperma com compostos lipídicos.

As diferenças entre as quatro espécies está no endosperma, em *Lacmellea.panamensis* as proteínas de reserva estão na forma de cristais, *Couma rigida* é a única espécie que não possui proteína como reserva e na exotesta de *Parahancornia fasciculata*, que além de compostos fenólicos também ocorre a presença de mucilagem. Em relação ao ovário, somente *C. rigida* tem seus septos parcialmente separados desde o início de seu desenvolvimento.

O fruto das espécies estudadas provém apenas do ovário, compõe-se de pericarpo e semente. O pericarpo origina-se de parede do ovário, e a semente tem origem no óvulo (Souza, 2006).

O ovário das quatro espécies se desenvolve a partir de dois carpelos. Em *L. panamensis*, *H. speciosa* e *P. fasciculata* esses carpelos permanecem totalmente unidos na região basal do ovário no início de seu desenvolvimento e depois separam-se

na porção apical. Em *C. rigida* os carpelos estão parcialmente separados desde a região basal já no início do desenvolvimento, formando, dessa maneira, um ovário bicarpelar, dialicarpelar e unilocular desde o início. Uma característica peculiar de Apocynaceae refere-se à predominância de espécies que apresentam os dois carpelos parcialmente livres na região do ovário, mas conatos no estilete, na cabeça do estilete ou na região basal do ovário. Em algumas plantas, os frutos formam-se unidos apenas na base, como em espécies de *Ochrosia* Juss. Várias angiospermas são parcialmente sincárpicas, com o ovário conato na região basal e a região distal do gineceu livre, tais como espécies de Caryocaraceae, Droseraceae, Euphorbiaceae, Malpighiaceae, entre outras (Gomes, 2008).

As sementes maduras das quatro espécies são revestidas por um único envoltório, denominado testa. O envoltório protege o embrião, regulam a absorção de água e oxigênio necessários à germinação e também atuam na dispersão delas (Souza, 2003). Quando uma semente é bitegumentada estão presentes a testa (originada pelo tegumento externo) e o tégmen (originada pelo tegumento interno), já aquelas sementes unitegumentadas, como é o caso das sementes estudadas, considera-se apenas a testa como envoltório. Existem ainda aquelas que são ategumentadas, provenientes de óvulos sem tegumentos, como observados em espécies de Asteridae (Souza, 2006). Segundo Corner (1976), as sementes podem ser classificadas com base na posição e na estrutura da principal camada de tecido mecânico que ocorre nos tegumentos, assim as sementes são classificadas em testais e tégmicas, dependendo de onde ocorre a principal camada de tecido mecânico. As quatro espécies são unitegumentadas e possuem sua camada mecânica na camada mais externa da testa, sendo assim chamadas de sementes exotestais. Esse tipo de semente possui na sua camada mecânica, células de paredes espessadas, podendo ser lignificadas ou não (Corner, 1976).

Sementes exotestais também ocorrem em outras espécies estudadas na família, como *Catharanthus pusillus* (Murr.) G. Don (Khan, 1970), *Holarrhena antidysenterica* Wall. (Lato, 1974), *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr. e *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Aguiar, 2003), *Asclepias curassavica* L. (Souza et al., 2004) e todos os gêneros da família Apocynaceae estudadas por Corner (1976),

como o gêneros *Chilocarpus* Bl., *Lepinia* Decne, *Leuconotis* Jack, *Tabernaemontana* Plum. e *Voacanga* Thou.

A proteção da semente pode ser adquirida por diferentes características e algumas combinações: material impregnado nas paredes da célula, como lignina, cutina e suberina, ou pelo preenchimento, quase total, do lúme celular com fenólicos, endurecimento das camadas celulares, espessamento das paredes, protuberâncias e cristais (Werker, 1977). As sementes aqui descritas possuem na sua camada de proteção paredes espessas, compostos fenólicos no interior das células e protuberâncias. Este composto está relacionado com a defesa das plantas contra predadores e no aumento da rigidez e resistência contra a biodegradação. Outras espécies da família, como *Holarrhena antydisenterica* Wall (Lato, 1974) e *T. catharinensis* (Aguiar, 2003) também possuem estas substâncias na testa de suas sementes. Em *P. fasciculata*, além dos compostos fenólicos na exotesta, também está presente mucilagem. Essa mucilagem pode aumentar o grau de germinação, mantendo uma concentração suficiente de água ao redor da semente num ambiente com alternância de condições na temperatura (Souza, 2006).

Na semente madura, pode permanecer ao redor do embrião um tecido de reserva chamado endosperma, neste caso a semente é chamada de albuminosa, outras sementes, entretanto, podem ser desprovidas de endosperma na maturidade, sendo, neste caso, chamadas de exalbuminosas (Souza, 2003). Muitas sementes da família são albuminosas como, *Allamanda blanchetii* A. DC., *Malouetia arborea* (Vell.) Miers, *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry e *Tabernaemontana arborea* Rose (Aguiar, 2009). As quatro espécies estudadas são albuminosas. Esse endosperma funciona como um tecido intermediário, pois absorve nutrientes de outros tecidos, como envoltório e nucelo, e os acumula no interior de suas células com função de repassar essa reserva para o embrião (Werker, 1977).

O endosperma, assim como outros tecidos de reserva da semente, inclui mais de um tipo de material de reserva, podendo estar dentro das células ou em suas paredes. Os principais materiais de reserva em sementes maduras são proteínas, usualmente na forma de corpos proteicos, substâncias lipofílicas como corpos lipídicos (oleossomos, esferossomos), e carboidratos na forma de grânulos, usualmente de

amido, ou como constituinte de paredes celulares espessadas (Werker, 1997). Todas as espécies estudadas apresentam substâncias de reserva no endosperma. Em sementes as reservas proteicas aparecem de duas formas: como discretos corpos proteicos ou grãos de aleurona (Werker, 1997). *H. speciosa* e *L. panamensis* apresentam proteína como reserva, a primeira como corpos proteicos e a outra como cristais. São encontradas proteínas como matéria de reserva em outras espécies da família, como em *Prestonia riedelii*, *Tabernaemontana catharinensis*, *T. arborea*, *Allamanda blanchetii*, *Malouetia arborea*, *Mandevilla pohliana* (Aguiar, 2003, 2009).

Todas as espécies possuem reserva lipídica na forma de pequenas gotas. A reserva lipofílica pode aparecer como gotas de óleo (esferossomos). Outras espécies da família também apresentam reserva lipídicas em seu endosperma, como *Tabernaemontana arborea* e *T. catharinensis* (Aguiar, 2009).

Os carboidratos podem estar presentes no endosperma, perisperma e cotilédones (Werker 1997). Dentre as espécies estudadas, *L. panamensis*, *H. speciosa* e *P. fasciculata* possuem endosperma com células de paredes delgadas; já em *C. rigida* as células do endosperma possuem parede espessa, com acúmulo de carboidratos de reserva. Desta forma, além de corpos lipídicos, a parede celular do endosperma desta espécie também atua na reserva de substâncias para a germinação. Em outras espécies da família também ocorre esse tipo de reserva nas paredes, como em *Allamanda blanchetii*, *Mandevilla pohliana* e *Tabernaemontana arborea* (Aguiar, 2009).

CONCLUSÃO

As sementes estudadas neste trabalho são anatomicamente parecidas, possuindo apenas um envoltório com compostos fenólicos e camada mecânica localizada na exotesta, embrião e endosperma. No entanto, estas sementes apresentam características distintas, como a presença de cristais de proteína em *Lacmellea panamensis*, mucilagem na exotesta de *Parahancornia fasciculata*. A partir dessas análises anatômicas, podemos concluir que as quatro espécies dividem características em comum podendo incluí-las dentro da mesma tribo. Mas cada uma apresenta também características exclusivas, podendo essas ser sinapomórficas dentro de cada gênero. Desta forma, este trabalho está demonstrando a importância da

utilização de caracteres anatômicos de sementes para distinção das espécies e também fornecendo dados que possam ser utilizados em futuras análises filogenéticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, S. 2003. Morfologia e ontogenia de frutos e sementes de espécies de Apocynaceae do cerrado do estado de São Paulo. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Aguiar, S. 2009. Morfoanatomia de frutos e sementes de Apocynaceae. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Aguiar, S.; Carmello-Guerreiro, S.M. & Kinoshita L.S. 2009. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll.Arg.) Markgr. (Apocynaceae). Acta Botanica Brasilica 23: 729-737.

Corner, E. J. The seeds of dicotyledons. Cambridge, Cambridge University Press.

Cortelazzo, A.L. & Vidal, B.C. 1991. Soybean seed proteins: detection in situ and mobilization during germination. Revista Brasileira de Botânica 14: 27 – 34.

Endress, M.E. & Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.1. The Botanical Review 66(1): 1 – 56.

Endress, M.E. 2004. Apocynaceae: Brown and now. Telopea 10: 525–541.

Endress, M.E.; Liede-Schumann, S. & Meve, U. 2007. Advances in Apocynaceae: the enlightenment, an introduction. Annals of the Missouri Botanical Garden 94(2): 260 – 267.

Esau, K. 1965. Plant Anatomy. 2nd. ed. John Wiley and Sons, New York, USA.

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.

Gomes, S.M. 2008. Morfo-anatomia de frutos em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. Acta Botanica Brasilica 22: 521-534.

Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.

Khan, P.S.H. 1970. Structure and development of seed coat and fruit wall in *Catharanthus pusillus* G. Don. Proceedings of the National Academy of Science 40(B): 22-25.

Marcondes-Ferreira, W. 2005. Aspidosperma Mart. Pp. 39 – 47. In: M.G.L. Wanderley; G.J. Shepherd; T.S. Melhem & A.M. Giulietti (orgs.). Flora fanerogâmica do estado de São Paulo. vol. 4. São Paulo, FAPESP/HUCITEC.

Pearse, A.G.E. 1980. Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology. 4ed. Edinburgh. Churchill Livingston.

Pearson, N.L. 1948. Observations on seed end seed hair growth in *Asclepias syriaca* L. American Journal of Botany 35:27-36.

Pizzolato TD & Lillie RD. 1973. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. J. Histochem. Cytochem. 21: 56-64.

Sennblad, B & Bremer, B. 2002. Classification of Apocynaceae s.l. According to a New Approach Combining Linnaean and Phylogenetic Taxonomy. Systematic Biology 51: 389-409.

Simões. A.O., Endress, M.E. & Conti, E. 2010. Systematics and character evolution of Tabernaemontaneae based on molecular and morphological evidence. Taxon 59: 772-790.

Souza, L, A. 2003. Morfologia e Anatomia vegetal: células, tecidos, órgãos e plântulas. Ed. UEPG, 72-79.

Souza, L.A.; Iwazaki, M.C. & Oliveira, R.C. 2004. Morfologia do fruto e da semente em desenvolvimento de *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae). Insula 33: 39-49.

Souza, L, A. 2006. Anatomia do fruto e da semente. Ed. UEPG.

Werker. E. 1997. Seed Anatomy. Ed. Spezieller Teil.

Capítulo 3

Ontogenia do pericarpo dos frutos de *Hancornia speciosa* Gomes e *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist (Apocynaceae)

INTRODUÇÃO

Apocynaceae pertence a ordem Gentianales e possui sua distribuição principalmente em zonas tropicais e subtropicais, com poucos representantes em zonas temperadas (Judd *et al.*, 1999; Sennblad *et al.*, 2002.). É uma das maiores famílias de angiospemas, com 375 gêneros e mais de 5.000 espécies (Endress, 2004; Endress *et al.*, 2007). Todos os representantes da família são latescentes e produzem vários alcaloides e cardenólídeos, dos quais alguns possuem propriedades medicinais. O exemplo mais conhecido é *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (pervinca-rosa), que contém vimblastina e vincristina, que são compostos usados em todo o mundo para o tratamento de leucemia infantil. A família também possui muitas plantas ornamentais bem conhecidas, tais como *Allamanda cathartica* L. (dedal-de-rainha), *Nerium oleander* L. (espirradeira) e *Hoya carnososa* (L. F.) R. Br. (flor de cera) (Judd *et al.*, 1999; Sennblad *et al.*, 2002).

A família Apocynaceae apresenta uma variedade de tipos morfológicos de frutos, como em Rauvolfioideae. Nesta subfamília, os frutos são bacáceos na maioria dos representantes das tribos Willughbeieae, Carisseae, Hunterieae, Plumerieae e Melodineae e em alguns representantes de Tabernaemontaneae; drupáceos em espécies de Vinceae e Alyxieae; capsulares em *Allamanda* L. (Sakane & Shepherd, 1986) e *Plectaneia* Thou. (Endress & Bryuns, 2000); samaróides em alguns representantes de Plumerieae; foliculares carnosos em diversos gêneros de Tabernaemontaneae; ou foliculares secos, como os presentes em espécies de Aspidospermeae, Alstonieae, Vinceae, Plumerieae e nas demais subfamílias (Aguilar, 2003, 2009; Endress & Bruyns, 2000; Endress *et al.*, 2009; Simões *et al.*, 2007).

Os gêneros *Hancornia* Gomes e *Parahancornia* Ducke, segundo a última classificação para a família, estão incluídos na subfamília Rauvolfioideae e dentro da tribo Willughbeieae, o gênero *Hancornia* possui somente uma espécie com sua distribuição no bioma de cerrado e os de *Parahancornia* possui sete, com sua

distribuição no bioma amazônico. Ambos os gêneros possuem frutos bacáceos advindos de gineceu sincárpico (Endress & Bruyns, 2000). Ainda não foram realizados estudos que tratem da anatomia do fruto desses dois gêneros.

Alguns trabalhos demonstram a grande importância de estudos ontogenéticos para a correta classificação dos frutos e das camadas que compõem o pericarpo (Cortez & Carmello-Guerreiro, 2008; Aguiar *et al.*, 2009). Assim, um estudo ontogenético dos frutos de *H. speciosa* e *P. fasciculata* é de fundamental importância para contribuir com as informações estruturais para identificação das espécies, classificação dos frutos e investigações ecológicas.

OBJETIVO

Caracterizar, através de estudos ontogenéticos, as camadas do pericarpo e caracterizar morfológicamente os frutos de *Hancornia speciosa* Gomes e *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist, além de levantar dados anatômicos que possam ser utilizados na distinção das espécies.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram utilizados botões florais, flores e frutos, em vários estádios de desenvolvimento. As amostras para estudos anatômicos foram obtidas a partir da coleção existente no Departamento de Biologia Vegetal da Unicamp. Os frutos de *Hancornia speciosa* Gomes foram coletados no Parque Nacional da Serra do Cipó, no município Cardeal Mota, MG, Brasil, e os de *Parahancornia fasciculata* (Poir.) Benoist no município de Muaná (PA). Todas as amostras foram identificadas em laboratório pelo Dr. André Simões. As exsiccatas destes espécimes foram incorporadas nos herbários INBIO, INPA e UEC e os números do coletor estão descritos abaixo:

Hancornia speciosa: L.S. Kinoshita et al. 03/214 (UEC)

Parahancornia fasciculata: S.S. Viana et al. 38 (MG)

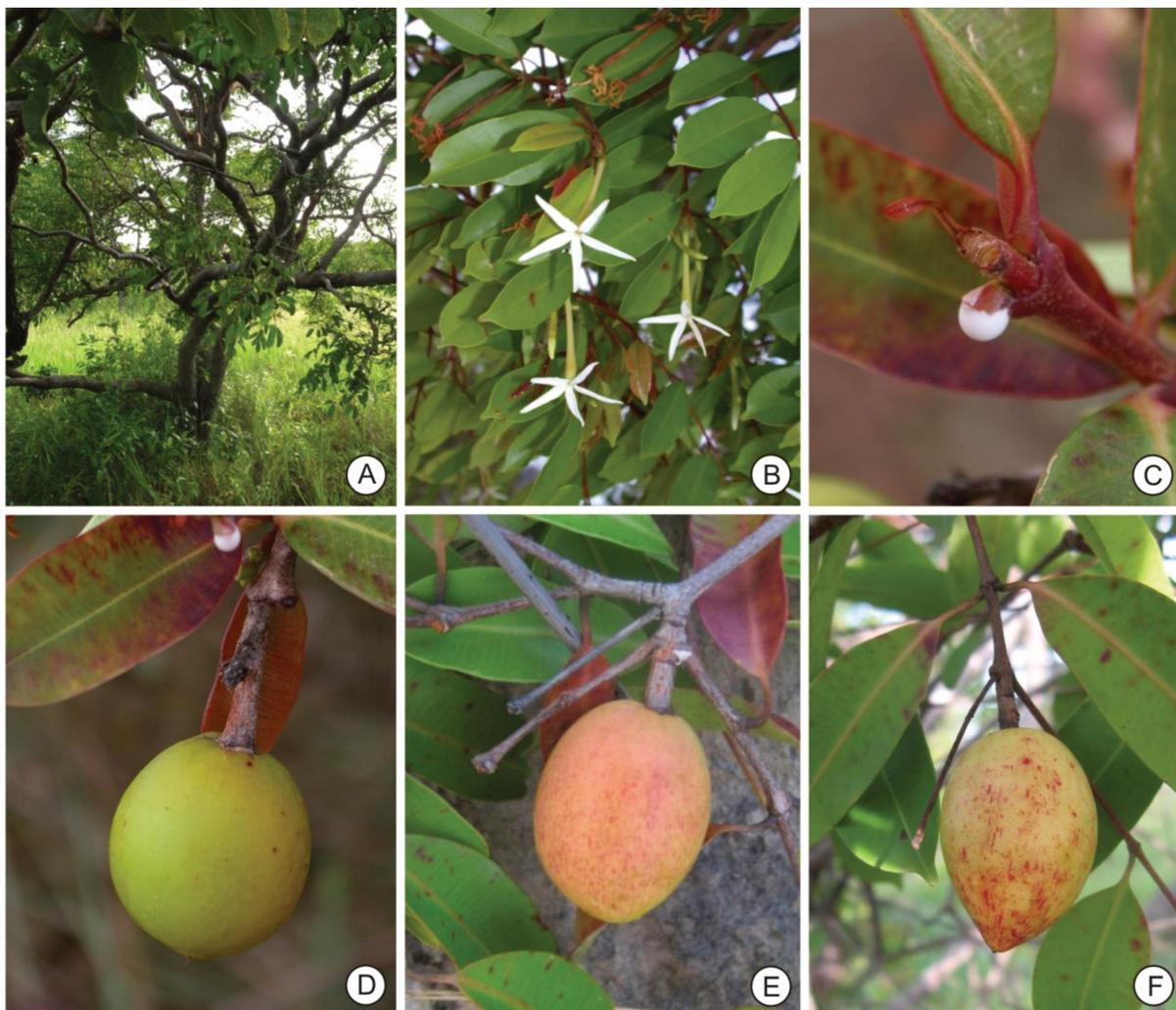


Figura: Fotos de *Hancornia speciosa*. A. Árvore. B. Flor. C. Látex. D. Fruto jovem. E-F. Frutos maduros. Fotos A-E foram feitas por J.F, Morales e foto F por A.O, Simões.

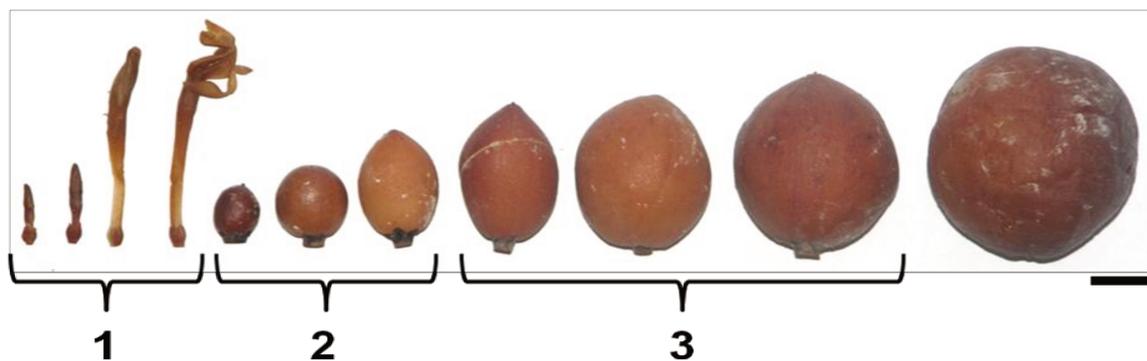


Figura: Ovários e frutos de *Hancornia speciosa* em diferentes fases de desenvolvimento e a maneira que eles foram separados para a descrição dos resultados. 1= Ovário, 2= Frutos jovens, 3= Fruto maduro. **Escala** = 1 cm



Figura: Fotos de *Parahancornia fasciculata*. A. Árvore. B. Fruto jovem. C. Fruto maduro. D. Fruto maduro aberto. Fotos feitas por A.O, Simões.



Figura: Ovários e frutos de *Parahancornia fasciculata* em diferentes fases de desenvolvimento e a maneira que eles foram separados para a descrição dos resultados. 1= Ovário, 2= Frutos imaturos, 3= Frutos jovens, 4= Frutos maduros. **Escala** = 1 cm

Microscopia de luz

Frutos maduros das quatro espécies foram fixados em FAA50 (formaldeído, ácido acético glacial, etanol 50%, 1:1:18 (v/v)) (Johansen, 1940) por um período mínimo de 24 horas, colocados em bomba de vácuo para auxiliar na penetração do fixador, e estocados em álcool etílico 70%. A região mediana de frutos maduros foi incluída em resina plástica (Historesin® Leica) seguindo o método proposto por Gerrits & Smid (1983) e as recomendações do fabricante. Após a inclusão, os materiais foram montados em blocos de madeira e seccionados, transversal e longitudinalmente, a uma espessura entre 8-10 micrômetros em micrótomo rotativo manual com navalha de aço. Os cortes foram aderidos em lâminas de vidro e corados com azul de toluidina (C.I. 52040) a 0,05% em tampão acetato, pH 4,7 (Sakai, 1973) por cinco minutos. As lâminas foram montadas temporariamente em água e examinadas em microscópio de luz. Os cortes foram fotografados em microscópio de luz Olympus BX 51 com câmera digital 59 acoplada modelo DP71, utilizando o programa Olympus DP Controller.

RESULTADOS

Hancornia speciosa Gomes

Hancornia speciosa possui um fruto do tipo baga, originado a partir de um ovário súpero, de flores com gineceu sincárpico bicarpelar. O ovário dessa espécie se desenvolve a partir de dois carpelos totalmente unidos em sua região basal (Fig. 1) no início de seu desenvolvimento, separando-se posteriormente na porção apical (Fig. 2, 3, 4). Assim, duas projeções no interior do ovário são formadas, os septos. Cada margem desses septos se desenvolve e forma a placenta ocorrendo um maior afastamento deles evidenciando assim a formação de um único lóculo (Fig. 4). A placentação é do tipo parietal, possuindo sua origem de uma placentação axilar e inúmeros óvulos estão inseridos nesse septo. Os óvulos possuem um funículo curto e apenas um tegumento.

Anatomia

Parede do ovário

A parede do ovário é constituída por epiderme externa uniestratificada (Fig. 5), pelo mesofilo ovariano (Fig. 5, 6) e por epiderme interna também uniestratificada (Fig. 6).

A epiderme externa é formada por citoplasma com um grande vacúolo, núcleo esférico de posição basal e alguns idioblastos (Fig. 4, 5). A epiderme interna é bem semelhante à externa, sendo ela provida de células de citoplasma com vacúolo grande e núcleo bem evidente na porção basal. Todavia, as células dessa camada possuem um formato mais tabular em comparação com as células da epiderme externa (Fig. 6).

O mesofilo ovariano é formado por cerca de 25 camadas de células parenquimáticas em meio às quais são encontrados laticíferos, idioblastos com compostos fenólicos e feixes vasculares (Fig. 5, 6). Os laticíferos são cilíndricos e alongados, com paredes pecto-celulósicas um pouco mais espessas que as células parenquimáticas do restante do mesofilo (Fig. 5, 6). O sistema vascular apresenta inúmeros feixes vasculares pouco diferenciados que se concentram na região mediana do tecido fundamental (Fig. 6). Os idioblastos estão dispostos apenas nas primeiras camadas do mesofilo e em pequenas quantidades (Fig. 4).

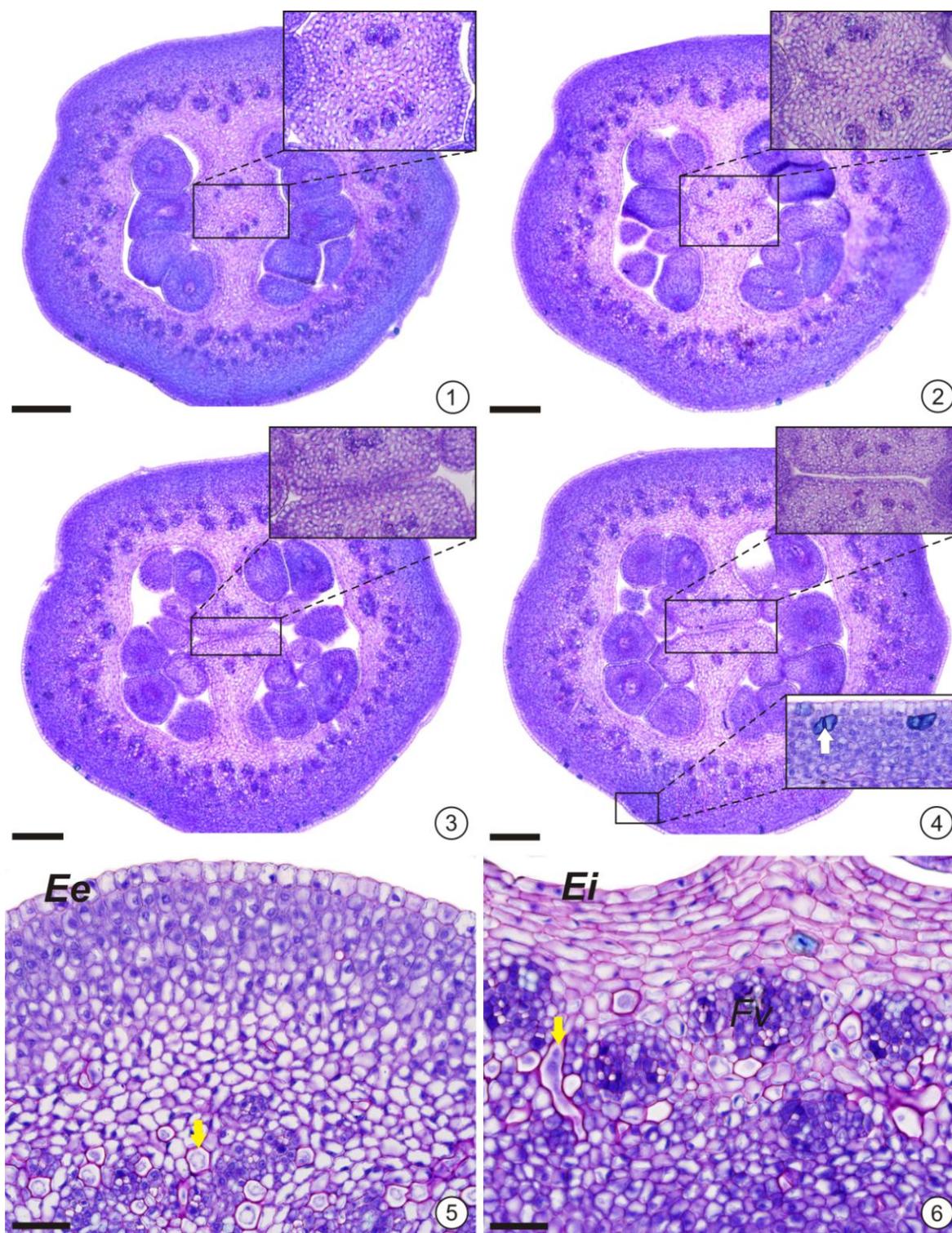


Figura1-6: Secções transversais do ovário de *Hancornia speciosa*. **1-4.** Secções do ovário, da base até o ápice. Em detalhe a região onde ocorre a divisão dos septos (inset). **4.** Detalhe dos idioblastos na epiderme externa ("inset" inferior) e no mesofilo ("inset" superior). **5.** Epiderme externa e mesofilo com laticíferos (seta amarela). **6.** Epiderme interna e mesofilo com laticíferos (seta amarela) e feixes vasculares. *Ee* = epiderme externa, *Ei* = epiderme interna, *Fv* = feixe vascular. **Escala:** 1-4 = 100 μ m; 5-6 = 20 μ m.

Pericarpo

A partir das alterações que ocorrem durante a maturação do fruto, como desenvolvimento da cutícula, mudanças na disposição e quantidade de idioblastos no mesocarpo, e no número de camadas, foram utilizados dois estádios de desenvolvimento para descrever o pericarpo: estágio I – Fruto jovem, estágio II – fruto maduro.

Estádio I: O exocarpo é derivado exclusivamente da epiderme externa do ovário, sendo constituído por uma camada de células de paredes pecto-celulósicas periclinais internas e externas espessadas, com núcleos proeminentes e basais, recobertos por uma cutícula delgada e estômatos (Fig. 8).

Parênquima, feixes vasculares, laticíferos e idioblastos em diferenciação são encontrados no mesocarpo que se desenvolveu a partir do mesofilo ovariano (Fig. 7, 9). Durante o desenvolvimento, as células do mesocarpo realizam muitas divisões celulares no sentido de aumentar a espessura do pericarpo. Nesse estágio ainda podemos observar os locais onde ocorre a união dos prolongamentos das placentas (Fig. 10).

O tecido vascular, que antes se localizava apenas na região mediana do fruto, agora está disperso por todo o mesocarpo (Fig. 7, 9). Apesar de possuírem elementos de condução em diferentes estádios de desenvolvimento, os feixes vasculares são facilmente distinguidos no mesocarpo.

Os laticíferos possuem formato cilíndrico e alongado e estão espalhados entre as células parenquimáticas por todo o mesocarpo do fruto. Eles podem ser facilmente reconhecidos pela sua parede pecto-celulósica espessada em relação às outras células parenquimáticas do mesocarpo. Os idioblastos com compostos fenólicos estão distribuídos por todo mesocarpo do fruto e em grandes quantidades, principalmente na região próxima ao exocarpo (Fig. 7, 8, 9).

O endocarpo é constituído por apenas uma camada de células de paredes pecto-celulósicas delgadas (Fig. 10), derivada, exclusivamente, da epiderme interna do ovário.

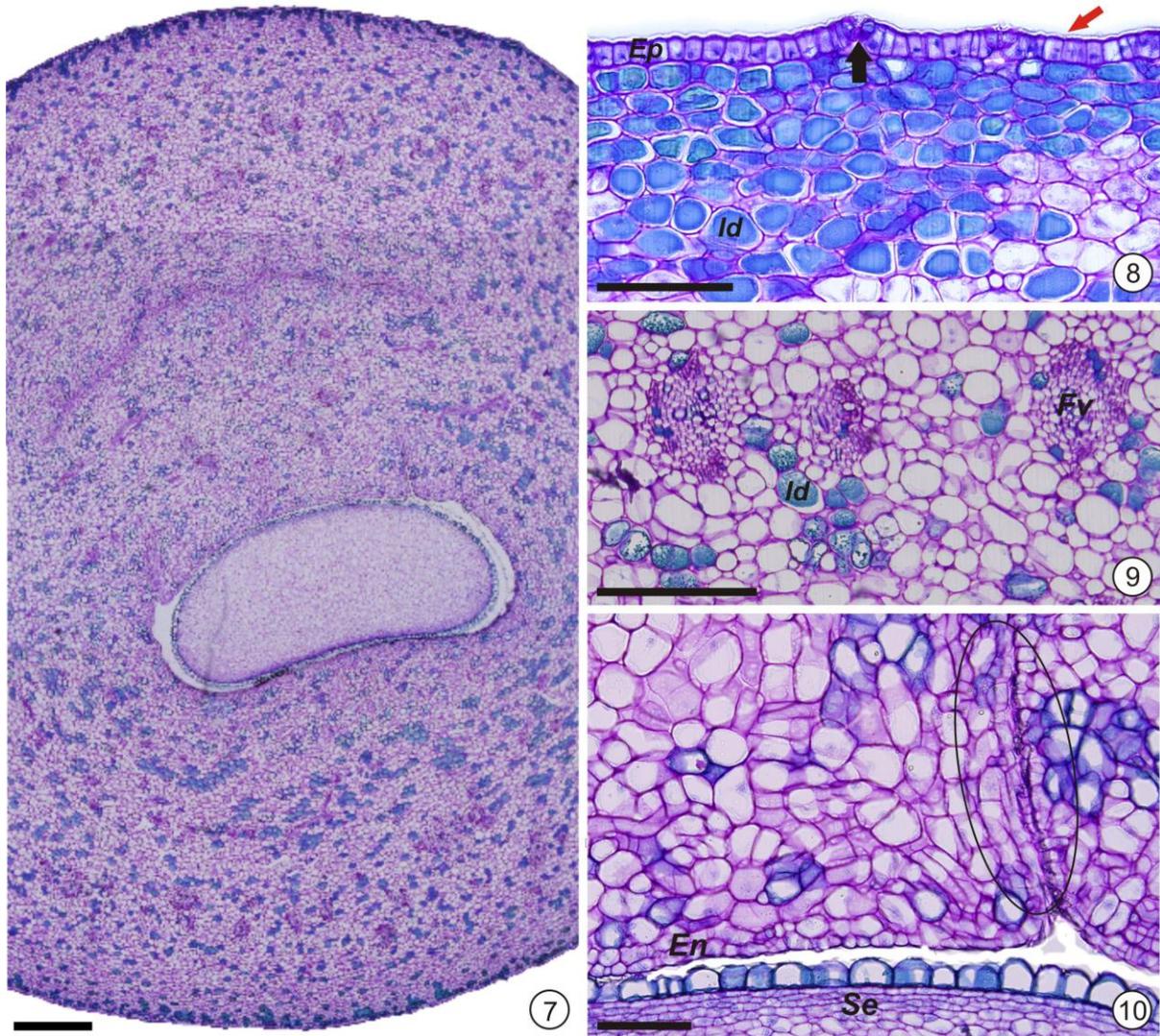


Figura 7-10: Secções transversais (7-9) e longitudinais (10) do fruto jovem de *H. speciosa*. **7.** Vista geral do pericarpo. **8.** Exocarpo com estômato (seta preta), cutícula (seta vermelha) e idioblastos com compostos fenólicos no mesocarpo. **9.** Mesocarpo com feixes vasculares e idioblastos com compostos fenólicos. **10.** Região onde ocorre união das placentas (círculo) e endocarpo. *En*= endocarpo; *Ex*= exocarpo; *Fv*= feixe vascular; *Id* = idioblastos; *Se*= semente. **Escala:** 7= 200µm; 8= 50µm; 9-10= 100µm.

Estádio II: As principais mudanças que ocorrem nessa fase no pericarpo do fruto são o aumento no número de camadas, por divisões anticlinais e periclinais (Fig. 11), aumento no espessamento da cutícula (Fig. 12) e diminuição na quantidade de idioblastos (Fig. 11).

O exocarpo ainda é constituído por uma camada de células epidérmicas de paredes pecto-celulósicas periclinais espessadas, sendo recobertas por uma cutícula que se torna mais espessa. Estômatos ainda podem ser encontrados no exocarpo, porém são menos frequentes (Fig. 12).

O mesocarpo aumentou o número de camadas, indicando que houve muitas divisões celulares entre os estádios I e II. A mudança mais expressiva neste estágio é a diminuição do número de idioblastos e a sua disposição apenas nas primeiras camadas do mesocarpo (cinco-sete camadas) (Fig. 11).

Neste estágio, as primeiras células parenquimáticas do mesocarpo possuem paredes pecto-celulósicas mais espessadas e justapostas quando comparadas com o estágio anterior e também é nessa região que estão dispersos os idioblastos (Fig. 11, 12).

Os feixes vasculares, agora estão totalmente diferenciados e distribuem-se, assim como no estágio anterior, por todo o mesocarpo do fruto (Fig. 11, 13).

Os laticíferos tornam-se mais evidentes no mesocarpo, devido ao aumento da espessura da parede, além de possuírem um formato mais alongado que o restante das células (Fig. 13). Pode-se notar que os laticíferos mais próximos ao exocarpo são menos calibrosos que os localizados na região mediana do mesocarpo ou próximos ao endocarpo.

No fruto maduro não conseguimos mais observar os locais onde ocorre a união dos prolongamentos das placentas, assim as células do mesocarpo e da placenta se tornam indistinguíveis. Desta forma, é possível concluir que a parte comestível do fruto é formada tanto por células do mesocarpo como por células da placenta.

O endocarpo é formado por apenas uma camada de células de paredes pecto-celulósicas delgadas, porém nesse estágio de desenvolvimento as células que formam a testa da semente penetram entre células do endocarpo, sendo difícil de diferenciar onde está o endocarpo e onde está a testa da semente (Fig. 14).

Nesse estágio o fruto já está totalmente diferenciado, porém não totalmente maduro. Não foi possível analisar a anatomia dos frutos totalmente maduros, já que este fica com aspecto de decomposição e suas células encontram-se, em sua maioria, colapsadas.

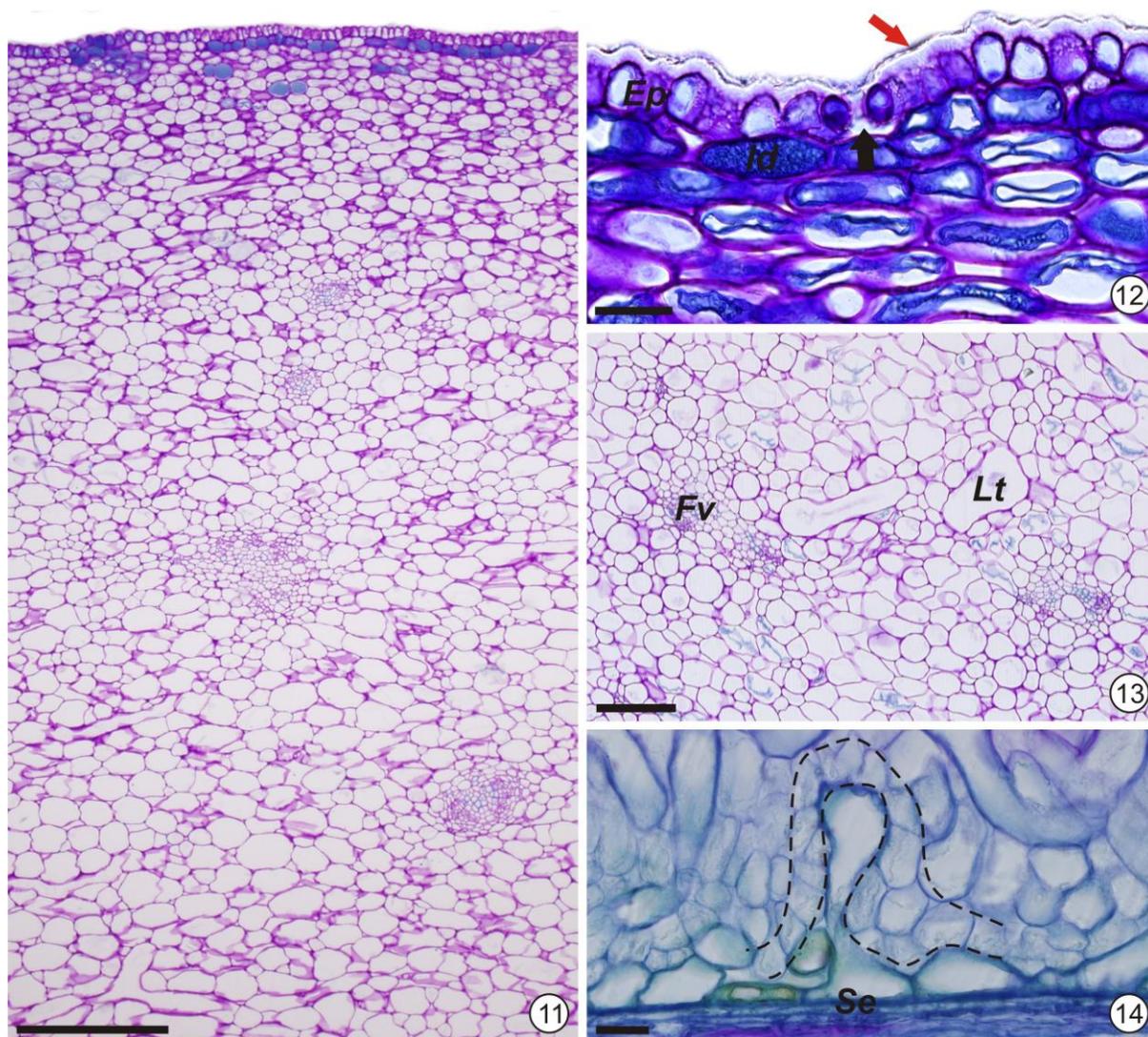


Figura: 11-14: Secções transversais do fruto maduro de *Hancornia speciosa*. **11.** Vista geral do pericarpo. **12.** Exocarpo com estômato (seta preta) e cutícula (seta vermelha) e mesocarpo com idioblastos. **13.** Mesocarpo com feixes vasculares e laticíferos. **14.** Endocarpo (pontilhado). *Ex*= exocarpo; *Fv*= feixe vascular; *Id*= idioblastos; *Lt*= laticíferos; *Se*= semente. **Escala:** 11= 200µm; 12-14= 20µm; 13= 100µm.

Parahancornia fasciculata (Poir.) Benoist

O fruto de *Parahancornia fasciculata* é do tipo baga, originado a partir de flores com ovário súpero, sincárpico e unilocular. Esse ovário se desenvolve a partir de dois carpelos totalmente unidos na sua região basal no início de seu desenvolvimento (Fig. 18), separando-se depois na porção apical (Fig. 15, 19). Assim, duas projeções no interior do ovário são formadas, os septos (Fig. 18, 19). Cada margem desses septos se desenvolve e forma a placenta. A placentação é do tipo parietal, tendo sua origem de um a placentação axilar e inúmeros óvulos estão inseridos nesse septo (Fig. 15, 17, 18, 19). Os óvulos possuem um funículo curto e apenas um tegumento. Esse tegumento possui células maiores que as demais, com compostos fenólicos (Fig. 19).

Anatomia

Parede do ovário

A epiderme externa do ovário é uniestratificada, com células quadrangulares, núcleos basais e tricomas na sua região apical (Fig. 17).

O mesofilo ovariano é formado por parênquima, feixes vasculares, laticíferos e idioblastos com compostos fenólicos, dispostos em 20 a 25 camadas (Fig. 15). As células parenquimáticas, da metade externa do ovário, apresentam paredes pecto-celulósicas espessas, núcleos evidentes e citoplasma denso (Fig. 15, 17). Já a metade interna do ovário apresenta células parenquimáticas de paredes delgadas, idioblastos secretores, feixes vasculares e laticíferos (Fig. 15, 17). Os laticíferos são estruturas encontradas no tecido fundamental, apresentam parede pecto-celulósica levemente espessada e formato cilíndrico, porém nesse estágio é difícil de diferenciá-los das outras células do mesofilo. O sistema vascular é formado por feixes vasculares pouco diferenciados e todos se localizam da região mediana do ovário (Fig. 15).

A epiderme interna do ovário é uniestratificada de células com paredes delgadas e formato tabular. As células possuem núcleo evidente que se localizam na porção basal dessas células (Fig. 16).

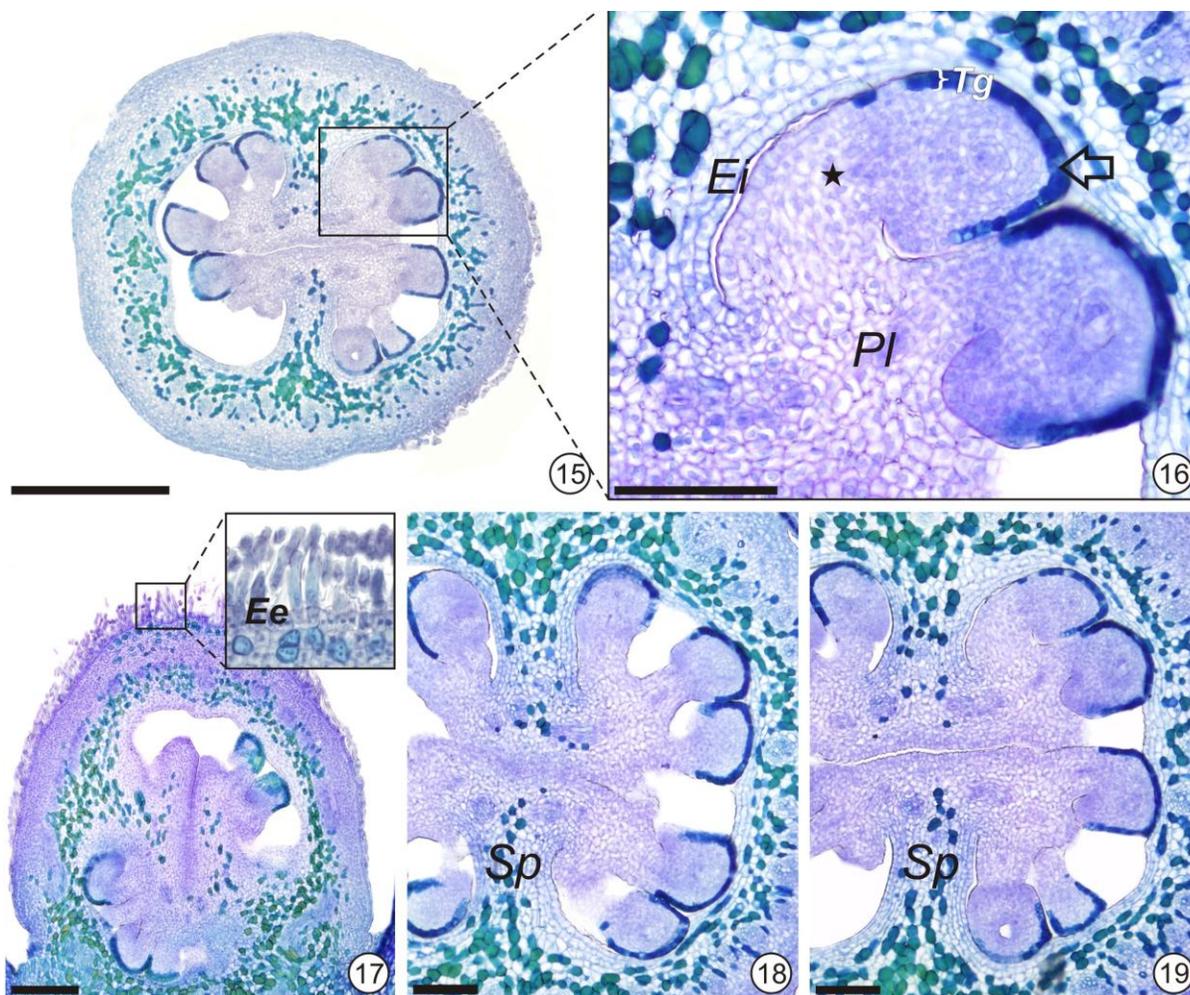


Figura 15-19: Ovário de *Parahancornia fasciculata*. Secções transversais (15,16,18,19) e longitudinais (17). **15.** Visão geral. **16.** Óvulo unitégmico com células ricas em compostos fenólicos (seta). Notar funículo curto do óvulo (estrela) e epiderme interna uniestratificada. **17.** Tricomas presentes na região apical e epiderme externa uniestratificada ("inset"). **18-19.** Estágios sequenciais da separação dos septos, da base ao ápice do ovário. *Ee*= epiderme externa, *Ei*= epiderme interna, *Pl*= placenta, *Sp*=septo, *Te*= tegumento. **Esclas:** 15= 200µm, 16-19= 50µm.

Pericarpo

Foram utilizados três estádios de desenvolvimento para descrever a estrutura do pericarpo: estágio I – fruto imaturo, estágio II – fruto jovem e estágio III – fruto maduro. Essa divisão foi feita a partir das alterações que ocorreram durante o desenvolvimento do fruto, como desenvolvimento de cutícula ornamentada, mudanças na disposição e quantidade de idioblastos secretores no mesocarpo, número de camadas e formação de espaços intercelulares.

Estádio I: A epiderme externa, agora denominada exocarpo, permanece composta por uma única camada de células. Neste estágio ocorre também o desenvolvimento da cutícula e suas ornamentações (Fig. 20, 21).

Durante o desenvolvimento do fruto ocorre espessamento do pericarpo, devido a um aumento no número de células e alongamento delas no mesocarpo. O mesocarpo, que se desenvolve a partir do mesofilo ovariano, é constituído por parênquima, idioblastos com compostos fenólicos, feixes vasculares e laticíferos (Fig. 20).

As células parenquimáticas do mesocarpo são diferentes conforme a região onde são encontradas. As que se localizam próximas ao exocarpo possuem suas paredes pecto-celulósicas espessadas e justapostas (Fig. 20, 21), já a grande maioria das células parenquimáticas do mesocarpo possui suas paredes celulares mais delgadas (Fig. 20, 22). As células que estão próximas aos lóculos, onde estão inseridas as sementes, apresentam uma grande quantidade de idioblastos com compostos fenólicos, dando a essa região uma coloração mais esverdeada (Fig. 23). Os idioblastos com compostos fenólicos estão dispersos por todo o mesocarpo (Fig. 20), embora em maior quantidade nessa região ao redor da semente. Os laticíferos são as células mais destacadas, possuindo parede celular mais espessada e com distribuição homogênea por todo o mesocarpo (Fig. 22). Os feixes vasculares, apesar de estarem mais diferenciados, ainda não estão totalmente desenvolvidos e encontram-se dispersos por toda região do mesocarpo entre as células parenquimáticas (Fig. 22).

A epiderme interna, agora denominada endocarpo, permanece uniestratificada, com células de paredes delgadas e justapostas, porém ainda é difícil sua visualização (Fig. 23).

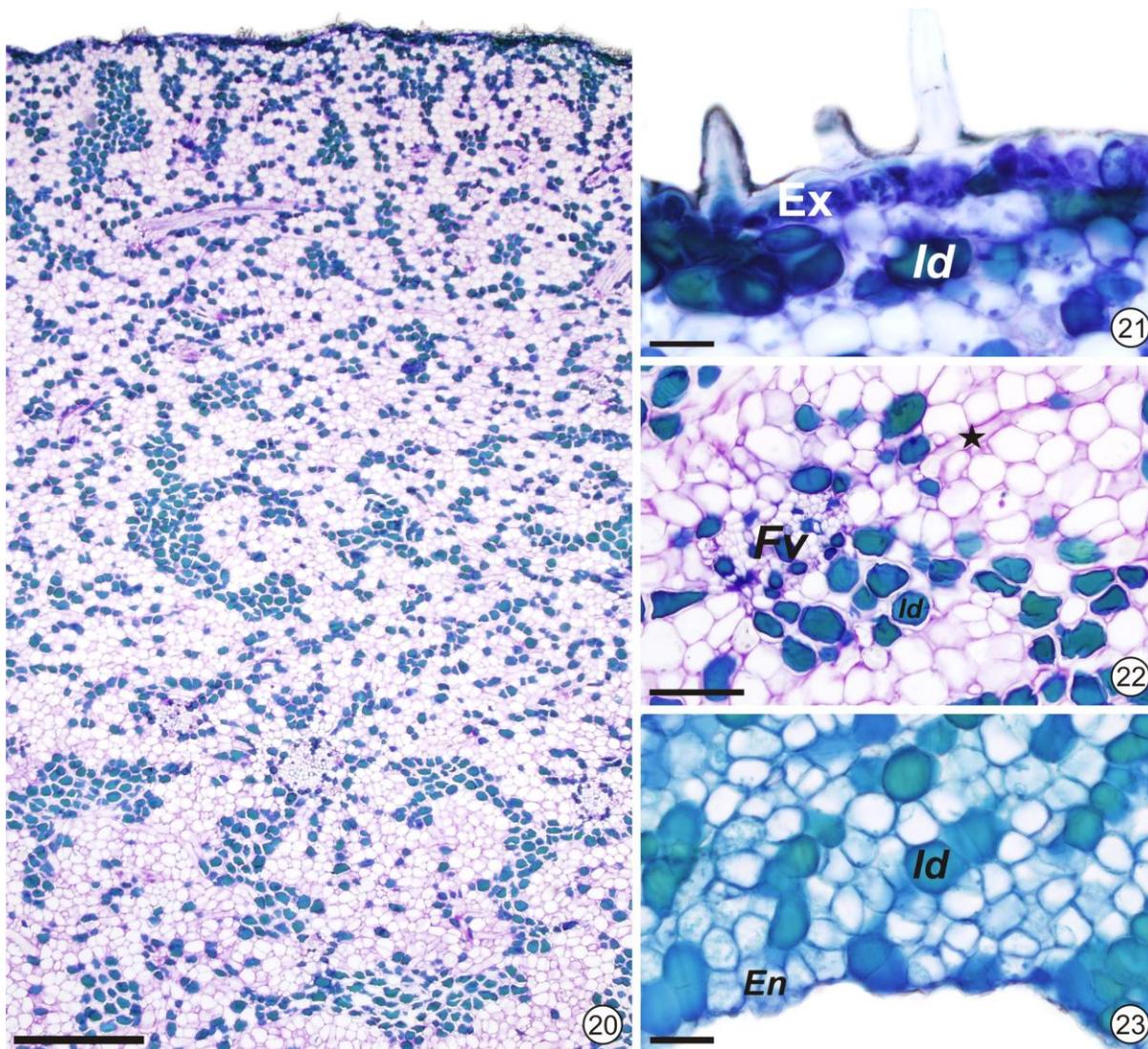


Figura 20-23: Secções transversais do fruto imaturo de *Parahancornia fasciculata*. **20.** Vista geral do pericarpo. **21.** Exocarpo uniestratificado, cutícula espessa com ornamentações e mesocarpo com idioblastos com compostos fenólicos. **22.** Mesocarpo com feixes vasculares, idioblastos com compostos fenólicos e laticíferos (estrela). **23.** Endocarpo e idioblastos. *En*= endocarpo; *Ex*= exocarpo; *Fv*= feixe vascular; *Id*= idioblastos. **Escala:** 20= 200µm; 21= 10µm; 22-23= 50µm.

Estádio II: No exocarpo, a principal mudança é o aumento da espessura da parede das células epidérmicas. A cutícula torna-se mais espessa e com mais ornamentações. É possível notar a presença de estômatos, embora sejam pouco frequentes nessa região (Fig. 25).

As células parenquimáticas do mesocarpo que se localizam abaixo do exocarpo continuam com paredes espessadas e justapostas (Fig. 24, 25); já aquelas células que no estágio I apresentavam suas paredes mais delgadas, começam a apresentar espaços intercelulares (Fig. 26). Idioblastos com compostos fenólicos encontram-se distribuídos por toda essa região do mesocarpo (Fig. 24, 26), porém aquela região onde estão as sementes continua a ter uma maior quantidade desses idioblastos (Fig. 27). Nesse estágio pode-se notar que não ocorre o desenvolvimento de muitas das sementes, pois várias destas são abortadas (Fig. 27). Os laticíferos e os feixes vasculares, agora totalmente diferenciados, estão distribuídos por todo o mesocarpo e em grandes quantidades (Fig. 24, 26).

O endocarpo permanece uniestratificado, com células de paredes delgadas e justapostas, porém ainda é difícil sua visualização (Fig. 27).

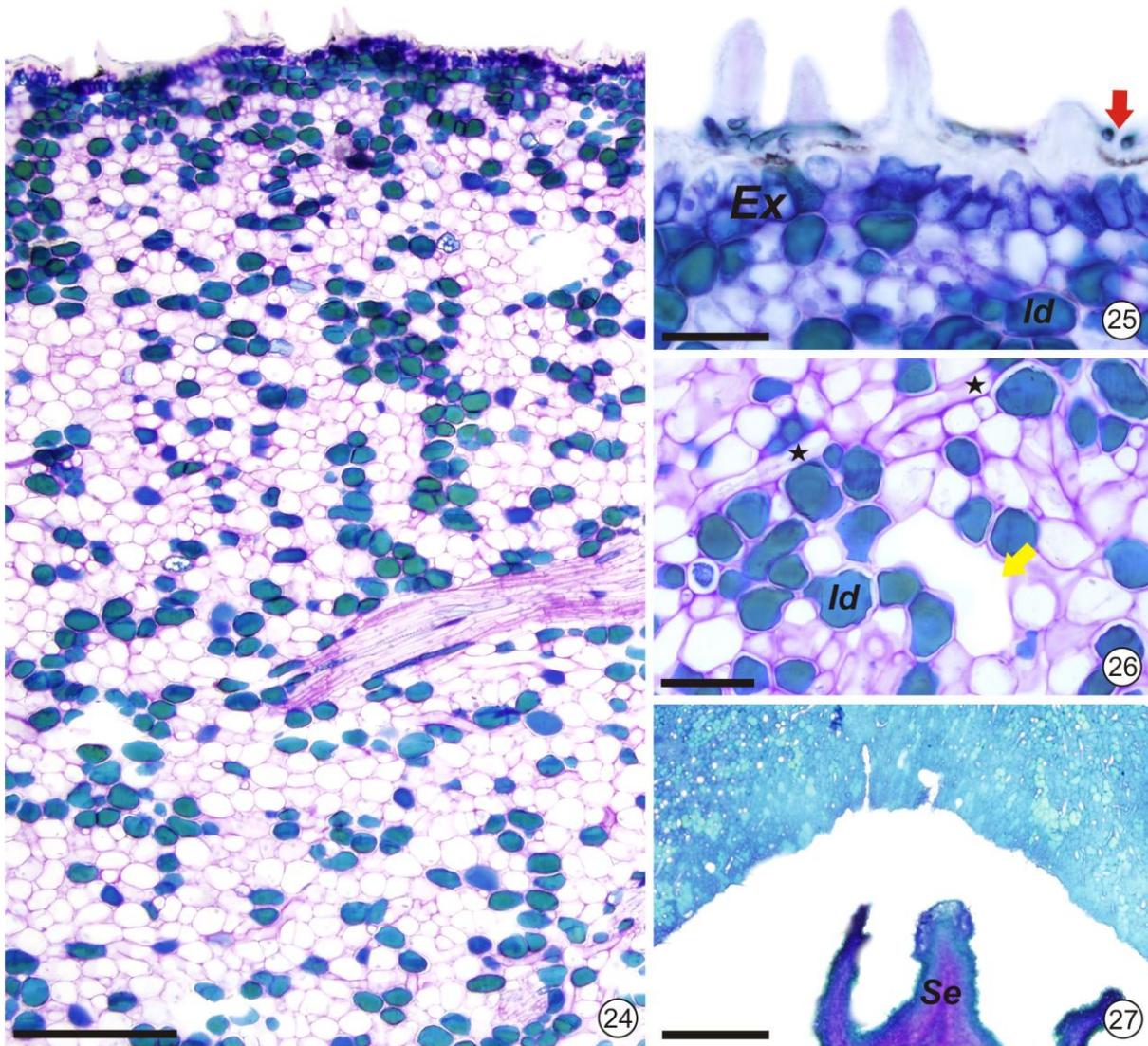


Figura 24-27: Secções transversais do fruto jovem de *Parahancornia fasciculata*. **24.** Vista geral do pericarpo. **25.** Exocarpo uniestratificado, estômato (seta vermelha), cutícula espessa com ornamentações e mesocarpo com idioblastos com compostos fenólicos. **26.** Mesocarpo com idioblastos com compostos fenólicos, laticíferos (estrela) e espaços intercelulares (seta amarela). **27.** Idioblastos com compostos fenólicos e semente abortada. *Ex*= exocarpo; *Id*= idioblastos; *Se*= semente. **Escalas:** 24 e 27= 200 μ m; 25= 20 μ m; 26= 50 μ m.

Estádio III: No exocarpo a única mudança que ocorre é um aumento subsequente na espessura da cutícula e nas ornamentações (Fig. 28, 30). Apesar dos estômatos continuarem presentes, sua frequência é muito menor.

No mesocarpo, a principal mudança ocorre na região onde as células, no estágio II, estavam com espaços intercelulares. Esses espaços agora aumentaram em tamanho e em quantidade, formando um aerênquima (Fig. 29, 31). Distribuídos por todo o aerênquima, estão os laticíferos, que devido à parede espessa e conteúdo de aspecto denso são as células mais destacadas no mesocarpo (Fig. 31). Nessa região do aerênquima estão distribuídos os feixes vasculares, que já estão totalmente diferenciados (Fig. 29, 31). Os idioblastos com compostos fenólicos estão dispersos por todo o mesocarpo, porém em menor quantidade, principalmente ao redor das sementes (Fig. 28, 29, 32).

O endocarpo torna-se totalmente diferenciado, e é constituído por uma camada de células justapostas e de paredes delgadas. Os prolongamentos das células da testa da semente, que se desenvolveram, penetram entre a camada de células do endocarpo (Fig. 32).

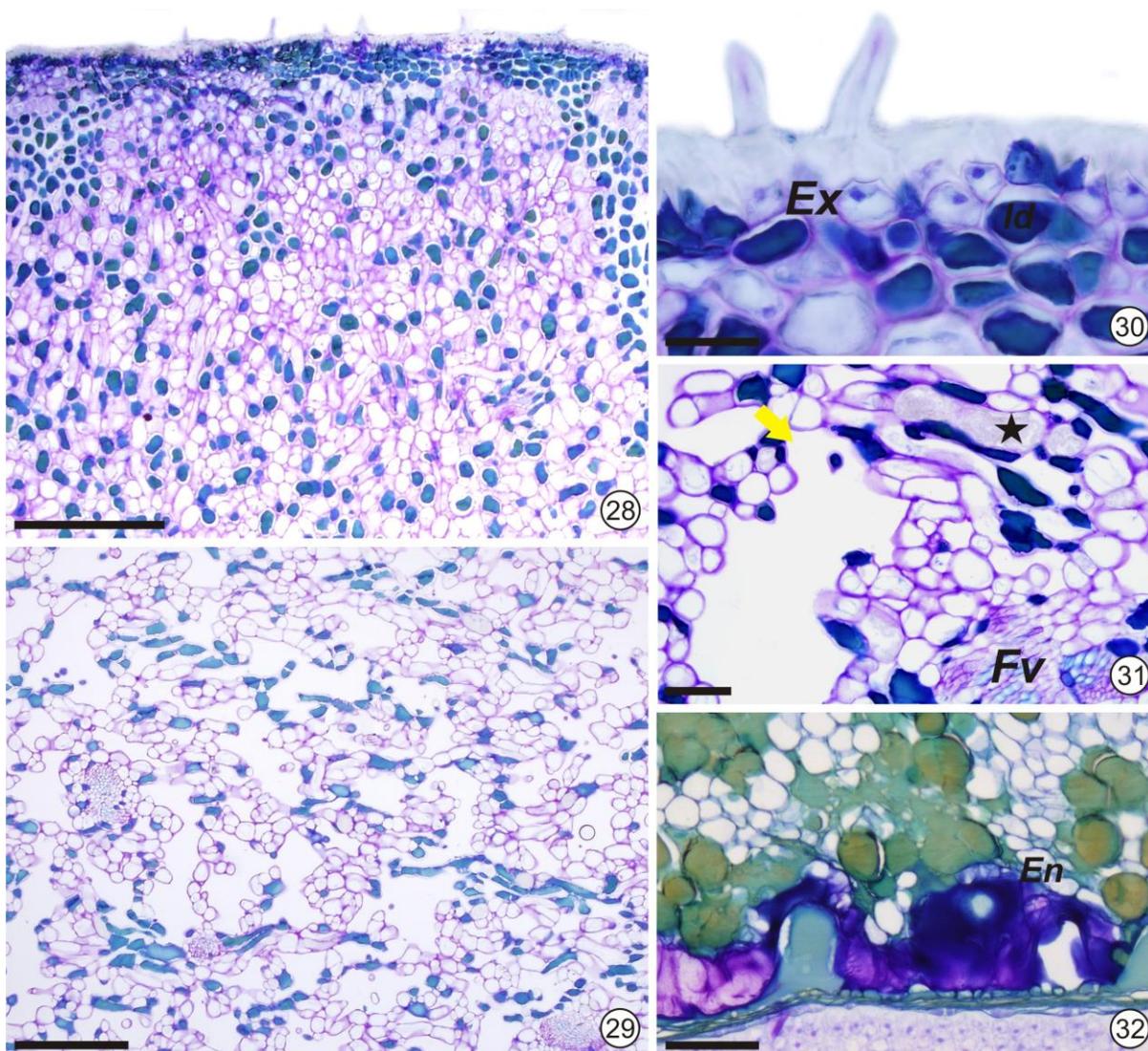


Figura 29-32: Secções transversais do fruto maduro de *Parahancornia fasciculata*. **28-29.** Vista geral do pericarpo. **30.** Exocarpo uniestratificado, cutícula espessa com ornamentações e mesocarpo com idioblastos com compostos fenólicos. **31.** Mesocarpo com idioblastos com compostos fenólicos, laticíferos (estrela), feixe vascular e aerênquima (seta amarela). **27.** Endocarpo uniestratificado. En= endocarpo; Ex= exocarpo; Id= idioblastos; Fv= feixe vascular. **Escala:** 28-29= 200µm; 30= 20µm; 31-32= 50µm.

Quadro 1: Resumo das principais características anatômicas do fruto das duas espécies. + = presente; - =ausente.

CARACTERÍSTICAS ANATÔMICA		<i>Hancornia speciosa</i>	<i>Parahancornia fasciculata</i>
Exocarpo	Nº camadas	1	1
	Estômatos	+	+
	Cutícula ornamentada	-	+
Mesocarpo	Idioblastos fenólicos	+	+
	Aerênquima	-	+
	Laticíferos	+	+
	Feixes vasculares	+	+
Endocarpo	Nº camadas	1	1
	Paredes delgadas	+	+
	Cutícula	-	-

DISCUSSÃO

As duas espécies descritas no estudo possuem fruto do tipo baga. Esses são frutos simples, carnosos, provenientes de ovário súpero, uni a pluricarpelar (Souza, 2003). Esse tipo de fruto não são raros na família Apocynaceae, sendo encontrados na subfamília Raouvolfoideae. Muitos frutos bacóides são comestíveis e apreciados pelo agradável sabor de sua polpa, como os de “mucugê” (*Couma rigida* Mull.Arg), “sorva” (*Couma guianensis* Aubl., *C. macrocarpa* Barb. Rodr., *C. utilis* (Mart.) Müll. Arg.), “pepino da mata” (*Ambelania acida* Aubl.), “tucujá” (*Lacmellea arborescens* (Müll. Arg.) Markgr), e Amapá” (*Parahancornia fasciculata* (Huber) Ducke), e “mangaba” (*Hancornia speciosa* Gomes), os dois frutos em estudo (Barroso *et al.*, 1999).

O pericarpo das duas espécies é constituído por três zonas bem demarcadas: o exocarpo, o mesocarpo e o endocarpo. Por meio de estudos ontogenéticos, pode-se observar, nas duas espécies, que o exocarpo origina-se exclusivamente da epiderme externa do ovário, sendo assim um exocarpo *sensu stricto*. Esse tipo de exocarpo ocorre na maioria das espécies já estudadas na família (Castro, 1986; Kuriachen & Dave, 1989; Kuriachen & Dave, 1990; Kuriachen *et al.*, 1991; Kuriachen *et al.*, 1992; Thomas & Dave, 1994; Aguiar *et al.*, 2009). Porém, a presença de exocarpo multiestratificado também pode ser observado dentro da família, como nas espécies *Tylophora dalzellii* Hook.f. (Kuriachen *et al.*, 1990), *Nerium oleander* L. (Thomas & Dave, 1991), além de outras (Thomas & Dave, 1994), sendo que em todas as espécies o exocarpo é formado por uma camada de células epidérmicas e camadas subsequentes de células colenquimáticas e/ou esclerenquimáticas, sendo dessa maneira classificado, segundo Roth (1977), como exocarpo *sensu lato*.

A presença de cutícula foi verificada nas duas espécies, sendo que em *P. fasciculata* foi também observada ornamentações. O desenvolvimento dessa cutícula no fruto pode ser influenciado por fatores ambientais, como a intensidade luminosa (Roth, 1977). *Hancornia speciosa* possui sua distribuição em áreas de campo aberto, enquanto *P. fasciculata* é encontrada em regiões de floresta fechada, porém com a copa de suas árvores no dossel (A.O. Simões, com. pess.), fato este que pode explicar o desenvolvimento da cutícula nesses frutos. As ornamentações na cutícula de *P. fasciculata* possivelmente proporcionam proteção adicional a esta espécie, que vivem em lugares com excesso de luminosa e radiação solar (Alquini *et al.*, 2006). Esse tipo de ornamentação na cutícula também foi encontrado em *Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn. (Aguiar, 2009). A cutícula sem ornamentações pode ser encontrada em muitos frutos de Apocynaceae, como em *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Aguiar, 2003), *Allamanda blanchettii* A. DC., *A. shotti* Pohl, *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Aguiar, 2009).

A presença de idioblastos com compostos fenólicos é muito comum em frutos carnosos da família Apocynaceae (Kuriachen & Dave, 1991; Souza & Moscheta, 1992; Kuriachen *et al.*, 1993; Aguiar, 2003,2009; Vilalba-Ferreira, 2012, entre outros), assim como em outras famílias e podem estar relacionados com a fase de maturação do fruto.

O sabor adstringente de alguns frutos é atribuído à presença de compostos fenólicos (taninos), assim os frutos tendem a se tornar menos adstringentes durante sua maturação (Tucker, 1993). Além disso, eles podem atuar na proteção contra herbívoros, especialmente insetos, e também contra fungos e bactérias (Swain, 1979).

Os laticíferos são células que se espalham por todo corpo da planta, possuindo a função de protegê-la contra herbivoria e selar ferimentos (Fahn, 1979, Evert, 2006). Possui um fluido chamado látex e sua composição pode ser bastante complexa, podendo possuir terpenos, amido, ceras, resinas, mucilagem, entre outras substâncias (Fahn, 1979, Evert, 2006). Os laticíferos estão presentes nas duas espécies estudadas e sua presença em Apocynaceae é amplamente conhecida (Metcalf & Chalk, 1950), tendo sido relatada em diversos frutos de espécies da família (Kuriachen & Dave 1989; Kuriachen *et al.*, 1990, 1991; Dave & Kuriachen 1991; Thomas & Dave 1991; Kuriachen *et al.*, 1992; Thomas & Dave 1994; Gomes 2008; Aguiar 2009; Aguiar *et al.*, 2009, Vilalba-Ferreira, 2012).

Aerênquima está presente no mesocarpo de apenas uma espécie, *P. fasciculata*, sendo considerada a principal característica distintiva entre as duas. Este tecido é um tipo de parênquima com grandes espaços intercelulares (Roth, 1977), sendo encontrado, com mais frequência, em plantas aquáticas para aumentar a flutuabilidade (Evans, 2003), mas podem estar presentes em outras plantas que tem seus frutos e sementes dispersos pelo vento (Scatena *et al.*, 2006). Como esse não é caso, outra possível explicação para o aparecimento desse tecido nesta espécie seria que, este aerênquima possui a função de aumentar o tamanho do fruto e torná-lo mais macio, para que dessa forma, o tecido possa ser comprimido e acomodar as sementes que ainda estão em processo de maturação (Roth, 1977). A presença de aerênquima já foi relatada em *Spongiosperma macrophyllum* (Mull.Arg.) Zarucchi, *Tabernaemontana elegans* Stapf, *T. sananho* Ruiz & Pav., *Blepharodon bicuspidatum*, *Oxypetalum appendiculatum* Mart., *O. balansae* Malme, *O. glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquette (Aguiar, 2009; Vilalba-Ferreira, 2012).

Segundo Roth (1977), o endocarpo pode se originar da epiderme interna do ovário, como é o caso das espécies estudadas, sendo dessa forma classificado de endocarpo *sensu stricto*, mas ele também pode ter origem de camadas subepidérmicas

do tecido fundamental ovariano, ou ainda da combinação de ambas, sendo classificado como endocarpo *sensu lato*. O endocarpo das duas espécies são uniestratificados com células de paredes delgadas. Endocarpo uniestratificado pode ser encontrado em espécies da subtribo Ambelanine, como em *Ambelania duckei*, *Macoubea sprucei*, *Spongiosperma macrophyllum* e em espécies da subtribo Tabernaemontana, como em *T. elegans* e *T. sananho* (Vilalba-Ferreira, 2012). Todavia, endocarpo com mais de uma camada também é encontrado em outras espécies da família, como em *Allamanda blanchettii*, *A. shottii*, *Prestonia riedelii* (Aguiar, 2009, Aguiar *et al.*, 2009).

CONCLUSÃO

Através de estudos ontogenéticos e estruturais pode-se classificar a morfologia e anatomia do pericarpo dos frutos. Apesar dos dois frutos terem semelhanças no pericarpo, alguns caracteres anatômicos, como ornamentações na cutícula, disposição e frequência de idioblastos fenólicos e desenvolvimento de aerênquima, podem ser utilizados para o reconhecimento das espécies. Esse estudo demonstrou que, além de serem importante na taxonomia, dados anatômicos de frutos e sementes podem auxiliar na compreensão da evolução destes órgãos em Apocynaceae.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, S. 2003. Morfologia e ontogenia de frutos e sementes de espécies de Apocynaceae do cerrado do estado de São Paulo. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Aguiar, S. 2009. Morfoanatomia de frutos e sementes de Apocynaceae. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Aguiar, S.; Carmello-Guerreiro, S.M. & Kinoshita L.S. 2009. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll.Arg.) Markgr. (Apocynaceae). Acta Botanica Brasilica 23: 729-737.

Alquini, Y.; Bona, C.; Boeger, M. R. T.; Costa, C. G.; Barros, C. F. Epiderme. Anatomia Vegetal. 2nd. Ed. UFV, 2006. 3: 87-96

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).

Castro, M. M.; Machado, S. R. Células e Tecidos Secretores. Anatomia Vegetal. 2nd. Ed. UFV, 2006. 7: 179-188.

Cortez, P.A & Carmello-Guerreiro, S.M. 2008. Ontogeny and structure of the pericarp and the seed coat of *Miconia albicans* (SW) Triana (Melastomataceae) from “cerrado”, Brazil. Revista Brasileira de Botânica 31 (1): 71-79

Endress, M.E. & Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.1. The Botanical Review 66(1): 1 – 56.

Endress, M.E. 2004. Apocynaceae: Brown and now. Telopea 10: 525–541.

Endress, M.E.; Liede-Schumann, S. & Meve, U. 2007. Advances in Apocynaceae: the enlightenment, an introduction. Annals of the Missouri Botanical Garden 94(2): 260 – 267.

Evans, D.E. 2003. Aerenchyma formation. New Phytologist. 161: 35-49.

Evert, R.F. 2006. Esau's Plant Anatomy, 3a. ed. Wiley-Interscience, New Jersey.

Fahn, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press Inc., London

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.

Gomes, S.M. 2008. Morfo-anatomia de frutos em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. *Acta Botanica Brasilica* 22: 521-534.

Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.

Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A.; Stevens, P.F. *Plant systematic: a phylogenic approach*. Sunderland: Sinauer Associates, 1999.

Kuriachen, P.M. & Dave, Y. 1989. Structure and development of fruit wall ornamentations in *Pergularia daemia* (Forsk.) Chiov (Asclepiadaceae). *Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Plant Sciences)* 99: 15-20.

Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1990. Morphohistogenic studies in the follicle of *Tylophora dalzellii* HK. F. *Phytomorphology* 40: 349-347.

Kuriachen, P.M.; Dave, Y. & Thomas, V. 1991. Development, structure and dehiscence of follicles of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. (Asclepiadaceae). *Korean Journal of Botany* 34: 107-112.

Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1992. Taxonomic and phylogenetic significance of fruit walls in Asclepiadaceae. *Feeds Repertorium* 103: 179-193.

Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1993. Ultrastructural studies of the ovary wall and pericarp of *Asclepias curassavica* L. II. Mesocarp development. *Feddes Repertorium* 104: 227-235.

Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford: Clarendon.

Roth, I. 1977. *Fruits of angiosperms: encyclopedia of plant anatomy*. Berlin, Gebrüder Borntraeger.

Scatena, V. L; Scremin-Dias, E. Parênquima, Colênquima e Esclerênquima. *Anatomia Vegetal*. 2nd. Ed. UFV, 2006. 4: 109-119.

Sakai, W.S. 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. *Stain Technology* 43: 247-249.

Sakane, M. & Shepherd, G.J. 1986. Uma revisão do gênero *Allamanda* L. (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 9: 125 – 149.

Simões, A. O., Livshultz, T., Conti, E., Endress, M. E. 2007. Phylogeny and systematics of the Rauvolfioideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 268–297.

Sennblad, B & Bremer, B. 2002. Classification of Apocynaceae s.l. According to a New Approach Combining Linnaean and Phylogenetic Taxonomy. *Systematic Biology* 51: 389-409.

Souza, L.A. & Moscheta, I.S. 1992. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Biologia* 52: 439-447.

Souza, L, A. 2003. Morfologia e Anatomia vegetal: células, tecidos, órgãos e plântulas. Ed. UEPG. 72-79.

Swain, T. 1979. Tanins and lignins. In *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites* (G. A. Rosenthal & D. H. Janzen, ed.) Academic Press, New York, p.657-682.

Thomas, V. & Dave, Y. 1991. Structure and development of follicles of *Nerium indicum* Mill. (Apocynaceae). *Feddes Repertorium* 102: 399-407.

Thomas, V. & Dave, Y. 1994. Significance of follicle anatomy of Apocynaceae. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 63: 9-20.

Tucker, G. A. Introduction. In: Seymour, G. B.; Taylor, J. E.; Tucker, G. A. *Biochemistry of fruit ripening*. London: Chapman & Hall, 1993. Cap. 1, p. 2-51.

Vilalba-Ferreira, C. A. 2012. Morfoanatomia de frutos de espécies neotropicais da tribo Tabernaemontana (Apocynaceae, Rauvolfioideae). Tese de Mestrado. Universidades Estadual de Campinas, Campinas. Dados não publicados.

Werker. E. *Seed Anatomy*. Ed. Spezieller Teil, 1997.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os frutos das quatro espécies são muito semelhantes morfologicamente, sendo assim no primeiro capítulo foram estudados frutos maduros de *Couma rigida*, *Lacmellea panamensis*, *Hancornia speciosa* e *Parahancornia fasciculata* e levantados características anatômicas do pericarpo que puderam ser utilizadas para a distinção das espécies. Um exemplo de um caráter utilizado foi à presença de esclereídes somente no mesocarpo de *C. rígida*. Outros caracteres levantados foram à diferença na disposição dos idioblastos fenólicos entre as quatro espécies, a cutícula ornamentada em *P.fasciculata* e a presença de aerênquima também nesta espécie. Apesar de possuírem características particulares, pode-se observar uma similaridade quanto às características do pericarpo dessas espécies de outras espécies já estudadas, como *Ambelania duckei* Markgr., *Rigosphira quadrangularis* Miers. e *Spongiosperma macrophylla* (Müll.Arg.) Zarucchi (Vilalba-Ferreira, 2012).

No segundo capítulo foi possível observar que todas as sementes estudadas apresentam similaridades quanto à estrutura do tegumento, pois todas são exotestais e possuem compostos fenólicos. Além disto, *Parahancornia fasciculata* possui mucilagemna exotesta além de compostos fenólicos. Outra diferença entre as espécies seria na constituição química do endosperma dessas sementes, sendo observados cristais proteicos apenas em *L. panamensis*.

No terceiro e último capítulo, também pôde se comprovar a importância de estudos anatômicos e ontogenéticos para distinguir espécies dentro da tribo Willughbeieae. O pericarpo de *H. speciosa* e *P. fasciculata* são bem diferentes entre si. *P. fasciculata* possui cutícula espessa com ornamentações, aerênquima e idioblastos com compostos fenólicos por todo o mesocarpo do fruto, o que não ocorre em *H. speciosa*. Nessa espécie os idioblastos fenólicos concentram-se apenas na região abaixo do exocarpo, quando maduros. A semelhança entre elas são: exocarpo e endocarpo uniestratificado, no mesocarpo são observados células parenquimáticas, laticíferos, feixes vasculares e idioblastos com compostos fenólicos.

Mesmo existindo alguns trabalhos relacionados à morfoanatomia de frutos e sementes em espécies de Apocynaceae, eles são poucos frente à riqueza de espécies

e a diversidade encontrada na família. Em particular, há uma escassez de estudos relacionados à anatomia de frutos em Willughbeieae, Desta forma este trabalho trouxe novos dados para quatro espécies da família e todas elas ocorrentes no Brasil. A caracterização através da anatomia, de frutos e as sementes levantando dados que possam ser utilizados para a distinção das espécies foi o principal objetivo do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adanson, M. 1768. Familles des plantes. (Reimp. 1966. Introdução de F.A. Stafleu.) Paris, Ed. Lehre.
- Aguiar, S. 2003. Morfologia e ontogenia de frutos e sementes de espécies de Apocynaceae do cerrado do estado de São Paulo. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Aguiar, S. 2009. Morfoanatomia de frutos e sementes de Apocynaceae. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Aguiar, S.; Carmello-Guerreiro, S.M. & Kinoshita L.S. 2009. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll.Arg.) Markgr. (Apocynaceae). *Acta Botanica Brasilica* 23: 729-737.
- Alquini, Y.; Bona, C.; Boeger, M. R. T.; Costa, C. G.; Barros, C. F. Epiderme. *Anatomia Vegetal*. 2nd. Ed. UFV, 2006. 3: 87-96
- 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).
- Brown, R. 1810. On the Asclepiadeae, a natural order of plants separated from the Apocineae of Jussieu. *Mem. Wern. Nat. Hist. Soc.* 1: 12 – 78.
- Candolle, A. de. 1844. Apocynaceae. *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis* 8: 317—489. Fortin, Masson & Soc., Paris.
- Castro, M. M.; Machado, S. R. Células e Tecidos Secretores. *Anatomia Vegetal*. 2nd. Ed. UFV, 2006. 7: 179-188.
- Corner, E. J. The seeds of dicotyledons. Cambridge, Cambridge University Press.
- Cortelazzo, A.L. & Vidal, B.C. 1991. Soybean seed proteins: detection in situ and mobilization during germination. *Revista Brasileira de Botânica* 14: 27 – 34.
- Cortez, P.A & Carmello-Guerreiro, S.M. 2008. Ontogeny and structure of the pericarp and the seed coat of *Miconia albicans* (SW) Triana (Melastomataceae) from “cerrado”, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 31 (1): 71-79

Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1991. Comparative anatomical characters of Periplocaceae follicles and their taxonomic significance. Feddes Repertorium. 102: 63-68.

Demarco, D.; Kinoshita, L.S & Castro, M de M. 2006. Laticíferos articulados anastomosados- novos registros para apocynaceae. Revista Brasileira de Botânica. 29: 133-144.

Endress, M.E., Sennblad, B., Nilsson, S., Civeyrel, L., Chase, M.W., Huysmans, S., Grafström, E. & Bremer, B. 1996. A phylogenetic analysis of Apocynaceae s. str. and some related taxa in Gentianales: a multidisciplinary approach. Opera Botanica Belgica 7:59–102.

Endress, M.E. & Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.1. The Botanical Review 66(1): 1 – 56.

Endress, M.E. 2004. Apocynaceae: Brown and now. Telopea 10: 525–541.

Endress, M.E.; Liede-Schumann, S. & Meve, U. 2007. Advances in Apocynaceae: the enlightenment, an introduction. Annals of the Missouri Botanical Garden 94(2): 260 – 267.

Esau, K. 1965. Plant Anatomy. 2nd. ed. John Wiley and Sons, New York, USA.

Evans, D.E. 2003. Aerenchyma formation. New Phytologist. 161: 35-49.

Evert, R.F. 2006. Esau's Plant Anatomy, 3a. ed. Wiley-Interscience, New Jersey.

Fahn, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press Inc., London.

Fahn, A. 1990. Plant anatomy. 3th ed. Pergamon Press, Oxford.

Furr M & Mahlberg PG. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. J. Nat Prod. 44: 153-159.

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.

Gomes, S.M. 2008. Morfo-anatomia de frutos em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. Acta Botanica Brasilica 22: 521-534.

Ionta, G.M. & Judd, W.S. 2007. Phylogenetic relationships in Periplocoideae (Apocynaceae s.l.) and insights into the origin of pollinia. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94(2): 360-375.

Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.

Judd, W.S.; Sanders, R.W. & Donoghue, M.J. 1994. Angiosperm family pairs: preliminary phylogenetic analysis. *Harvard Papers in Botany* 5: 1 – 51.

Jussieu, A.L. 1789. *Genera plantarum*. Zurique, Viduam Herissant.

Khan, P.S.H. 1070. Structure and development of seed coat and fruit wall in *Catharanthus pusillus* G. Don. *Proceedings of the National Academy of Science* 40(B): 22-25.

Kuriachen, P.M. & Dave, Y. 1989. Structure and development of fruit wall ornamentations in *Pergularia daemia* (Forsk.) Chiov (Asclepiadaceae). *Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Plant Sciences)* 99: 15-20.

Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1990. Morphohistogenic studies in the follicle of *Tylophora dalzellii* HK. F. *Phytomorphology* 40: 349-347.

Kuriachen, P.M.; Dave, Y. & Thomas, V. 1991. Development, structure and dehiscence of follicles of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. (Asclepiadaceae). *Korean Journal of Botany* 34: 107-112.

Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1992. Taxonomic and phylogenetic significance of fruit walls in Asclepiadaceae. *Feeds Repertorium* 103: 179-193.

Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1993. Ultrastructural studies of the ovary wall and pericarp of *Asclepias curassavica* L. II. Mesocarp development. *Feddes Repertorium* 104: 227-235.

Leeuwenberg, A.J.M. 1994. Taxa of the Apocynaceae above the genus level. Series of revisions of Apocynaceae. XXXVIII. *Wageningen Agric. Univ. Pap.* 94: 45—60.

Livshultz, T., D. J. Middleton, M. E. Endress & J. K. Williams. 2007. Phylogeny of Apocynoideae and the APSA clade (Apocynaceae s.l.). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 94: 324–359.

Marcondes-Ferreira, W. 2005. *Aspidosperma* Mart. Pp. 39 – 47. In: M.G.L. Wanderley; G.J. Shepherd; T.S. Melhem & A.M. Giulietti (orgs.). *Flora fanerogâmica do estado de São Paulo*. vol. 4. São Paulo, FAPESP/HUCITEC.

- Metcalfe, C.R. & Chalk, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford: Clarendon.
- Pearse, A.G.E. 1980. Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology. 4ed. Edinburgh. Churchill Livingston.
- Pearson, N.L. 1948. Observations on seed end seed hair growth in *Asclepias syriaca* L. American Journal of Botany 35:27-36.
- Pizzolato TD & Lillie RD. 1973. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. J. Histochem. Cytochem. 21: 56-64.
- Potgieter, K. & Albert, V.A. 2001. Phylogenetic relationships within Apocynaceae s.l. based on trnL intron and trnL – F spacer sequences and propagule characters. Annals of Missouri Botanical Garden 88: 523 – 549.
- Roth, I. 1977. Fruits of angiosperms: encyclopedia of plant anatomy. Berlin, Gebrüder Borntraeger.
- Sakai, W.S. 1973. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue O. Stain Technology 43: 247-249.
- Sakane, M. & Shepherd, G.J. 1986. Uma revisão do gênero *Allamanda* L. (Apocynaceae). Revista Brasileira de Botânica 9: 125 – 149.
- Scatena, V. L; Scremin-Dias, E. Parênquima, Colênquima e Esclerênquima. Anatomia Vegetal. 2nd. Ed. UFV, 2006. 4: 109-119.
- Schumann, K. 1895. Apocynaceae. Pp. 109-189 in: Engler, A. & Prantl, K. (eds.), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien* 4(2). Engelmann, Leipzig.
- Seenblad, B. & Bremer, B. 1996. The familial and subfamilial relationships of Apocynaceae and Asclepiadaceae evaluated with *rbcL* data. Plant Systematics and Evolution 202: 153 – 175.
- Sennblad, B. & Bremer, B. 1996. The familial and subfamilial relationships of Apocynaceae and Asclepiadaceae evaluated with *rbcL* data. Pl. Syst. Evol. 202: 153–175.
- Sennblad, B.; Endress, M.E. & Bremer, B. 1998. Morphology and molecular data in phylogenetic fraternity: the tribe Wrightieae (Apocynaceae) revisited. American Journal of Botany 85:1143-1158.

Sennblad, B & Bremer, B. 2002. Classification of Apocynaceae s.l. According to a New Approach Combining Linnaean and Phylogenetic Taxonomy. *Systematic Biology* 51: 389-409.

Simões, A.O. & Kinoshita, L.S. 2002. The Apocynaceae s. str. of the Carrancas region, Minas Gerais, Brazil. *Darwiniana* 40(1/4): 127 – 169.

Simões, A. O., Livshultz, T., Conti, E., Endress, M. E. 2007. Phylogeny and systematics of the Rouvolfioideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94: 268–297.

Simões. A.O., Endress, M.E. & Conti, E. 2010. Systematics and character evolution of Tabernaemontaneae based on molecular and morphological evidence. *Taxon* 59: 772-790.

Souza, L.A. & Moscheta, I.S. 1992. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Biologia* 52: 439-447.

Souza, L, A. Morfologia e Anatomia vegetal: células, tecidos, órgãos e plântulas. Ed. UEPG, 2003. 72-79.

Souza, L.A.; lawazaki, M.C. & Oliveira, R.C. 2004. Morfologia do fruto e da semente em desenvolvimento de *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae). *Insula* 33: 39-49.

Souza, L, A. Anatomia do fruto e da semente. Ed. UEPG, 2006.

Souza, L.A. 2009. Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação. Ed. Toda palavra.

Souza, V.C. & Lorenzi, H. 2008. Botânica sistemática: guia para identificação das famílias de fanerógamas Brasileiras nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2a ed. Nova Odessa, Plantarum.

Swain, T. 1979. Tanins and lignins. In *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites* (G. A. Rosenthal & D. H. Janzen, ed.) Academic Press, New York, p.657-682.

Thomas, V. & Dave, Y. 1991. Structure and development of follicles of *Nerium indicum* Mill. (Apocynaceae). *Feddes Repertorium* 102: 399-407.

Thomas, V. & Dave, Y. 1994. Significance of follicle anatomy of Apocynaceae. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 63: 9-20.

Tournefort, P. 1694. *Éléments de Botanique ou méthode pour connoitre Les Plantes*. Tome Première – Les Campaniformes: 161 – 170.

Tucker, G. A. Introduction. In: Seymour, G. B.; Taylor, J. E.; Tucker, G. A. *Biochemistry of fruit ripening*. London: Chapman & Hall, 1993. Cap. 1, p. 2-51.

Vilalba-Ferreira, C. A. 2012. Morfoanatomia de frutos de espécies neotropicais da tribo Tabernaemontana (Apocynaceae, Rauvolfioideae). Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. Dados não publicados.

Werker. E. *Seed Anatomy*. Ed. Spezieller Teil, 1997.