

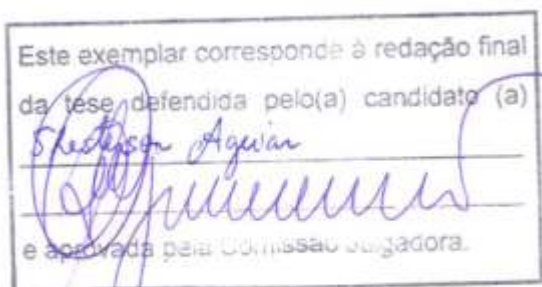
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

**Shesterson Aguiar**



# “Morfoanatomia de frutos e sementes em Apocynaceae”



Tese apresentada ao Instituto de Biologia para a obtenção do Título de Doutor em Biologia Vegetal.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Sandra Maria Carmello-Guerreiro

**Coorientadora:** Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Luiza Sumiko Kinoshita

CAMPINAS, 2009

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

**Ag93m**

Aguiar, Shesterson  
Morfoanatomia de frutos e sementes em Apocynaceae. /  
Shesterson Aguiar. – Campinas, SP: [s.n.], 2009.

Orientadora: Sandra Maria Carmello-Guerreiro.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de  
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Apocynaceae. 2. Frutas - Anatomia. 3. Sementes  
- Anatomia. 4. Anatomia vegetal. I. Carmello-Guerreiro,  
Sandra Maria. II. Universidade Estadual de Campinas.  
Instituto de Biologia. III. Título.

**Título em inglês:** Morphoanatomy of fruits and seeds in Apocynaceae.

**Palavras-chave em inglês:** Apocynaceae; Fruits - Anatomy; Seeds - Anatomy; Plant anatomy.

**Área de concentração:** Biologia Vegetal.

**Titulação:** Doutor em Biologia Vegetal.

**Banca examinadora:** Sandra Maria Carmello-Guerreiro, Ismar Sebastião Moscheta, Marília de Moraes Castro, Ana Paula Stechhahn Lacchia, Maria Carolina Scatolin do Rio.

**Data da defesa:** 03/04/2009.

**Programa de Pós-Graduação:** Biologia Vegetal.

Campinas, 03 de abril de 2009.

## BANCA EXAMINADORA

**Prof.<sup>ª</sup>.Dr.<sup>ª</sup>.Sandra Maria Carmello-Guerreiro (Orientadora)**



Assinatura

**Prof. Dr. Ismar Sebastião Moscheta**



Assinatura

**Prof.<sup>ª</sup>.Dr.<sup>ª</sup>.Ana Paula Stechhahn Lacchia**



Assinatura

**Prof.<sup>ª</sup>.Dr.<sup>ª</sup>.Marília de Moraes Castro**



Assinatura

**Dr.<sup>ª</sup>. Maria Carolina Scatolin do Rio**



Assinatura

**Prof.<sup>ª</sup>.Dr.<sup>ª</sup>. Ingrid Koch**

\_\_\_\_\_  
Assinatura

**Prof. Dr. Diego Demarco**

\_\_\_\_\_  
Assinatura

**Prof. Dr. André Olmos Simões**

\_\_\_\_\_  
Assinatura

**“Se não houver frutos, valeu a beleza das flores; se não houver flores, valeu a sombra das folhas; se não houver folhas, valeu a intenção das sementes”**

(Henfil)

**“Dedico esta tese à minha família, aos meus amigos, aos meus professores, à minha orientadora e ao Márcio; pessoas que tanto me ajudaram para que este sonho se tornasse realidade”**

## POESIA: Fruto

Fruto é resultado, prole, produto  
Assim o é para o vegetal também  
Após a fecundação dos óvulos  
O ovário muito cresce, vai além

Sua parede aumenta de volume  
Agora pericarpo, bem diferente  
Responsável pela propagação  
Torna-se estrutura eficiente

Órgão multiplicador da espécie  
Quer alcançar a maturidade  
Oferecer bom ambiente a semente  
Funcionar como maternidade

Protege com seu corpo a semente  
Mostra-se atraente no momento certo  
Pode então ser destruído sem dó  
Objetivo alcançado, mesmo que incerto

No limão taiti, banana e uva  
Não ocorre a tão esperada fecundação  
São ditos frutos partenocárpico  
Portanto, sementes ali não estão

Gostoso é o fruto carnoso  
Seu sacrifício não será em vão  
Ao ser destruído como alimento  
Liberta a semente, é dispersão

Já nos frutos secos, estratégia diferente  
Seu pericarpo ressequido, resistente  
Como barreira contra predação  
Também demonstra ser eficiente

Fechado, introspectivo e egoísta  
O cariopse ao aquênio se alia  
Intimamente envolve a semente  
Não quer ficar sem companhia

Quando deiscente pode ser explosivo  
Parecendo raioso, barulhento  
Expele com inesperado estalido  
Para bem longe importante rebento

Outros, silenciosos, lá no alto da mata  
Oferecem seus ventres, ação corajosa  
Liberam as sementes lentamente  
Estratégia esta muito formosa

Imitando as sementes aladas  
Sâmara quer o privilégio de voar  
Mesmo sendo robusta, pesada  
Grande distância pode alcançar

Ao ser rasgado por uma fenda  
O folículo revela a sutura ventral  
Já no legume, fruto bem parecido  
Surge também a abertura dorsal

Com mericarpos temos lomento  
Com deiscência transversal, pixídio  
Nervuras como moldura, craspédio  
Contendo muitos gomos, hesperídio

Se do ovário de uma só flor ele é simples  
Ovário apocárpico, agregado é o fruto  
Resultado de muitas flores, múltiplo  
Se é de outro lugar, pseudofruto

Como camadas distintas ou não  
Falamos de exo, meso e endocarpo  
Despertam interesse anatômico  
Ajudam a entender o pericarpo

Para não confundir baga com drupa  
Recorremos ao desenvolvimento  
Aquilo que poderia ser endocarpo  
Muitas vezes é tegumento

Dificuldades mil na classificação  
Retratam o quanto devemos estudar  
Buscando em cada forma diferente  
Maneira sutil para poder agrupar

**Ismar Sebastião Moscheta**  
(09/10/2006)

## POESIA: Semente

Resultado do crescimento do óvulo  
Melhor dito, rudimento seminal  
Eis que surge a semente, bem diferente  
Produto de transformação fenomenal

Ao ser identificada como semente  
Mostra sua composição estrutural  
Contém embrião, endosperma ou não  
Tegumento como roupa natural

Como registro de sua origem  
Traz cicatrizes em seu tegumento  
Hilo, rafe e micrópila são vistas  
São marcas de reconhecimento

Com muito albúmem na maturidade  
É conhecida como albuminosa  
Mas se o embrião já se fartou  
Então é dita exalbuminosa

Muitas vezes outra reserva aparece  
Oriunda do nucelo, não é endosperma  
O embrião poderá escolher então  
Por uma outra fonte, o perisperma

Quando pertencente às gimnospermas  
Mostra-se nua, que falta de pudor  
Nas angiospermas já é bem diferente  
O pericarpo envolvente é o protetor

Apresentando dormência ou não  
Além dos tegumentos tégmen e testa  
Como indumento especial de destaque  
Encontramos arilo, carúncula e sarcotesta

No seu interior, muito bem acomodado  
E até com disfarçada tranqüilidade  
O embrião, já um vencedor qualificado  
Quer mostrar ao mundo sua vitalidade

Com a chegada da água, ocorre a embebição  
O embrião acorda de seu sono letárgico  
Com a energia guardada rompe o tegumento  
Cresce rapidamente, quase um ato mágico

Assim, enterrada, soterrada ou abandonada  
Como milagre completa-se o ciclo da vida  
Germinação toma lugar, surge a plântula  
A espécie tem nova chance de sobrevida

Podendo ser pequena, delicada, muito leve  
Ou grande, rústica e muito pesada  
A semente guarda inúmeros segredos  
Revelados um pouco quando pesquisada

**Ismar Sebastião Moscheta**  
(25/09/2007)

## AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Unicamp através de sua coordenação, que nos primeiros anos deste trabalho esteve a cargo da Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sandra Maria Carmello-Guerreiro e que atualmente está sob responsabilidade da Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eliana Forni Martins, por terem me aceitado como aluno regular no curso, e aos funcionários deste programa, especialmente à Maria Roseli, que sempre me ajudou com muita predisposição.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Pesquisa Científica e Tecnológica (CNPq) pelas bolsas concedidas durante a elaboração desta tese e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio à pesquisa fornecido (proc. 01/12364-0).

Ao Departamento de Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da Unicamp, principalmente ao laboratório de Anatomia Vegetal, onde recebi toda a infra-estrutura necessária para a realização desta tese.

À minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sandra Maria Carmello-Guerreiro por todos estes 8 anos de incentivo na vida de pesquisa, que transformaram este apto professor em um pesquisador. Saiba que lhe agradeço do fundo do meu coração por ter me aceitado como seu aluno, simplesmente do jeito que eu sou, e por ter me ajudado nos momentos difíceis de mudanças que ocorreram na minha vida. Além do mais agradeço pelos ensinamentos na anatomia de frutos e sementes, pelos conselhos, pelo carinho, pelas broncas e por sempre ter acreditado em meu potencial, dando-me liberdade para seguir com meus próprios passos.

À minha coorientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Luiza Sumiko Kinoshita pelo auxílio concedido na elaboração deste trabalho e principalmente pela amizade, fortalecida nestes últimos anos nas disciplinas de graduação, nas quais fui monitor (PED B e voluntário). Saiba que estas monitorias foram extremamente importantes na minha formação profissional, pois recebi muito respaldo e incentivo para me tornar um apto professor universitário.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marília de Moraes Castro, pessoa que admiro e estimo pelo conhecimento, prestígio e profissionalismo na Anatomia Vegetal. Saiba que você teve um importante papel na construção do meu conhecimento na Anatomia Vegetal, sem o qual teria dificuldade na interpretação dos resultados da minha tese. Além do mais, lhe agradeço por ter me tratado com muito carinho e respeito em todos estes anos que estive no laboratório.

Aos membros da pré-banca Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Paula Stechhahn Lacchia, Prof. Dr. Diego Demarco, Dr<sup>ª</sup>. Maria Carolina Scatolin do Rio e Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marília de Moraes Castro pelas excelentes sugestões, discussões e correções que foram primordiais para o aperfeiçoamento da atual versão da minha tese.

Ao Prof. Dr. Ismar Sebastião Moscheta por ter aceitado participar como membro da banca examinadora da minha tese e por ter, gentilmente, me autorizado a colocar suas poesias sobre frutos e sementes nas páginas iniciais do meu trabalho.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Paula Stechhahn Lacchia, ao Prof. Dr. André Olmos Simões, ao Prof. Dr. Diego



Demarco, à Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ingrid Kock, à Dr<sup>ª</sup>. Maria Carolina Scatolin do Rio e à Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marília de Moraes Castro por terem aceitado participar como membros da banca examinadora da minha tese.

Aos professores do Departamento de Biologia Vegetal, principalmente à Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ângela Borges Martins, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cláudia Haddad, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eliana Forni Martins, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Kykio Yamamoto, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria do Carmo Estanislau do Amaral, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marlene Schiavinato, Prof. MSc. Jorge Tamashiro e Prof. Dr. George John Shepherd que contribuíram, de uma forma ou de outra, para aumentar o meu conhecimento na área de Botânica.

Ao Prof. MSc. Jorge Tamashiro e à Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sandra Maria Carmello-Guerreiro que ajudaram muito no meu crescimento como professor universitário ao me aceitarem como PED A na disciplina de graduação BT 481 (Morfologia e Anatomia de Angiospermas), à qual ministrei com total respaldo e liberdade.

Ao Prof. Dr. Angelo Luiz Cortelazzo, por ter me ajudado a interpretar os resultados dos testes histoquímicos realizados no último capítulo deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Biologia Vegetal (Maria Lúcia, João Carlos, Lívia, Washington e Yara) por toda ajuda e prestatividade servidas e, principalmente, ao Sebastião Militão “Tião” (técnico do laboratório de Anatomia Vegetal) por me auxiliar nas rotinas de laboratório.

Ao meu pai João Luiz pelo amor incondicional, por sempre me incentivar nos estudos e por servir como exemplo vida e de pessoa batalhadora e à minha segunda mãe Claudinéia, que me recebeu como filho no momento que mais precisava e por sempre me dar muito amor, carinho e dedicação.

À minha primeira mãe Irma Aparecida Muro Aguiar “in memoriam” por ter me dado a vida e os primeiros ensinamentos e pelo exemplo de pessoa que foi (saiba que sinto muito a sua falta).

Aos meus irmãos Shester, Shelton e Sharles, à minha irmã Sheyla, meu cunhado Julio, minha sobrinha Júlia e ao Márcio, pelos deliciosos momentos de descontração, pelos conselhos, pelo apoio nos momentos difíceis vividos nos últimos anos, pelo incentivo nos estudos, por compreenderem e aceitarem as minhas ausências e pelo amor que sempre dedicaram a mim.

Aos meus amigos e amigas (Ana Cristina Andrade de Aguiar Dias, Ana Paula Caetano, Ana Paula Stechhahn Lacchia, Carla Ferreira, Diego Demarco, Divina Vilhalva, Fabiana Pereira “Fabi”, Gláucia Morelli Alves, Joana Desiderato, João Aranha, Kayna Agostini, Magali dos Santos, Marcela “Mabel”, Maria Carolina Scatolin do Rio, Mariana Manzini, Patrícia Bellemo, Poliana Cardoso, Priscila Andressa Cortez, Nazareth Urquiza, Raquel Antunes, Rodrigo Camargo, Rosina Marasca, Sandra Obando e Simone Felipe) por todos os momentos de alegria, descontração e por toda ajuda que sempre recebi e que foram de extrema importância para que eu chegasse até aqui.

À todos os meus parentes (avôs, avós, tios, tias, primos e primas) por sempre me tratarem com muito amor, respeito e carinho, por entenderem as minhas ausências na maioria dos eventos comemorativos e por sempre me incentivarem a seguir o meu destino e meus estudos.

Finalmente agradeço a todas as pessoas que, de uma forma ou de outra, ajudaram a transformar este meu sonho em uma realidade.

# ÍNDICE

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	3
INTRODUÇÃO GERAL.....	5
JUSTIFICATIVA.....	7
OBJETIVO GERAL E OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
APRESENTAÇÃO DA TESE.....	10

## **CAPÍTULO 1: A importância da anatomia de frutos na distinção de espécies de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae)**

Resumo.....	11
Introdução.....	11
Materiais e Métodos.....	12
Resultados.....	13
Discussão.....	22
Conclusões.....	26
Referências Bibliográficas.....	27

## **CAPÍTULO 2: Morfoanatomia e ontogênese na caracterização dos frutos de *Allamanda blanchetii* A. DC. e *Allamanda schottii* Pohl (Apocynaceae)**

Resumo.....	30
Introdução.....	30
Materiais e Métodos.....	31
Resultados.....	32
Discussão.....	46
Conclusões.....	49
Referências Bibliográficas.....	49

## **CAPÍTULO 3: Ontogenia e estrutura do pericarpo na caracterização dos frutos de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae)**

Resumo.....	53
Introdução.....	53
Materiais e Métodos.....	54
Resultados.....	55
Discussão.....	62
Conclusões.....	66
Referências Bibliográficas.....	67

**CAPÍTULO 4: Anatomia de frutos em Asclepiadoideae (Apocynaceae)**

Resumo.....	72
Introdução.....	72
Materiais e Métodos.....	73
Resultados.....	74
Discussão.....	82
Conclusões.....	85
Referências Bibliográficas.....	85

**CAPÍTULO 5: Anatomia e histoquímica em sementes de Apocynaceae**

Resumo.....	89
Introdução.....	89
Materiais e Métodos.....	90
Resultados.....	91
Discussão.....	99
Conclusões.....	103
Referências Bibliográficas.....	103

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....107

PERSPECTIVAS FUTURAS.....108

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (introdução geral e conclusões finais).....111

## RESUMO

Este estudo teve por objetivo contribuir para o conhecimento de Apocynaceae através do levantamento de dados morfoanatômicos de frutos e sementes de representantes da família. Foram contempladas neste estudo 13 espécies ocorrentes no Brasil e distribuídas em três das cinco subfamílias atualmente descritas. Flores, frutos e sementes em vários estádios de desenvolvimento foram coletados, fixados e submetidos a técnicas usuais de anatomia.

No primeiro capítulo foram estudados frutos maduros de *Aspidosperma australe* Müll. Arg., *A. olivaceum* Müll. Arg. e *A. pyriforme* Mart. Os frutos possuem epicarpo unisseriado, com cutícula espessa, lenticelas e periderme. Tricomas de cobertura foram encontrados somente em *A. australe*. O mesocarpo apresenta parênquima fundamental, laticíferos, feixes vasculares, ilhas de floema, esclerócitos e idioblastos com cristais prismáticos. Em *A. pyriforme*, os esclerócitos estão arranjados em grupos de diversas células e *A. olivaceum* possui laticíferos com bainha parenquimática. Em todas as espécies o endocarpo é multisseriado, mas só em *A. australe* as células são lignificadas.

No segundo capítulo foi realizado um estudo ontogenético das cápsulas de *Allamanda blanchetii* A. DC. e *Allamanda schottii* Pohl. Apesar de estas cápsulas serem tradicionalmente classificadas como loculicidas neste trabalho ficou comprovado que são, na realidade, cápsulas septicidas bivalvares. O epicarpo das duas espécies é unisseriado e possui células epidérmicas de paredes espessas, cutícula delgada e estômatos. No mesocarpo pode-se observar hipoderme colenquimática, anel esclerenquimático, parênquima fundamental, aerênquima, feixes vasculares, ilhas de floema e laticíferos. O endocarpo das duas espécies é constituído por diversas camadas de esclerócitos, que possuem disposição cruzada somente em *A. blanchetii*. Apesar de apresentarem pericarpo com muitas similaridades, foi possível constatar que somente *A. blanchetii* possui aerênquima distribuído por todo o mesocarpo do fruto sendo este, portanto, um bom caráter para distinguir estas espécies.

No terceiro capítulo foi realizado um estudo ontogenético dos frutos de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae). O fruto de *P. coalita*, anteriormente chamado de folículo, na realidade é uma cápsula septicida bicarpelar, sendo cada valva originada de um único carpelo. O epicarpo, originado exclusivamente da epiderme externa do ovário, é formado por uma camada de células epidérmicas de paredes pecto-celulósicas e cutícula espessas, estômatos, lenticelas e tricomas tectores. O mesocarpo origina-se do mesofilo ovariano e é constituído por células colenquimatosas, células parenquimáticas, fibras não lignificadas, feixes vasculares bicolaterais, ilhas de floema e laticíferos. O endocarpo é formado por uma camada de esclerócitos e a deiscência da cápsula ocorre pela ruptura na região de união das folhas carpelares e na região de união dos carpelos.

No quarto capítulo, frutos maduros de *Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn., *Oxypetalum appendiculatum* Mart., *O. balansae* Malme e *O. glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquete, espécies da subfamília Asclepiadoideae, foram estudados. O pericarpo de todas as espécies é constituído por um

epicarpo unisseriado revestido por cutícula espessa, estriada somente em *B. bicuspidatum*. Todas as espécies possuem estômatos, mas tricomas de cobertura estão presentes somente em *O. appendiculatum*. Os mesocarpos das espécies estudadas são similares, pois são constituídos de parênquima fundamental, fibras, laticíferos, feixes vasculares, ilhas de floema e aerênquima. As fibras possuem paredes espessas e sem lignina, achatadas em *O. glaziovii* ou arredondadas nas demais espécies. Idioblastos com cristais do tipo drusa estão presentes somente no mesocarpo de *O. appendiculatum*. Todas as espécies apresentam endocarpo lignificado uni ou bisseriado.

No quinto e último capítulo, sementes maduras de *Allamanda blanchetii* A. DC., *Malouetia arborea* (Vell.) Miers, *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry e *Tabernaemontana arborea* Rose foram estudadas. Mesmo possuindo morfologia variada estas sementes apresentam diversas características comuns, como envoltório único repleto de compostos fenólicos, endosperma e cotilédones dorsiventrals. Como a camada mecânica localiza-se na exotesta, todas as sementes são exotestais, sendo que somente *M. arborea* possui a exotesta multisseriada. As principais substâncias de reserva encontradas foram proteínas e carboidratos. As proteínas, à exceção de *M. arborea*, ocorrem na forma de corpos protéicos; já os carboidratos, apresentaram-se na forma de polissacarídeos de parede celular, novamente com exceção para *M. arborea* que os reserva na forma de grãos de amido. Finalmente, a única espécie com reserva lipídica significativa foi *T. arborea*, na forma de pequenas gotas presentes no endosperma.

## ABSTRACT

This paper had as objective contribute for the knowledge of Apocynaceae by a morph-anatomic survey data from fruits and seeds from species of the family. On this study, 13 species present in Brazil and distributed in three of the five families currently described, were included. Flowers, fruits and seeds in many development levels were collected, fixed and submitted to anatomy usual techniques.

In the first chapter *Aspidosperma australe* Müll. Arg., *A. olivaceum* Müll. Arg. and *A. pyriforme* Mart. ripe fruits were studied. The fruits have uniseriate epicarp with thick cuticle, lenticels and periderm. Cover trichomes were found only in *A. australe*. The mesocarp presents fundamental parenchyma, laticifers, vascular bundles, sclereids and idioblasts with prismatic crystals. In *A. pyriforme*, the sclereids are arranged in groups of a variety of cells and *A. olivaceum* has laticifers with parenchymatic sheath. All species have multiseriate endocarp but only in *A. australe* the cells are lignified.

In the second chapter an ontogenetic study of the *Allamanda blanchetii* A. DC. and *Allamanda schottii* Pohl capsules was made. Despite the fact these capsules has been traditionally classified as loculicidal, on this paper it was verified that they are, really, septicidal bicarpelares capsules. The epicarp of both species is uniseriate and has thick-walled epidermal cells, thin cuticle and stomata. In the mesocarp we can observe collenchymatic hypodermis, sclereids ring, fundamental parenchyma, aerenchyma, vascular bundles, islands of phloem and laticifers. The endocarp of both species is formed by several layers of sclereids, which have crossed arrangement only in *A. blanchetii*. Dispite they present pericarp with many similarities, it was possible to see that only *A. blanchetii* has aerenchyma distributed throughout the mesocarp of the fruit and, so, this is a good characteristic to distinguish the species.

In the third chapter an ontogenetic study of the *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae) fruits was made. The fruit of *P. coalita*, previously called follicle, is a septicidal bicarpelar capsule, each valve provided by a single carpel. The epicarp, originated exclusively from the external epidermis of the ovary, is formed by one layer of epidermal cells with thick cuticle, stomata, lenticels and cover trichomes. The mesocarp is originated from the ovarian mesophyll and is made by collenchymatic cells, parenchyma cells, not-lignified fibers, bicolaterals vascular bundles, islands of phloem and laticifers. The endocarp is formed by a layer of sclereids and the dehiscence of the capsule occurs due to the rupture in the region of the leaves carpels union.

In the fourth chapter ripe fruits of *Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn., *Oxypetalum appendiculatum* Mart., *O. balansae* Malme and *O. glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquete, species of the subfamily Asclepiadoideae, were studied. The pericarp of all species is formed by a uniseriate epicarp covered by a thick cuticle, striated only at *B. bicuspidatum*. All the species have stomata, but cover trichome are present only at *O. appendiculatum*. The mesocarps of all species are very similar, because they are formed by fundamental parenchyma, fibers, laticifers vascular bundles, islands of phloem and aerenchyma. The fibers have thick walls and without lignin, flattened in *O. glaziovii* or

rounded in other species. Idioblasts with crystals of the druse type are present only in the mesocarp of *O. appendiculatum*. All species have uni or bisseriate lignified endocarp.

In the fifth chapter ripe seeds of *Allamanda blanchetii* A. DC., *Malouetia arborea* (Vell.) Miers, *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry and *Tabernaemontana arborea* Rose were studied. All have single seed-coat, embryo and endosperm. The seeds are exotestals and in the testa cells are phenolic compounds. Only *M. arborea* presents multisseriate exotesta. In all species, the cotyledon is dorsiventral. The main store substances found were proteins, normally forming protein bodies, being detected in the cotyledon and endosperm of all studied species. Starch was detected only in the cotyledons and endosperm of *M. arborea* and the aril of *T. arborea*. Lipid bodies were also observed in *T. arborea*.

## INTRODUÇÃO GERAL

### Família Apocynaceae

A família Apocynaceae foi estabelecida por Adanson em 1768 sob o nome de Apocyna, a qual englobava Apocynaceae e Asclepiadaceae como uma única família (Tournefort 1694). 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. Logo após, Brown (1810) considerou estas duas famílias separadamente baseando-se na presença de um translador em Asclepiadeae (Asclepiadaceae) e ausência deste em Apocineae (Apocynaceae), sendo tal proposta aceita e implementada. 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 e glicosídeos cardiotônicos.

Nas últimas décadas, com o advento da biologia molecular, uma nova fonte de dados foi disponibilizada para os taxonomistas a fim de verificar a estabilidade das classificações tradicionais propostas para as diversas famílias de Angiospermas (Chase *et al.* 1993; Doyle *et al.* 1994; APG 2003).

O primeiro estudo filogenético para Apocynaceae *sensu lato* foi o de Sennblad & Bremer (1996) que, ao estudarem gêneros de Apocynaceae e Asclepiadaceae, verificaram uma proximidade filogenética entre as famílias, demonstrando a artificialidade das classificações propostas até o momento para Apocynaceae *sensu stricto*. Esta proximidade já havia sido observada por Chase *et al.* (1993) e por Judd *et al.* (1994) ao estudarem as relações filogenéticas existentes entre diferentes famílias de Angiospermas.

Com base nas novas propostas de relacionamento filogenético entre Apocynaceae e Asclepiadaceae, Endress & Bruyns (2000) corroboraram com a união das duas famílias em Apocynaceae *sensu lato* e sugeriram a divisão da família em cinco subfamílias: Rauvolfioideae Kostel, Apocynoideae Burnett., Periplocoideae R. Br. ex Endl., Secamonoideae Endl. e Asclepiadoideae R. Br. ex Burnett.

Apocynaceae *sensu lato* tornou-se, então, uma das maiores e mais representativas famílias de Angiospermas, contendo em seus limites atuais cerca de 400 – 480 gêneros e 4.300 – 4.800 espécies com distribuição pantropical e em climas temperados (Albers & Meve 2001; Potgieter & Albert 2001; APG 2003), incluindo espécies de diversos hábitos, como árvores, arbustos, subarbustos, lianas e ervas (Judd *et al.* 2002; Kinoshita 2005; Simpson 2007).

Dentre as espécies pertencentes à família, algumas se destacam pelo grande potencial econômico na produção de madeiras, como as perobas (Rizzini & Mors 1976), na produção de borracha, como *Funtumia elastica* Stapf (Metcalf & Chalk 1983), como fonte de fibras na fabricação de cordas e papel (Marquete 2003), como fonte de óleo (*Aspidosperma polyneuron* Müll. Arg.) utilizado para lustrar e preservar móveis (Ribeiro *et al.* 1999) ou como fonte de látex utilizado para calafetar canoas e embarcações, bem como na caiação de palafitas (Prance & Silva 1975; Falcão & Lleras 1981; Cavalcante 1991).



Outras espécies apresentam grande importância medicinal, como *Catharanthus roseus* L., da qual são extraídas a vincristina e a vinblastina, utilizadas no tratamento do câncer (Souza & Lorenzi 2008), *Calotropis procera* (Ailton) W. T. Ailton, com propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana, analgésica e espermicida (Kamath & Rana 2002), *Vincetoxicum officinale* Moench com propriedades laxativas, diuréticas e antitumorais (Nowak & Kisiel 2000), *Holarrhena antidysenterica* Wall., usada no controle da disenteria amebiana, *Aspidosperma quebracho blanco* Schlecht usada como fonte de remédios anti-febris e como cardiotônicos (Metcalf & Chalk 1965) e espécies do gênero *Strophantus* DC., com propriedades cardiotônicas devido ao glicosídeo estrofandrina (Schultz 1990). Além disto, outras espécies, como *Mandevilla pohliana* (Staldelm.) A. H. Gentry e *Tabernaemontana catharinensis* A. DC., podem ser utilizadas no tratamento de picadas de cobras venenosas (Calixto *et al.* 1985; Calixto & Yunes 1986; Batina *et al.* 1999).

Diversas espécies são cultivadas como ornamentais devido ao seu valor paisagístico, como espécies de *Mandevilla* Lindl. (Almeida *et al.* 1988), de espírradeira (*Nerium oleander* L.), do chapéu-de-napoleão (*Thevetia peruviana* K. Schum.), do jasmim-manga (*Plumeria* Tourn. ex L.), de *Allamanda* L. (Souza & Lorenzi 2008), da flor-de-cera (*Hoya* R. Br.) e da flor-estrela (*Stapelia hirsuta* L.) (Ollerton & Liede 1997; Endress 1998).

Além disto, existem diversas espécies, como a mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), pepino-doce (*Ambelania acida* Aubl.), o amapazeiro [*Parahancornia amapa* (Huber) Ducke], o pequiá (*Macoubea guianensis* Aubl.), o tucujá [*Lacmellea arborescens* (Müll. Arg. ex Mart.) Markgr.], a sorva [*Couma utilis* (Mart.) Müll. Arg.] e a *Rhigospira quadrangularis* (Müll. Arg.) Miers, cujos frutos são comestíveis e usados na fabricação de sucos, compotas e licores (Monachino 1945; Hoene 1946; Falcão & Lleras 1981; Almeida *et al.* 1988; Cavalcante 1991; Costa *et al.* 2005; Falcão *et al.* 2003; Nogueira *et al.* 2003).

## **Frutos e Sementes**

Um dos maiores problemas no estudo de frutos e sementes é a escassa literatura específica sobre o assunto e, no caso de frutos, a grande confusão nas terminologias utilizadas. Características anatômicas de frutos e de sementes têm sido sempre negligenciadas em estudos sistemáticos porque são tecnicamente difíceis de serem investigadas (Bobrov *et al.* 2005), no entanto elas podem ter uma grande importância em trabalhos taxonômicos (Hutchinson 1969), devido à pequena plasticidade fenotípica exibida pelos órgãos (Von Teichman & Van Wyk 1991) e ao grande número de dados morfoanatômicos que podem revelar.

Em algumas famílias, como em Himantandaceae (Doweld & Shevryyova 1998), Anacardiaceae (Carmello-Guerreiro & Paoli 2005), Clusiaceae (Mourão & Beltrati 2000), Melastomataceae (Clausing *et al.* 2000), Scrophulariaceae (Juan *et al.* 2000), Alstroemeridaceae (Sanso & Xifreda 2001), Asteraceae (Pak *et al.* 2001), Apocynaceae (Potgieter & Albert 2001), Aizoaceae, Gisekiaceae, Molluginaceae (Hassan *et al.* 2005), Chenopodiaceae (Shepherd *et al.* 2005) e

Sapindaceae (Weckerle & Rutishauser 2005), estes caracteres são decisivos no reconhecimento de determinados grupos e até na identificação de espécies. Além da importância taxonômica, é inegável a validade dos dados morfo-anatômicos de frutos e sementes para análises ecológicas e filogenéticas (Simpson 1993).

Características morfológicas de frutos e sementes possuem grande importância na taxonomia da família Apocynaceae, pois são utilizadas na identificação dos diversos clados presentes na família (Endress & Bruyns 2000). Esta importância deve, principalmente, à grande variedade morfológica apresentada por estes órgãos na família.

Os frutos podem ser bacáceos, como os de *Hancornia speciosa* Gomes (Koch & Kinoshita 1999; Kinoshita & Simões 2005), drupáceos, como os de *Rauvolfia sellowii* Müll. Arg. (Koch 2002, 2005), capsulares, como os presentes nos gêneros *Allamanda* L. (Sakane & Shepherd 1986) e *Plectaneia* Thou. (Endress & Bruyns 2000), foliculares carnosos, como os de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Aguiar 2003), ou foliculares secos, como os presentes em espécies das subfamílias Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (Endress & Bruyns 2000).

Já as sementes podem ser nuas, como as de *Hancornia speciosa* Gomes (Simões & Kinoshita 2002), ariladas, como as de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Aguiar 2003), aladas, como as de *Aspidoperma* spp. (Marcondes-Ferreira 2005) ou comosas, como as presentes em espécies das subfamílias Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (Endress & Bruyns 2000).

Esta grande variedade fez com que Potgieter & Albert (2001) realizassem um trabalho onde as características dos propágulos (frutos e sementes) e os dados de biologia molecular foram utilizados para investigar as relações filogenéticas existentes na família Apocynaceae. Neste trabalho, os autores ressaltam a importância de estudos morfoanatômicos de frutos e sementes para a família, além de enfatizarem a escassez dos mesmos, frente à diversidade apresentada pela família.

## **JUSTIFICATIVA**

Um dos fatores mais importantes para escolha do tema desenvolvido neste trabalho foi que este representa uma continuidade do estudo de morfoanatomia de frutos e sementes de Apocynaceae realizado em minha tese de mestrado intitulada “Morfologia e ontogenia de frutos e sementes de espécies de Apocynaceae do cerrado do estado de São Paulo”. Através dos dados obtidos ficou clara a importância dos estudos morfoanatômicos em frutos e sementes de espécies da família, pois os frutos e sementes de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. e de *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr., revelaram diversos dados morfoanatômicos que puderam ser utilizados na distinção destas espécies. Estes resultados me estimularam a ampliar o estudo para abranger mais espécies das diferentes subfamílias encontradas no Brasil. A experiência adquirida aliada a necessidade de mais estudos com representantes da família me entusiasmaram a propor um projeto de doutorado, com o objetivo central de estudar diferentes frutos e sementes de espécies de Apocynaceae, cujo desfecho culminou na

presentes tese.

Outro fator importante para o desenvolvimento desta tese é que ela está inserida em uma ampla pesquisa, realizada no Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UNICAMP e liderada pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Luiza Sumiko Kinoshita, especialista na família, a qual tem por objetivo estudar aspectos taxonômicos, florísticos, morfoanatômicos e filogenéticos de espécies Brasileiras da família Apocynaceae. Os dados morfoanatômicos produziram diversas teses (Rio 2001; Aguiar 2003; Simões 2004; Demarco 2005; Gomes 2006; Rio 2006; Demarco 2008; Marasca 2008; Martins 2008) e vários trabalhos científicos (Rio *et al.* 2002; Rio *et al.* 2005; Demarco *et al.* 2006; Simões *et al.* 2006; Simões *et al.* 2007; Gomes 2008; Aguiar *et al.* 2009).

Além disto, parte desta tese esteve vinculada ao projeto temático intitulado “Estudos morfológicos, anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais em plantas de cerrado (*sensu lato*) do Estado de São Paulo” (Biota/FAPESP proc. n<sup>o</sup> 00/1249-3), que reuniu pesquisadores de vários centros de pesquisa e Universidades Estaduais Paulistas, cujo objetivo foi estudar espécies de diferentes famílias de Angiospermas, incluindo Apocynaceae.

Mesmo existindo alguns trabalhos relacionados à morfoanatomia de frutos (Tabela 1) e sementes (Pearson 1948; Khan 1970; Corner 1976; Aguiar 2003 e Souza *et al.* 2004) em espécies de Apocynaceae, eles são poucos frente a riqueza de espécies e diversidade de frutos e sementes apresentada pela família. Além disto, a maioria das espécies contempladas nestes trabalhos não ocorre na flora brasileira. Estima-se a ocorrência de 95 gêneros e 850 espécies de Apocynaceae no Brasil (Souza & Lorenzi 2008), sendo, portanto, uma família muito representativa nos biomas brasileiros (Barroso 1991). 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 presente trabalho teve por objetivo contribuir para o conhecimento de Apocynaceae, por meio do levantamento de caracteres morfoanatômicos presentes em frutos e sementes de espécies ocorrentes no Brasil. As espécies contempladas neste estudo foram: *Allamanda blanchetii* A. DC., *Allamanda schottii* Pohl., *Aspidosperma australe* Müll. Arg., *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg., *Aspidosperma pyriformium* Mart., *Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn., *Malouetia arborea* (Vell.) Miers, *Mandevilla pohliana* (Mart. Ex Stadelm.) A. H. Gentry, *Oxypetalum appendiculatum* Mart., *Oxypetalum balansae* Malme, *Oxypetalum glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquete, *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson e *Tabernaemontana arborea* Rose.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- estudar as características anatômicas presentes no pericarpo de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. para levantar caracteres que sejam importantes na distinção das espécies e como subsídios para futuros

trabalhos taxonômicos e filogenéticos em Apocynaceae (Capítulo 1)

- caracterizar, através de estudos ontogenéticos, os frutos de *Allamanda blanchetii* A. DC. e *Allamanda schottii* Pohl, além de levantar dados anatômicos do pericarpo que possam ser utilizados na distinção das duas espécies (Capítulo 2)
- descrever, através de estudos ontogenéticos, as camadas do pericarpo e caracterizar morfológicamente os frutos de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Capítulo 3)
- realizar um estudo dos caracteres anatômicos presentes em frutos de espécies da subfamília Asclepiadoideae que possam auxiliar na distinção das espécies e no conhecimento da subfamília (Capítulo 4)
- descrever a anatomia e caracterizar os tipos de substâncias de reserva presentes em sementes maduras de *Allamanda blanchetii* A. DC., *Malouetia arborea* (Vell.) Miers, *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry e *Tabernaemontana arborea* Rose, como uma contribuição ao conhecimento de Apocynaceae (Capítulo 5)

## APRESENTAÇÃO DA TESE

A tese está dividida em 5 capítulos redigidos na forma de artigos científicos seguindo a maioria das normas da revista Acta Botanica Brasilica. Os quatro primeiros capítulos tratam de estudos com frutos, sendo que no 1º e no 2º foram contempladas espécies da subfamília Rauvolfioideae, no 3º uma espécie de Apocynoideae e no 4º espécies de Asclepiadoideae. Já o 5º e último capítulo, foram estudadas sementes de representantes de Rauvolfioideae e Apocynoideae.

**Capítulo 1:** A importância da anatomia de frutos na distinção de espécies de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae)

**Capítulo 2:** Morfoanatomia e ontogênese na caracterização dos frutos *Allamanda blanchetii* A. DC. e *Allamanda schottii* Pohl (Apocynaceae)

**Capítulo 3:** Ontogenia e estrutura do pericarpo na caracterização dos frutos de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae)

**Capítulo 4:** Anatomia de frutos em Asclepiadoideae (Apocynaceae)

**Capítulo 5:** Anatomia e histoquímica em sementes de Apocynaceae

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

Subfamília	Tribo	Espécies estudadas
Rauvolfioideae Kostel.	<b>Aspidospermeae</b> Miers	<i>Aspidoperma polyneuron</i> Müll. Arg. (Souza & Moscheta 1992) e <i>Aspidosperma parvifolium</i> A. DC. (Gomes 2008)
	<b>Alstonieae</b> G. Don	<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R. Br. (Thomas & Dave 1994)
	<b>Vinceae</b> Duby	<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)
	<b>Willughbeieae</b> A. DC.	-----
	<b>Tabernaemontaneae</b> G. Don	<i>Tabernaemontana catharinensis</i> A. DC. (Aguiar 2003)
	<b>Alyxieae</b> G. Don	-----
	<b>Hunterieae</b> Miers	-----
	<b>Plumerieae</b> E. Mey.	-----
Apocynoideae Burnett.	<b>Carisseae</b> Dumort.	-----
	<b>Wrightieae</b> G. Don	<i>Wrightia tinctoria</i> R. Br. e <i>Wrightia tomentosa</i> Roem. & Schult. (Thomas & Dave 1994)
	<b>Nerieae</b> Baill.	<i>Nerium oleander</i> L. (Thomas & Dave 1991) e <i>Strophanthus wallichii</i> A. DC. (Thomas & Dave 1994)
	<b>Apocyneae</b> Rchb.	<i>Aganosma caryophyllata</i> G. Don, <i>Ichnocarpus frutescens</i> R. Br. e <i>Vallis solanacea</i> Kuntze (Thomas & Dave 1994)
	<b>Odontadenieae</b> Miers.	-----
	<b>Mesechiteae</b> Miers.	<i>Mesechites mansoana</i> (A. DC.) Woodson (Gomes 2008)
	<b>Echiteae</b> G. Don	<i>Parsonia spiralis</i> Wall. (Thomas & Dave 1994), <i>Prestonia riedelii</i> (Müll. Arg.) Markgr. (Aguiar <i>et al.</i> 2009) e <i>Prestonia coalita</i> (Vell.) Woodson (Gomes 2008)
	<b>Baisseeae</b> (Pichon ex De Kruif) M. E. Endress	-----
<b>Periplocoideae</b> R. Br. ex Endl.	<i>Cryptolepis buchananii</i> Roem. & Schult. e <i>Hemidesmus indicus</i> R. Br. (Dave & Kuriachen 1991) e <i>Cryptostegia grandiflora</i> Roxb. ex R. Br. (Thomas 1989 <i>apud</i> Dave & Kuriachen 1991)	
<b>Secamonoideae</b> Endl.	-----	
<b>Asclepiadoideae</b> R. Br. ex Burnett.	<b>Fockeeae</b> Kunze, Meve & Liede	-----
	<b>Marsdenieae</b> Benth.	<i>Gymnema sylvestre</i> R. Br., <i>Marsdenia tenacissima</i> Wight & Arn. e <i>Wattakaka volubilis</i> Stapf (Kuriachen <i>et al.</i> 1992)
	<b>Ceropegieae</b> Decne. ex Orb.	<i>Ceropegia bulbosa</i> Roxb. e <i>Leptadenia reticulata</i> (Retz.) Wight & Arn. (Kuriachen <i>et al.</i> 1992)
	<b>Asclepiadeae</b> (R. Br.) Duby	<i>Araujia hortorum</i> E. Fourn. (Castro 1986), <i>Asclepias curassavica</i> L. (Souza <i>et al.</i> 2004), <i>Calotropis gigantea</i> W. T. Ailton, <i>Calotropis procera</i> (Ailton) W. T. Ailton, <i>Tylophora daizellii</i> Hook. f. e <i>Tylophora indica</i> Merr. (Kuriachen <i>et al.</i> 1992)

## Capítulo 1

### A importância da anatomia de frutos na distinção de espécies de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae)<sup>1</sup>

Shesterson Aguiar<sup>2</sup>, Sandra Maria Carmello-Guereiro<sup>2,3</sup>, Washington Marcondes-Ferreira<sup>2</sup> e Luiza Sumiko Kinoshita<sup>2</sup>

**Resumo:** O gênero *Aspidosperma* Mart & Zucc. apresenta 44 espécies de distribuição neotropical, sendo a maioria ocorrente no Brasil. Devido à grande semelhança morfológica entre os frutos de algumas espécies, o principal objetivo deste trabalho foi observar caracteres anatômicos que pudessem ser utilizados na distinção das mesmas. Frutos maduros de *A. australe* Müll. Arg., *A. olivaceum* Müll. Arg. e *A. pyriformium* Mart. foram coletados, fixados e submetidos a técnicas usuais de anatomia. As três espécies estudadas possuem frutos do tipo folicários, constituídos, na maioria das vezes, de apenas um folículo. Em todas as espécies o epicarpo é unisseriado, com cutícula espessa, lenticelas e periderme. Tricomas de cobertura estão presentes somente em *A. australe*, sendo um caráter importante para a distinção das espécies. O mesocarpo é constituído por parênquima fundamental, laticíferos, feixes vasculares, esclerócitos e idioblastos com cristais prismáticos. Os principais caracteres distintivos no mesocarpo são esclerócitos, arranjados em grupos de diversas células somente em *A. pyriformium* e os laticíferos, que possuem bainha parenquimática somente em *A. olivaceum*. O endocarpo de todas as espécies é multisseriado. Como somente *A. australe* possui as células do endocarpo lignificadas, este caráter também foi considerado importante na distinção das espécies. Desta forma, pode-se observar neste trabalho que, mesmo possuindo frutos de morfologia semelhante, *A. australe*, *A. olivaceum* e *A. pyriformium* podem ser distinguidas através de caracteres presentes no pericarpo.

**Palavras – chave:** Rauvolfioideae, *Aspidosperma australe* Müll. Arg., *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg., *Aspidosperma pyriformium* Mart., pericarpo

### Introdução

Características anatômicas de frutos têm sido sempre negligenciadas em estudos sistemáticos porque são tecnicamente difíceis de serem investigadas (Bobrov *et al.* 2005), no entanto elas podem ter uma grande importância em trabalhos taxonômicos (Hutchinson 1969). Von Teichman & Van Wyk (1991) reconheceram a importância taxonômica da morfologia dos frutos devido à pequena plasticidade fenotípica exibida pelo órgão. Potgieter & Albert (2001) utilizaram características moleculares e dos propágulos (frutos e sementes) de espécies de Apocynaceae para investigar as relações filogenéticas existentes na família. No entanto, as características sugeridas pelos autores, como esclerificação do pericarpo, espessura do exocarpo e consistência do mesocarpo foram baseadas apenas em observações morfológicas dos frutos, e não em descrições anatômicas.

Apocynaceae é uma das maiores e mais representativas famílias de Angiospermas, contendo em seus limites atuais cerca de 400 – 480 gêneros e 4.300 – 4.800 espécies com distribuição pantropical e em climas temperados (Albers & Meve 2001; Potgieter & Albert 2001; APG 2003), incluindo espécies

<sup>1</sup> Parte da tese de doutorado do primeiro autor, vinculado ao programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas

<sup>2</sup> Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Caixa Postal n° 6109, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 13083 – 970, Campinas, SP, Brasil

<sup>3</sup> Autor para correspondência: [smcg@unicamp.br](mailto:smcg@unicamp.br)

de diversos hábitos, como árvores, arbustos, subarbustos, lianas e ervas (Judd *et al.* 2002; Kinoshita 2005; Simpson 2007). Atualmente a família é dividida em 5 subfamílias (Endress & Bruyns 2000), sendo o gênero *Aspidosperma* Mart. & Zucc. pertencente à subfamília Rauvolfioideae e à tribo Aspidospermeae (Simões *et al.* 2007). O gênero apresenta 44 espécies com distribuição neotropical, ocorrendo desde o México até a Argentina, sendo a maioria das espécies ocorrentes no Brasil (Marcondes-Ferreira 2005).

Dentre as espécies pertencentes ao gênero, algumas se destacam pelo grande potencial econômico na produção de madeiras, como as perobas (Rizzini & Mors 1976) e outras apresentam grande importância medicinal, como *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlecht usada como fonte de remédios anti-febris e anti-asmáticos (Ezcurra 1981).

Os frutos, no gênero, são folículos teretos ou compressos, onde, usualmente, somente 1 dos carpelos se desenvolve (Simões & Kinoshita 2002), apresentando consistência lenhosa a coriácea (Marcondes-Ferreira 2005). Existem alguns trabalhos relacionados à anatomia de frutos em Apocynaceae (Mahran *et al.* 1967; Castro 1986; Dave & Kuriachen 1990; Kuriachen *et al.* 1990; Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Souza & Moscheta 1992; Thomas & Dave 1994; Aguiar 2003; Souza *et al.* 2004; Gomes 2008; Aguiar *et al.* 2009), mas somente Souza & Moscheta (1992) e Gomes (2008) estudaram frutos de representantes do gênero.

Segundo o especialista no gênero Washington Marcondes-Ferreira (comunicação pessoal) algumas espécies apresentam frutos muito semelhantes quanto à morfologia, sendo muito difíceis de serem distinguidos entre si. Desta forma, um estudo das características anatômicas dos frutos de espécies do gênero é de fundamental importância para auxiliar na distinção das espécies e fornecer subsídios para futuros estudos taxonômicos e filogenéticos na família, sendo, portanto, o principal objetivo do presente trabalho.

## **Materiais e métodos**

### Material Botânico

Para a realização deste trabalho foram utilizados frutos totalmente desenvolvidos, mas não abertos, de *Aspidosperma australe* Müll. Arg., *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg. e *Aspidosperma pyriformium* Mart., coletados a partir de indivíduos localizados no *Campus* da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Este estágio de desenvolvimento foi escolhido pois, em estudo prévio, observou-se que frutos maduros, ou seja, aqueles que já estavam abertos, apresentavam o pericarpo pouco diferenciado, com a maioria das células colapsadas, contribuindo pouco com caracteres anatômicos de valores diagnósticos.

Os exemplares foram identificados pelo Dr. Washington Marcondes Ferreira Neto (especialista no gênero) e os materiais testemunha foram herborizados e incorporados ao Herbário UEC (Tabela 1).

Tabela 1. Dados referentes ao material testemunha das espécies estudadas.

<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>Nome e nº do coletor</b>	<b>Data da coleta</b>	<b>Registro UEC</b>
<i>A. australe</i>	Campinas (SP) “UNICAMP”	S. M. Gomes 656	07/X/2003	142189
<i>A. olivaceum</i>	Campinas (SP) “UNICAMP”	S. M. Gomes 575	24/VI/2003	142145
<i>A. pyriformium</i>	Campinas (SP) “UNICAMP”	S. M. Gomes 564	26/II/2003	142135

### Metodologia

Os frutos coletados foram fixados em FAA (Johansen 1940) por 24 horas e colocados em bomba à vácuo para facilitar a penetração do fixador, sendo posteriormente conservados em álcool etílico 70%. Para o estudo anatômico, parte do material conservado foi incluída em resina plástica (Gerrits & Smid 1983), seccionada em micrótomo rotativo e as secções transversais e longitudinais, de 10 µm de espessura, foram coradas com azul de toluidina (O' Brien *et al.* 1964) para análise estrutural. Para a análise histológica as secções foram submetidas aos seguintes corantes e reagentes: Sudan black B (Pearse 1985) para a detecção de lipídios totais na cutícula, reagente de lugol (Johansen 1940) para a detecção de amido e floroglucina acidificada (Johansen 1940) para detecção de lignina. Algumas secções foram submetidas à luz polarizada a fim de evidenciar constituintes celulares birrefringentes, como cristais, amido e celulose (Evert 2006). Para a descrição dos resultados utilizaram-se as terminologias de Roth (1977) e de Spjut (1994).

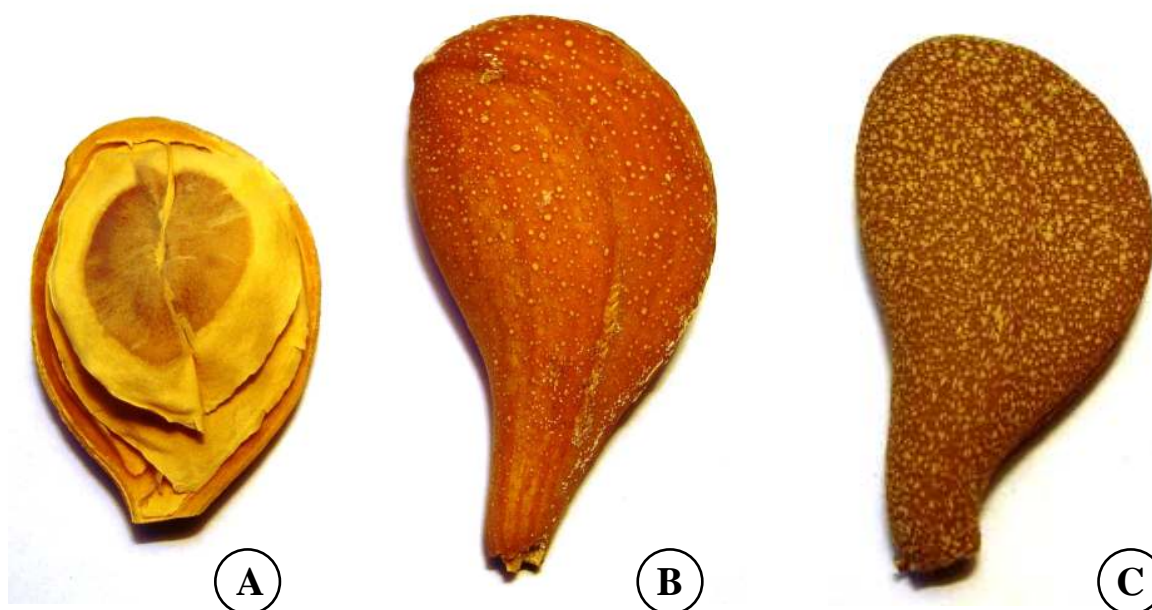
As ilustrações consistiram de esquemas, fotografias e fotomicrografias. Os esquemas das secções transversais dos frutos foram obtidos em câmara clara acoplada a estereomicroscópio. As fotomicrografias foram realizadas em microscópio Olympus BX 51 utilizando-se filme Kodak ProImage ASA 100, cujo negativo foi posteriormente escaneado para a produção de imagens digitais de alta resolução. As escalas das ilustrações foram calculadas através de lâmina micrométrica fotografada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações. As ilustrações foram utilizadas na confecção das pranchas, montadas no programa CorelDraw X3.

### **RESULTADOS**

Os frutos de *Aspidosperma australe* Müll. Arg., *A. olivaceum* Müll. Arg. e *A. pyriformium* Mart. são folicários lenhosos, com um ou, raramente, dois folículos dolabriliformes, pubérulos somente em *A. australe*. Apresentam coloração esverdeada, quando jovens, tornando-se marrons à medida que amadurecem. Todos possuem deiscência através de uma única sutura marginal, que ao se romper, faz com que o fruto forme apenas uma valva e libere diversas sementes aladas. Com base nos frutos observados no campo, pode-se perceber que poucos são constituídos de dois folículos, pois, mas na maioria dos casos, somente um frutículo se desenvolve devido ao aborto de um dos carpelos.

O pericarpo dos frutos foi dividido em três regiões estruturalmente distintas: epicarpo, mesocarpo e endocarpo. Abaixo são apresentadas, de forma separada, as principais características anatômicas dos frutos das três espécies, que estão sumarizadas na tabela 2.



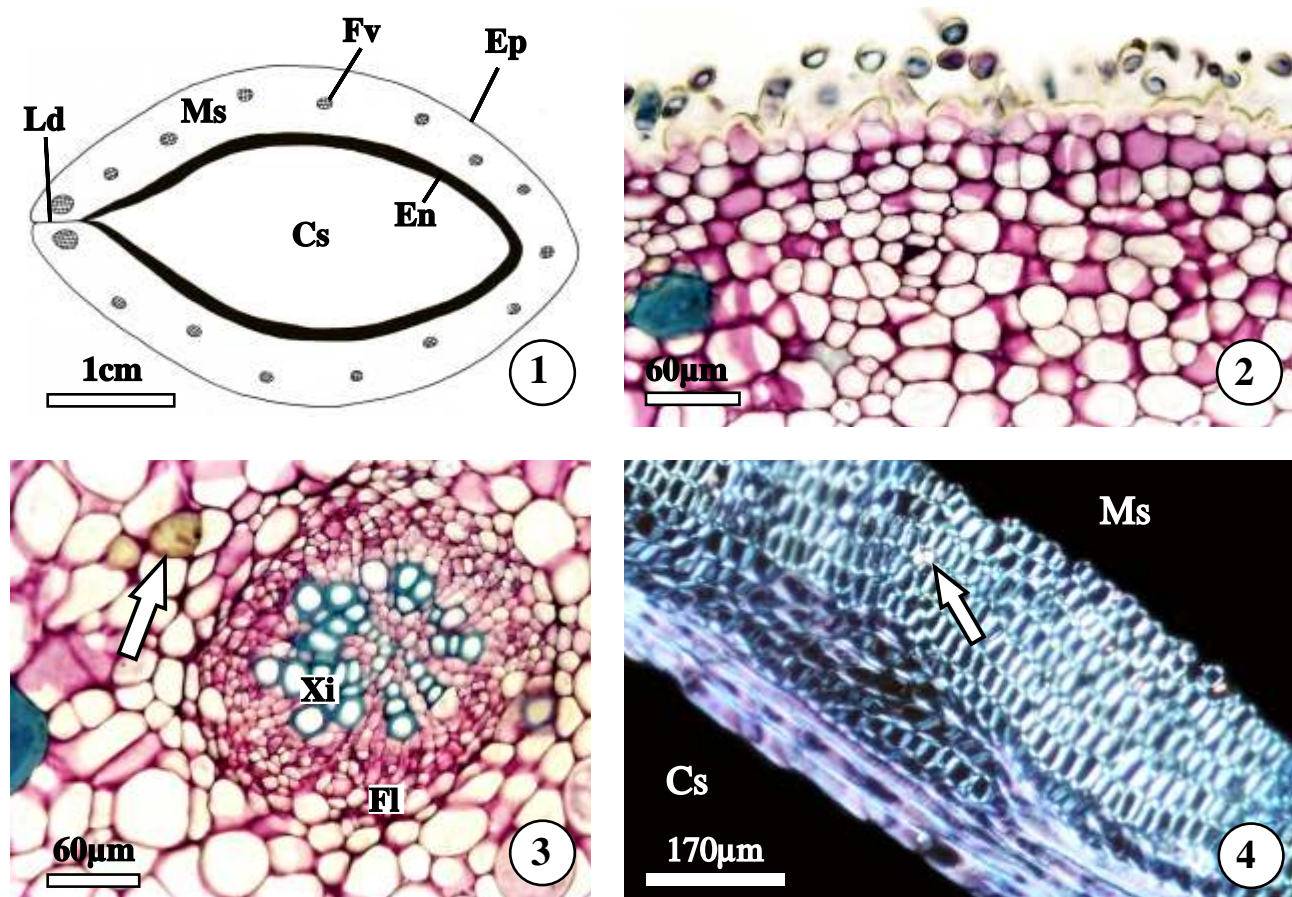


**Figuras A–C.** Frutos maduros. **A e B.** *Aspidosperma australe* Müll e . Arg. **C.** *Aspidosperma olivaceum* Mart.

### ***Aspidosperma australe* Müll. Arg.**

**Epicarpo** – formado por uma camada de células epidérmicas de paredes delgadas (Fig. 2), citoplasma de aspecto pouco denso, núcleo de posição basal e cutícula espessa, revelada no teste com Sudan black B. Tricomas de cobertura multicelulares e unisseriados, com aproximadamente 5 células (Fig. 6), e lenticelas (Fig. 5) também estão presentes no epicarpo do fruto. As lenticelas possuem células suberosas de paredes delgadas (Fig. 5) e felogênio de origem subepidérmica. Em alguns locais do fruto, observa-se a formação de uma periderme composta por células suberosas repletas de conteúdo fenólico (Fig. 5).

**Mesocarpo** – constituído por parênquima fundamental, laticíferos, esclerócitos, idioblastos cristalíferos e feixes vasculares. As células do parênquima fundamental possuem paredes pecto-celulósicas levemente espessas, sendo as localizadas próximas ao epicarpo menores que as demais (Fig. 2). Os laticíferos (Fig. 3, 8 e 10) estão distribuídos por todo o mesocarpo e formam um sistema alongado no sentido longitudinal do fruto, algumas vezes ramificado. Possuem parede pecto-celulósica ligeiramente espessa, corada em púrpura com azul de toluidina, sendo esta célula facilmente confundida com as células parenquimáticas. O látex de aspecto denso (Fig. 3, 8 e 10) é a única característica que facilita o reconhecimento desta célula. Os esclerócitos distribuem-se por todo o mesocarpo do fruto (Fig. 5, 8 e 9), ocorrendo isolados ou, raramente, em duplas e sendo freqüentes na região de deiscência (Fig. 8). Idioblastos com cristais prismáticos estão espalhados por todo o mesocarpo, ocorrendo ao redor dos esclerócitos (Fig. 9) ou próximos ao endocarpo (Fig. 7). O sistema vascular consiste de inúmeros feixes vasculares de diversos tipos, como concêntricos anficrivais (Fig. 3), colaterais (Fig. 10 e 11) e bicolaterais, que se distribuem por todo o mesocarpo (Fig. 1). Os feixes vasculares de maior calibre são os que ocorrem na região de deiscência, ficando um de cada lado da linha de deiscência.



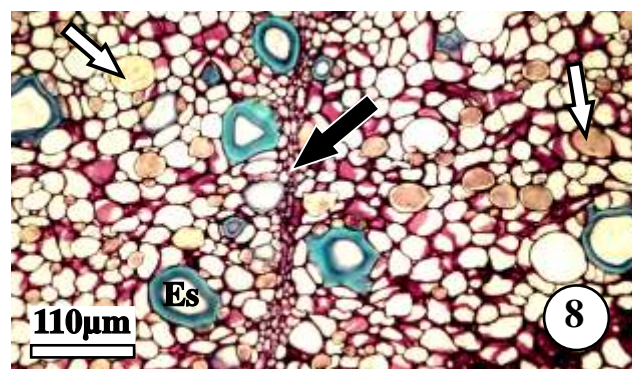
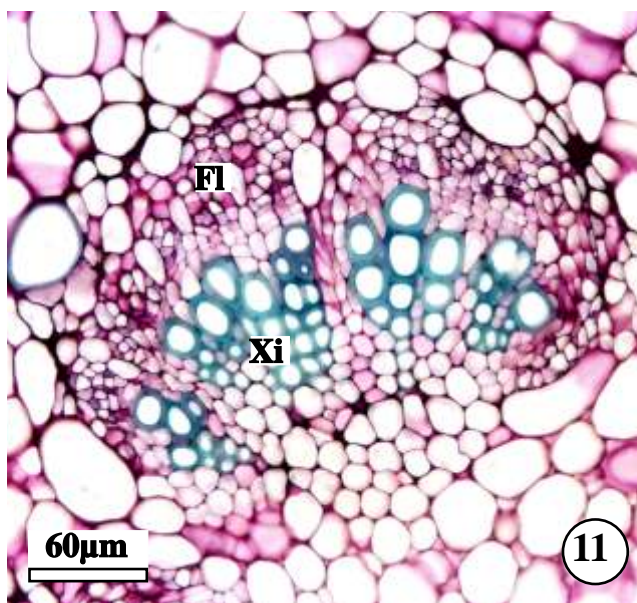
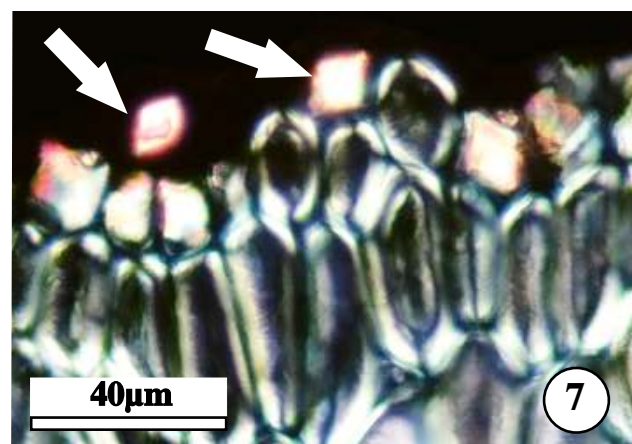
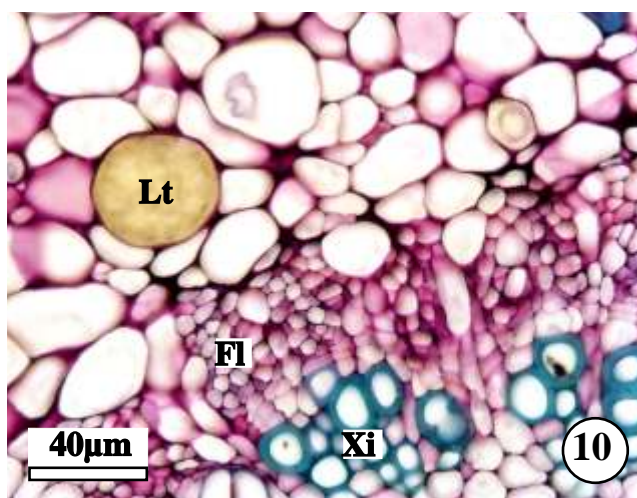
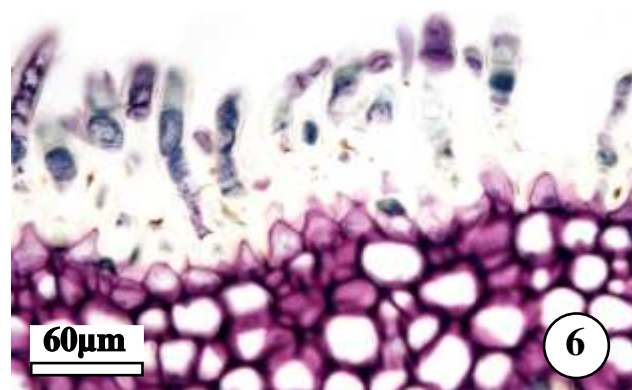
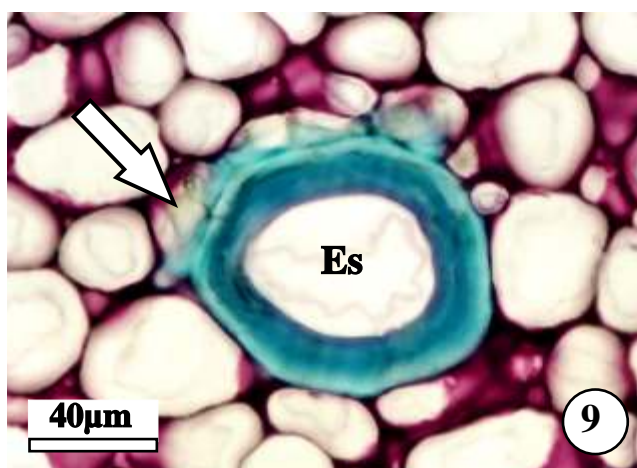
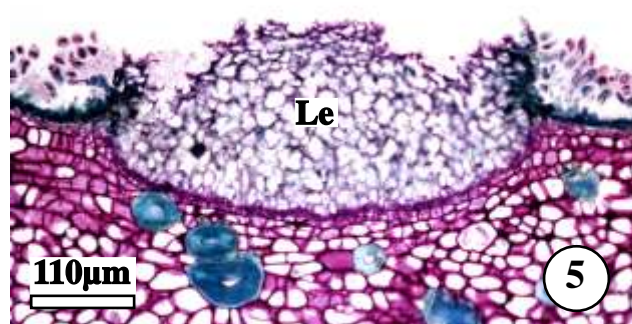
**Figuras 1 – 4.** Fruto maduro de *Aspidosperma australe* Müll. Arg. **1.** Esquema do corte transversal do fruto. **2.** Epicarpo e células parenquimáticas do mesocarpo. **3.** Feixe vascular ancircular e laticífero (seta) com conteúdo denso. **4.** Endocarpo em luz polarizada (seta = cristal prismático). Cs = cavidade seminal; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Fl = floema; Fv = feixe vascular; Ld = linha de deiscência; Ms = mesocarpo; Xi = xilema

**Endocarpo** – formado por várias camadas de esclerócitos de paredes espessas e lignificadas (Fig. 4 e 7) e de disposição cruzada. A lignificação do endocarpo é centrífuga, pois ocorre da cavidade seminal em direção ao mesocarpo. Cristais prismáticos podem ocorrer no interior dos esclerócitos (Fig. 4).

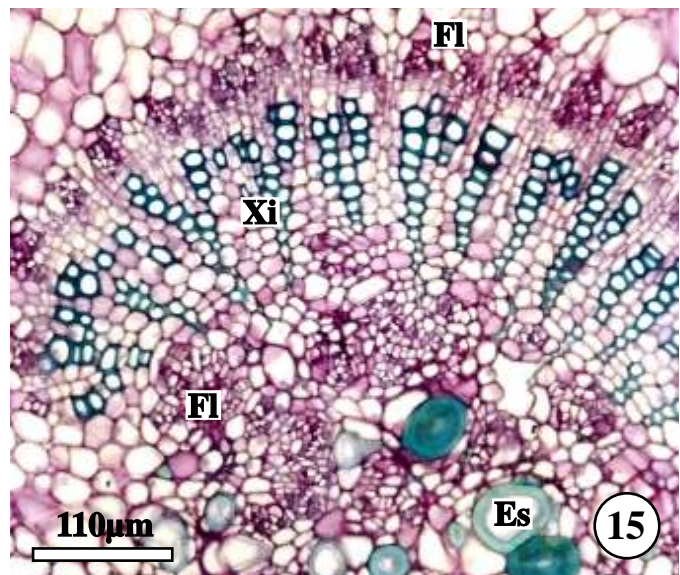
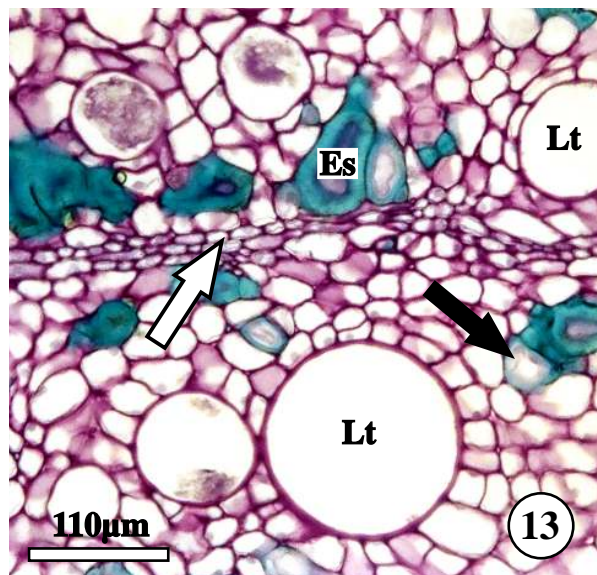
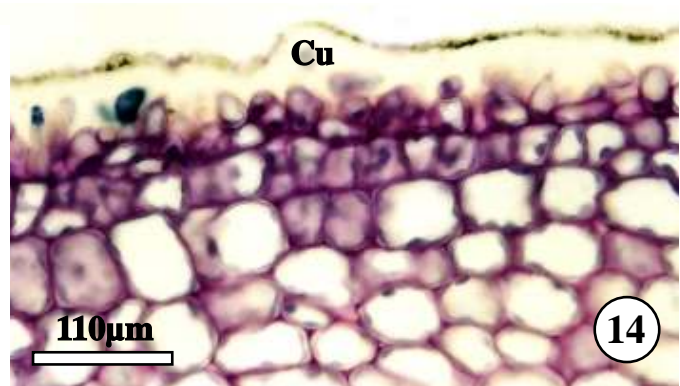
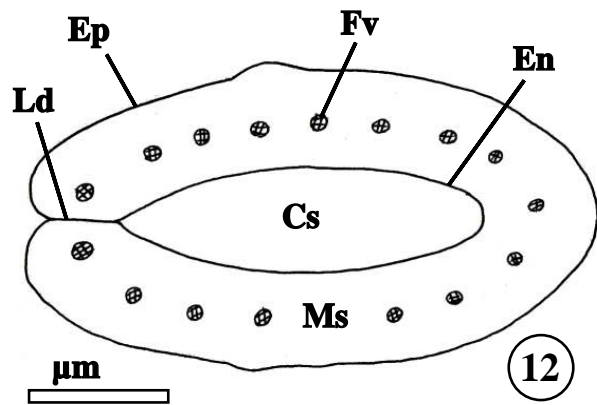
**Região de deiscência** – constituída por laticíferos, feixes vasculares, esclerócitos, parênquima fundamental e idioblastos cristalíferos (Fig. 8). A linha de deiscência é formada por duas a três camadas de células pequenas e de paredes delgadas (Fig. 8), que se estendem da cavidade seminal até o epicarpo (Fig. 1).

#### *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg.

**Epicarpo** – formado por uma camada de células epidérmicas de paredes pecto-celulósicas delgadas de arranjo frouxo (Fig. 14). A cutícula é extremamente espessa, sendo na maioria das vezes maior do que a própria célula epidérmica (Fig. 14). Lenticelas também estão distribuídas por toda a superfície do fruto (Fig. 17), e são formadas a partir do felogênio de origem subepidérmica (Fig. 16). As células suberosas da lenticela apresentam protoplasto vazio ou com conteúdo fenólico e parede celular variando de



**Figuras 5 – 11.** Secções transversais do fruto maduro de *Aspidosperma australe* Müll. Arg. **5.** Lenticela. **6.** Tricomas de cobertura no epicarpo. **7.** Esclerócitos do endocarpo e cristais prismáticos em luz polarizada (setas). **8.** Região de deiscência, com esclerócitos, laticíferos (setas brancas), células parenquimáticas, idioblastos cristalíferos e linha de deiscência (seta preta). **9.** Esclerócito de parede secundária extremamente espessa e idioblasto cristalífero com cristal prismático (seta). **10.** Feixe vascular colateral e laticífero com látex denso. **11.** Feixe vascular colateral. Es = esclerócito; Fl = floema; Le = lenticela; Lt = laticífero; Xi = xilema



**Figuras 12 – 15.** Fruto maduro de *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg. **12.** Esquema do corte transversal do fruto. **13.** Região de deiscência, com esclerócitos, laticíferos (setas brancas), células parenquimáticas, idioblastos cristalíferos (seta preta) e linha de deiscência (seta branca). **14.** Epicarpo com cutícula espessa e células parenquimáticas do mesocarpo. **15.** Feixe vascular bicolorado e esclerócitos. Cs = cavidade seminal; Cu = cutícula; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Es = esclerócito; Fl = floema; Fv = feixe vascular; Ld = linha de deiscência; Lt = laticífero; Ms = mesocarpo; Xi = xilema

delgada a espessa (Fig. 17). Observa-se também a presença de uma periderme repleta de células suberosas com conteúdo fenólico (Fig. 19).

**Mesocarpo** – constituído por parênquima fundamental e clorofiliano, laticíferos, esclerócitos, idioblastos cristalíferos e feixes vasculares. As células parenquimáticas que ocorrem logo abaixo ao epicarpo são menores, com poucos espaços intercelulares e apresentam inúmeros cloroplastos (Fig. 14, 16 e 19). Já as demais células parenquimáticas do restante do mesocarpo são maiores, sem cloroplastos, e possuem abundantes espaços intercelulares (Fig. 18). Os laticíferos são distribuídos por todo o mesocarpo e são facilmente distinguidos das demais células devido ao calibre e espessura da parede pecto-celulósica (Fig. 13, 18, 21 e 22). O látex possui aspecto pouco denso (Fig. 22), sendo composto pelo próprio protoplasto do laticífero, pois podem ser observados diversos núcleos dispersos no látex. Os laticíferos apresentam ao seu redor uma bainha parenquimática (Fig. 13 e 21), o que os torna mais

evidentes no mesocarpo. Os esclerócitos estão distribuídos por todo o mesocarpo (Fig. 13, 15, 16, 18, 20 e 23), sendo mais abundantes na região de deiscência (Fig. 13 e 20). Podem ocorrer isolados (Fig. 16 e 23), forma predominante, ou em grupos de até 5 células. Idioblastos com cristais prismáticos são raramente observados, estando sempre associados aos esclerócitos (Fig. 16 e 23). O sistema vascular consiste de inúmeros feixes vasculares dispersos por todo o mesocarpo (Fig. 12). Podem ser observados diversos tipos de feixes, como concêntricos anficrivais, colaterais e bicolaterais (Fig. 15). Próximo à linha de deiscência, observam-se dois feixes vasculares bicolaterais de maior calibre, um de cada lado da linha.

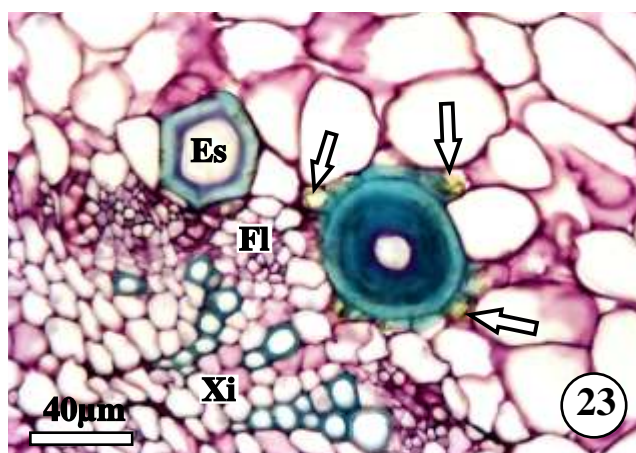
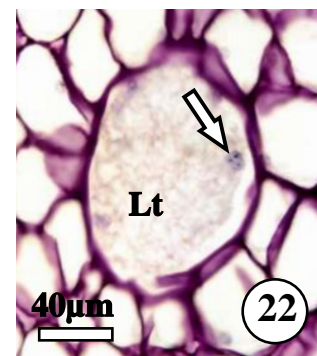
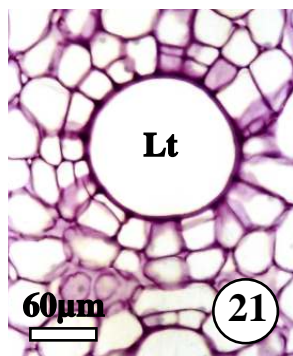
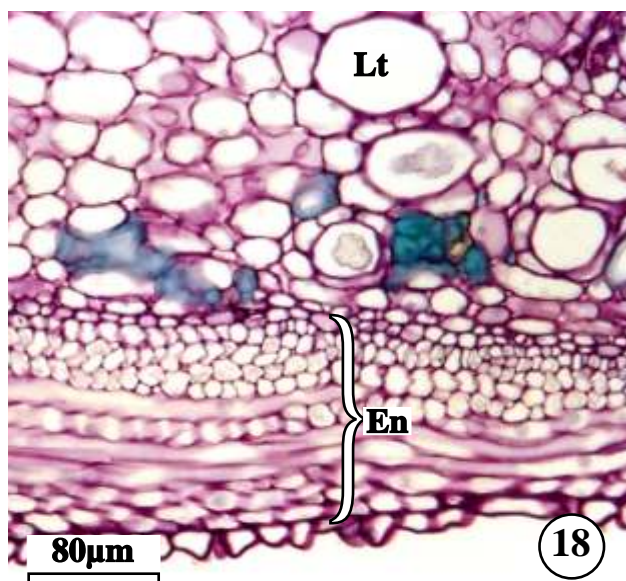
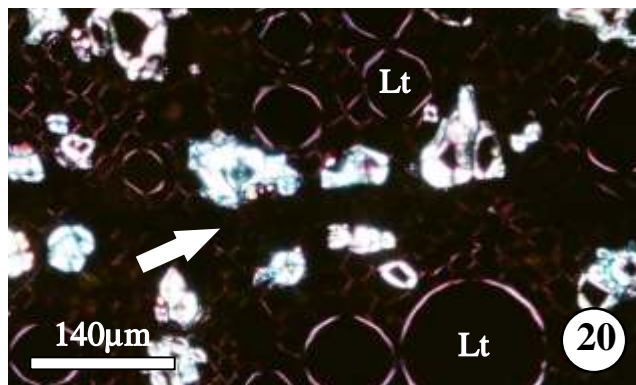
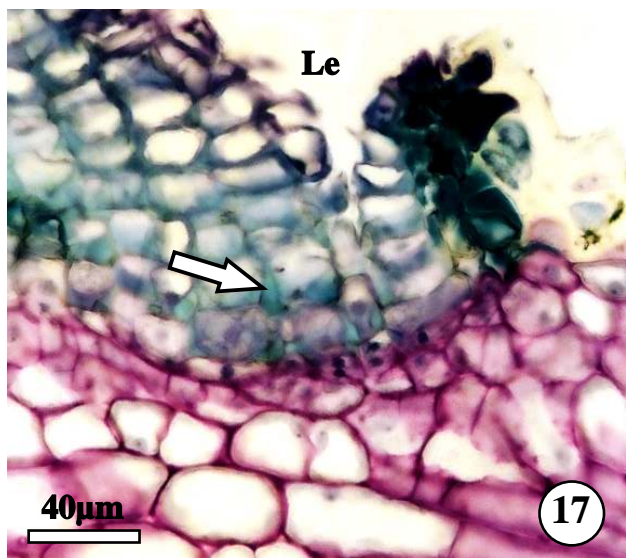
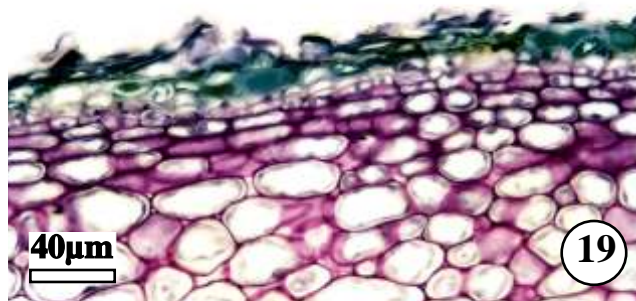
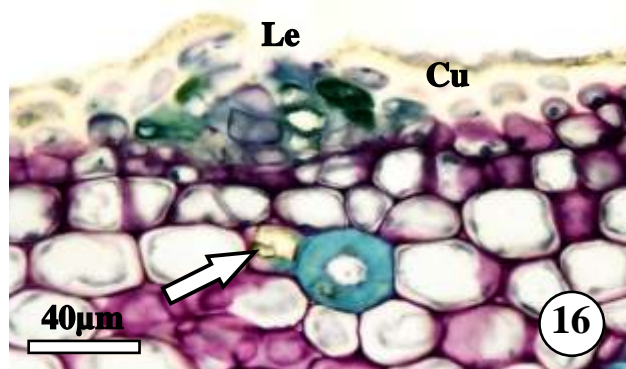
**Endocarpo** – formado por várias camadas de células de paredes ligeiramente espessas e não lignificadas (Fig. 18). A orientação das células é muito variada, pois existem células alongadas no sentido longitudinal e transversal do fruto (Fig. 18). As células do endocarpo podem ser distinguidas das do mesocarpo por não apresentarem espaços intercelulares. Uma cutícula delgada, revelada em teste com Sudan black B, recobre as células do endocarpo que se encontram em contato com a cavidade seminal.

**Região de deiscência** - Na região de deiscência são observados laticíferos, feixes vasculares, esclerócitos, células parenquimáticas e idioblastos cristalíferos (Fig. 13 e 20). A linha de deiscência é formada por duas a três camadas de células parenquimáticas pequenas e de paredes delgadas (Fig. 13), que se estendem da cavidade seminal até o epicarpo (Fig. 12).

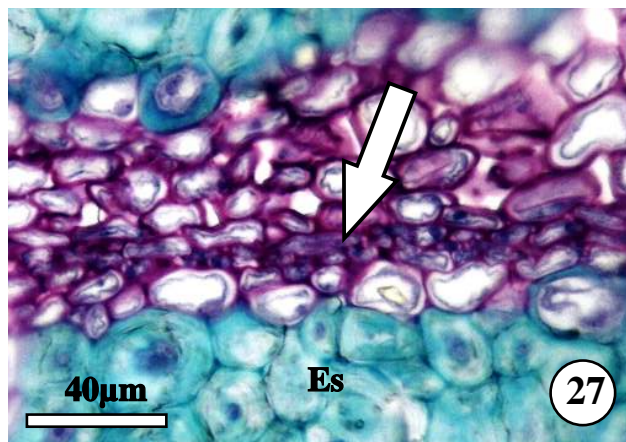
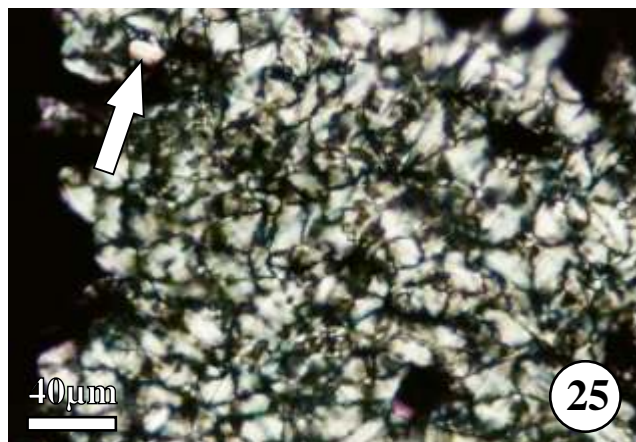
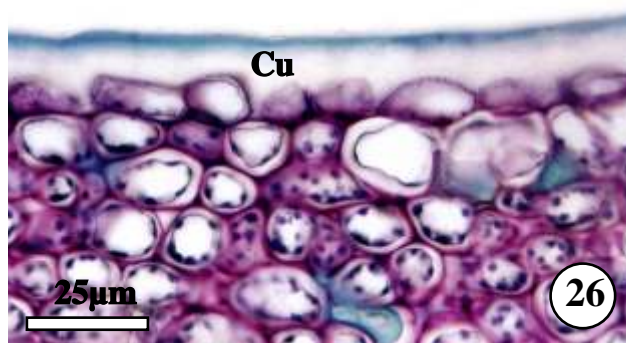
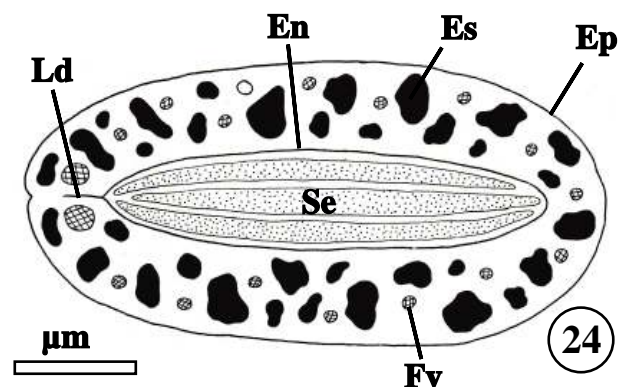
### ***Aspidosperma pyrifolium* Mart.**

**Epicarpo** – formado por uma camada de células epidérmicas de arranjo frouxo, paredes delgadas, citoplasma pouco denso e núcleo de posição basal revestidas por uma cutícula espessa (Fig. 26 e 28). Diversas lenticelas recobrem a superfície do fruto, cujas células suberosas possuem paredes delgadas e, algumas vezes, conteúdo fenólico (Fig. 31). Em alguns locais do fruto nota-se a formação de uma periderme formada por células suberosas de conteúdo fenólico e felogênio de origem subepidérmica (Fig. 30).

**Mesocarpo** – constituído por parênquima fundamental e clorofiliano, laticíferos, esclerócitos, idioblastos cristalíferos e feixes vasculares. Logo abaixo ao epicarpo são encontradas 5 a 10 camadas de células parenquimáticas pequenas, de paredes pecto-celulósicas delgadas e ricas em cloroplastos (Fig. 26 e 28). Entremeados a estas células parenquimáticas observam-se esclerócitos isolados (Fig. 28), em duplas ou grupos, além de idioblastos com cristais prismáticos (Fig. 30). As demais células parenquimáticas que formam o mesocarpo do fruto são maiores, possuem parede pecto-celulósica delgada e conteúdo pouco denso (Fig. 28), sendo que as que ficam localizadas próximo ao endocarpo apresentam abundantes espaços intercelulares (Fig. 33). Os esclerócitos também ocorrem em grupos de



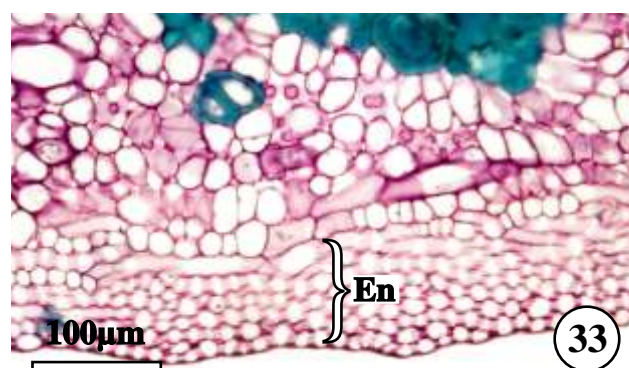
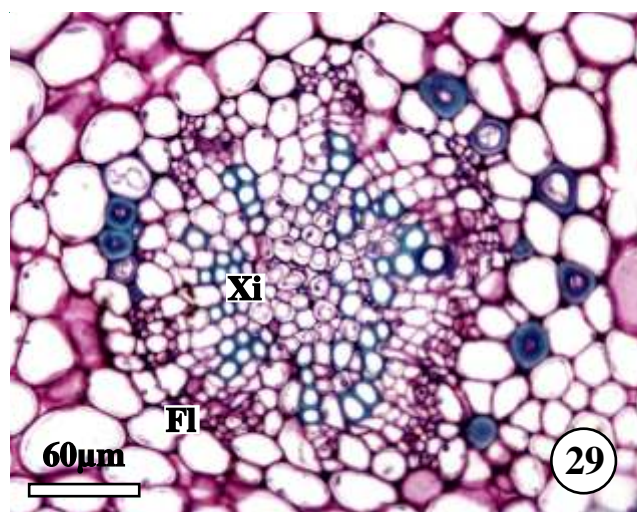
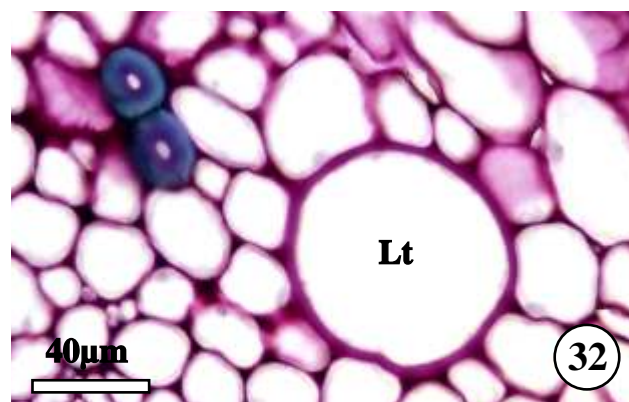
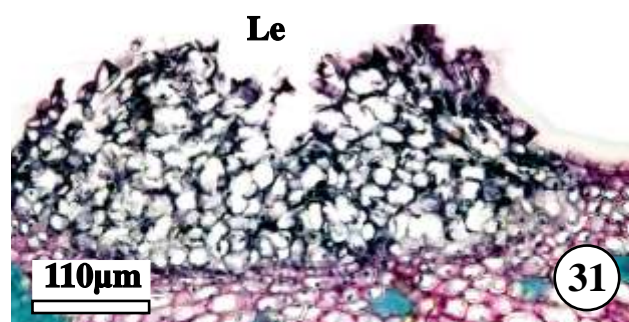
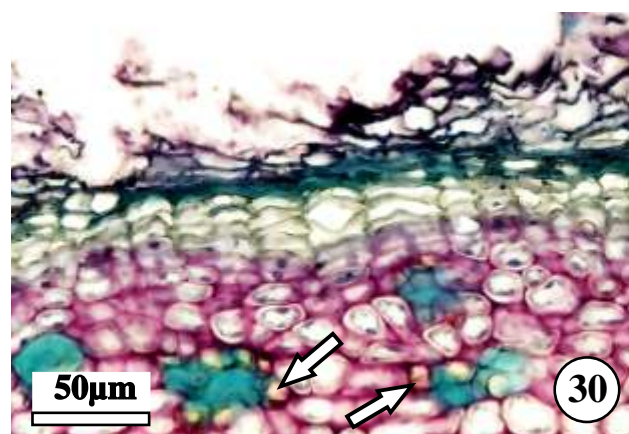
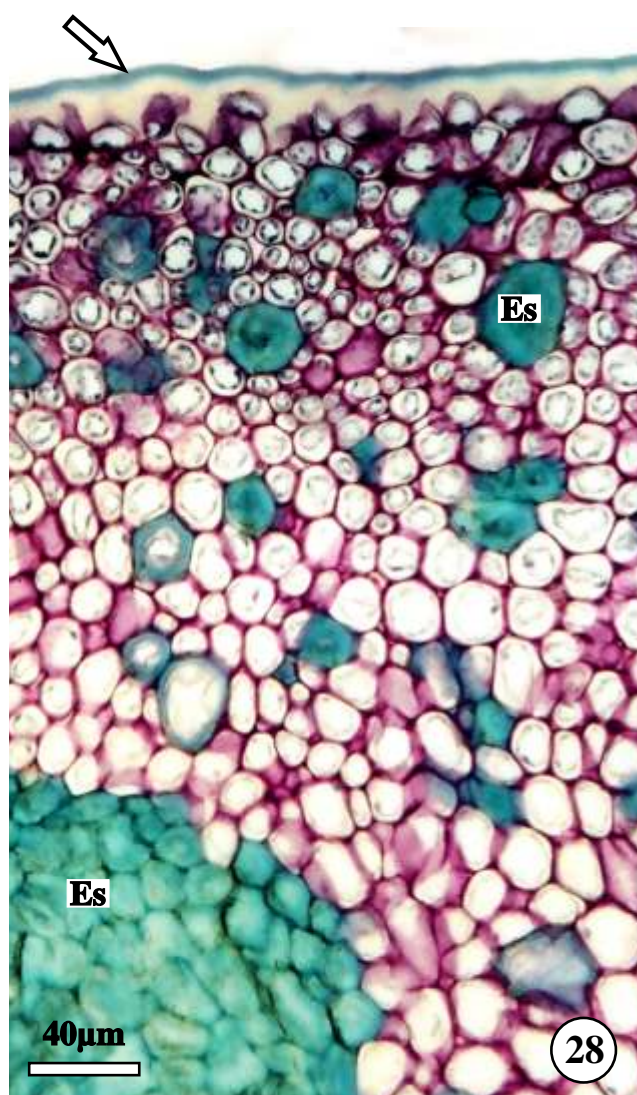
**Figuras 16 – 23.** Secções transversais do fruto maduro de *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg. **16.** Lenticela em início de formação, epicarpo com cutícula espessa, esclerócito e idioblasto cristalífero (seta). **17.** Lenticela com células de preenchimento de paredes espessadas (seta). **18.** Mesocarpo com células parenquimáticas, laticíferos e esclerócitos e endocarpo com células justapostas de disposição cruzada. **19.** Periderme repleta de compostos fenólicos e mesocarpo. **20.** Região de deiscência em luz polarizada (seta = linha de deiscência). Notar brilho proeminente nas paredes dos laticíferos e esclerócitos. **21.** Laticífero com células parenquimáticas adjacentes de disposição radial. **22.** Laticífero de conteúdo pouco denso onde nota-se núcleo (seta) com três nucléolos. **23.** Esclerócitos, idioblastos cristalíferos (setas) e feixe vascular colateral. Cu = cutícula; En = endocarpo; Es = escleréide; Fl = floema; Le = lenticela; Lt = laticífero; Xi = xilema



**Figuras 24 – 27.** Fruto maduro de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. **24.** Esquema do corte transversal do fruto. **25.** Esclerócitos do mesocarpo em luz polarizada (seta = cristal prismático). **26.** Epicarpo com cutícula espessa e células parenquimáticas do mesocarpo. **27.** Região de deiscência com esclerócitos, células parenquimáticas e linha de deiscência (seta). Cu = cutícula; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Es = esclerócito; Fv = feixe vascular; Ld = linha de deiscência; Se = semente

inúmeras células (Fig. 25, 27 e 28) e apresentam numerosas pontuações nas paredes secundárias que são extremamente espessas, deixando o lume celular extremamente reduzido ou ausente. Em alguns esclerócitos observam-se cristais prismáticos (Fig. 25). Os laticíferos estão distribuídos por todo o mesocarpo e são diferenciados das demais células parenquimáticas por serem calibrosos e apresentarem parede pecto-celulósica homogeneamente espessada (Fig. 32). Possuem formato cilíndrico e alongado no sentido longitudinal do fruto sendo, algumas vezes, ramificados. O sistema vascular consiste de inúmeros feixes vasculares dispersos por todo o mesocarpo do fruto (Fig. 24). Podem ser visualizados diversos tipos de feixes, como concêntricos anficrivais (Fig. 29), colaterais e bicolaterais. Próximo à linha de deiscência observam-se dois feixes vasculares bicolaterais de maior calibre, um de cada lado da linha (Fig. 24).

**Endocarpo** – formado por várias camadas de células de paredes delgadas e não lignificadas (Fig. 33). A orientação das células é muito variada, pois existem células alongadas no sentido longitudinal e transversal do fruto (Fig. 33). Estas células são revestidas por cutícula delgada, revelada em teste com Sudan black B. As células do endocarpo podem ser distinguidas das células parenquimáticas do mesocarpo por não apresentarem espaços intercelulares.



**Figuras 28 – 33.** Secções transversais do fruto maduro de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. **28.** Vista geral do pericarpo evidenciando cutícula espessa (seta) no epicarpo, esclerócitos e células parenquimáticas no mesocarpo. **29.** Feixe vascular concêntrico anficribral. **30.** Periderme com células repletas de conteúdo fenólico e idioblastos cristalíferos (setas) no mesocarpo. **31.** Lenticela. **32.** Laticífero de parede pecto-celulósica homogeneamente espessada. **33.** Mesocarpo, com células parenquimáticas e esclerócitos, e endocarpo. En = endocarpo; Es = esclerócito; Fl = floema; Le = lenticela; Lt = laticífero; Xi = xilema



**Região de deiscência** – constituída por células parenquimáticas, laticíferos, feixes vasculares e idioblastos cristalíferos. Os esclerócitos delimitam a linha de deiscência que é formada por células parenquimáticas pequenas e de citoplasma denso (Fig. 27), que se estende da cavidade seminal até a metade do mesocarpo, não atingindo o epicarpo (Fig. 24).

**Tabela 2** – Resumo das principais características anatômicas dos frutos de *A. australe*, *A. olivaceum* e *A. pyriforme*, estudados no presente trabalho, e de *A. polyneuron* (Souza & Moscheta 1992)

+ = presença, - = ausência, NO = não observado; e ... = dado não informado

Características anatômicas		<i>A. australe</i> Müll. Arg.	<i>A. olivaceum</i> Müll. Arg.	<i>A. pyriforme</i> Mart.	<i>A. polyneuron</i> Müll. Arg (Souza & Moscheta 1992)
Epicarpo	n <sup>o</sup> de camadas	1	1	1	1
	estômatos	NO	NO	NO	+
	lenticelas	+	+	+	+
	cutícula	+	+	+	+
	tricomas	+	-	-	-
Mesocarpo	Tipo de feixe vascular	concêntrico, colateral e biclateral	concêntrico, colateral e biclateral	concêntrico e colateral	concêntrico e colateral
	laticíferos	+	+	+	+
	linha de deiscência	+ (se estende da cavidade seminal até o epicarpo)	+ (se estende da cavidade seminal até o epicarpo)	+ (se estende da cavidade seminal até metade do mesocarpo)	+ (se estende da cavidade seminal até o epicarpo)
	esclerócitos	+ (predominantemente isolados)	+ (predominantemente isolados)	+ (predominantemente em grupos de inúmeras células)	+ (predominantemente isolados)
	idioblastos cristalíferos	+ (com cristais prismáticos)	+ (com cristais prismáticos)	+ (com cristais prismáticos)	...
Endocarpo	n <sup>o</sup> de camadas	15 a 20	10 a 15	5 a 10	multisseriado
	cutícula	-	+	+	...
	Células lignificadas	+	-	-	+

## Discussão

O presente trabalho mostra a importância da anatomia de frutos na distinção de espécies de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae). O gênero pertence à subfamília Rauvolfioideae, considerada a mais basal na família (Endress *et al.* 2007). Nesta subfamília existem vários tipos morfológicos de frutos, dentre eles bacáceos, como os de *Hancornia speciosa* Gomes (Koch & Kinoshita 1999; Kinoshita & Simões 2005), drupáceos, como os de *Rauvolfia sellowii* Müll. Arg. (Koch 2002, 2005), capsulares, como os presentes nos gênero *Allamanda* L. (Sakane & Shepherd 1986), *Plectaneia* Thou. (Endress & Bruyns 2000) e em *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Gomes 2008), foliculares carnosos, como os de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Aguiar 2003), ou secos, como os do gênero *Aspidosperma* Mart. & Zucc. Apesar do ovário de espécies do gênero *Aspidosperma* ser apocárpico e bicarpelar (Marcondes-Ferreira & Kinoshita 1996) geralmente um único folículo se desenvolve, devido ao aborto de um dos carpelos (Simões & Kinoshita 2002), fato também observado por Souza & Moscheta (1992) em *A. polyneuron* Müll. Arg. e nas três espécies estudadas neste trabalho.

A parede do fruto é dividida anatomicamente em três regiões: epicarpo, mesocarpo e endocarpo (Roth 1977). De acordo com Fahn (1990), a separação serve para facilitar a descrição anatômica, sendo

que a definição destes termos varia conforme cada autor. A maioria dos autores modernos prefere usar os termos epicarpo e endocarpo em seu sentido mais amplo (*sensu lato*), que inclui na sua formação além das epidermes externa e interna, respectivamente, também células do mesofilo ovariano (Roth 1977).

De acordo com Roth (1977) o epicarpo é usualmente unisseriado e representa a camada mais externa do pericarpo. As três espécies estudadas neste trabalho apresentam epicarpo unisseriado, da mesma forma que a maioria das espécies já estudadas na família (Mahran *et al.* 1967; Zala *et al.* 1976; Castro 1986; Kuriachen & Dave 1989; Dave & Kuriachen 1990; Kuriachen *et al.* 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Souza & Moscheta 1992; Thomas & Dave 1994; Souza *et al.* 2004; Aguiar *et al.* 2009). No entanto, a presença de epicarpo unisseriado nos frutos não é válida para todas as espécies da família, pois foi observado epicarpo multisseriado em *Tylophora dalzellii* Hook.f. (Kuriachen *et al.* 1990), *Nerium oleander* L. (Thomas & Dave 1991), além de outras (Thomas & Dave 1994), sendo que em todas estas espécies o epicarpo é considerado *sensu lato*, pois é formado por uma camada de células epidérmicas e camadas subseqüentes de células colenquimatáticas e/ou esclerenquimáticas subepidérmicas. Somente em *Aganosma caryophyllata* G. Don (Thomas & Dave 1994) observa-se epicarpo multisseriado *sensu stricto*. Souza & Moscheta (1992) encontraram epicarpo unisseriado e glabro em *A. polyneuron* e citam a presença de estômatos e inúmeras lenticelas no fruto. Neste trabalho não foram observados estômatos em nenhuma das espécies estudadas, mas todas apresentam grande quantidade de lenticelas.

Tricomas de cobertura estão presentes somente em *A. australe* sendo este um caráter de extrema importância para auxiliar na distinção das espécies aqui estudadas. A presença de tricomas de cobertura é freqüente em espécies da família, como os de *Calotropis procera* (Ailton) W. T. Ailton (Mahran *et al.* 1967; Dave & Kuriachen 1987), *Catharanthus roseus* G. Don (Zala *et al.* 1976), *Araujia hortorum* E. Fourn. (Castro 1986), *Pergularia daemia* (Forssk.) Chiov. (Kuriachen & Dave 1989), *Aganosma caryophyllata* G. Don, *Ichnocarpus frutescens* R.Br., *Wrightia tinctoria* R. Br. (Thomas & Dave 1994) e *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr. (Aguiar *et al.* 2009), tendo provável função de contribuir para a redução da transpiração. Já em *C. roseus*, *Parsonsia spiralis* Wall. e *Vallaris solanacea* Kuntze os tricomas são unicelulares (Thomas & Dave 1994).

A superfície dos frutos sempre se encontra recoberta por cutícula, sendo a sua formação influenciada por vários fatores, como luz, temperatura, dentre outros (Roth 1977). Cutícula espessa é um caráter muito comum em frutos de Apocynaceae (Mahran *et al.* 1967; Zala *et al.* 1976; Castro 1986; Kuriachen & Dave 1989; Kuriachen *et al.* 1990; Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Souza & Moscheta 1992; Kuriachen *et al.* 1993; Thomas & Dave 1994; Aguiar 2003; Souza *et al.* 2004; Aguiar *et al.* 2009) e também está presente nos frutos aqui estudados. A cutícula possui papel fundamental na diminuição da perda de água para o ambiente (Thomas & Dave 1994), sendo esta função de grande importância em *A. pyriformis*, pois esta planta está submetida a altas intensidades luminosas e a baixos índices pluviométricos, visto que é encontrada na caatinga.

As funções desempenhadas pelos estômatos nos frutos são a de controle da temperatura e controle do balanço hídrico através da evaporação (Roth 1977). Estômatos foram observados em vários

exemplares da família (Mahran *et al.* 1967; Zala *et al.* 1976; Dave & Kuriachen 1987; Kuriachen & Dave 1989; Kuriachen *et al.* 1990; Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Thomas & Dave 1994), sendo classificados como paracíticos, anomocíticos ou ciclocíticos. Dave & Kuriachen (1987) realizaram um estudo sobre o desenvolvimento de estômatos nos frutos de *C. procera* classificando os estômatos nesta espécie como perígenos. Em *A. polyneuron* (Souza & Moscheta 1992), e espécies de *Parsonsia* R. Br. e *Strophanthus* A. DC. (Thomas & Dave 1994) os estômatos são substituídos por lenticelas. Apesar de todas as espécies apresentarem lenticelas, em nenhuma delas foi possível observar, em microscopia óptica, a existência de estômatos. Segundo Roth (1977) estômatos são freqüentemente presentes na superfície dos frutos, mas são em menor número quando comparados com as folhas. A ausência de estômatos não é exclusiva da espécie estudada neste trabalho, pois já foi mencionada para outras espécies da família por Kuriachen *et al.* (1992) e por Thomas & Dave (1994). No entanto acredita-se que estudos com MEV sejam necessários para verificar a ocorrência dos estômatos nas superfícies dos frutos.

Esclerócitos foram observados no mesocarpo de *A. polyneuron* por Souza & Moscheta (1992) e nas três espécies deste trabalho. Em *A. pyriformium* eles ocorrem, predominantemente, em grupos de inúmeras células, tornando o pericarpo do fruto extremamente duro. Nas demais espécies, *A. australe* e *A. olivaceum*, os esclerócitos também são abundantes no mesocarpo do fruto, mas não formam grupos de numerosas células, tornando o mesocarpo menos rígido. A presença de grupos formados por diversos esclerócitos em *A. pyriformium* foi um caráter de grande importância na distinção das espécies estudadas neste trabalho.

Laticíferos são células (ou fileiras de células) espalhadas por todo o corpo da planta, contendo um fluido chamado látex (Esau 1965; Evert 2006), de composição química muito variada (Fahn 1979). Sua função é de proteger a planta contra herbivoria, microorganismos e também selar ferimentos (Fahn 1979, 1990; Farrell *et al.* 1991; Hunter 1994). Os laticíferos também se desenvolvem em frutos e já foram reportados em várias espécies como *Ficus carica* L. (Moraceae), *Carica papaya* L. (Caricaceae) e *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae) (Roth 1977). Na família Apocynaceae diversos trabalhos citam a presença de laticíferos em frutos (Mahran *et al.* 1967; Castro 1986; Kuriachen & Dave 1989; Kuriachen *et al.* 1990; Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Souza & Moscheta 1992; Thomas & Dave 1994; Aguiar 2003; Souza *et al.* 2004; Aguiar *et al.* 2009). Nas três espécies estudadas os laticíferos são localizados por todo o mesocarpo do fruto e apresentam parede espessa. Somente em *A. olivaceum* foi verificada bainha parenquimática ao redor dos laticíferos, caráter considerado distintivo para as espécies deste trabalho.

O endocarpo, segundo Roth (1977) pode se originar da epiderme interna do ovário (endocarpo *sensu stricto*), somente das camadas subepidérmicas do mesofilo ovariano, ou ainda da combinação de ambas (endocarpo *sensu lato*). Nas três espécies, o endocarpo é formado por várias camadas de células, mas acredita-se que somente a camada mais interna (em contato com a cavidade seminal) origina-se da epiderme interna do ovário. Aguiar *et al.* (2009) realizaram um estudo ontogenético nos frutos de *P.*

*riedelii* e concluíram que o endocarpo, bisseriado e lignificado, é formado pelo desenvolvimento da epiderme interna do ovário e por uma camada subepidérmica do mesofilo ovariano, sendo desta forma, considerado endocarpo *sensu lato*. Souza & Moscheta (1992) ao estudarem a ontogenia dos frutos de *A. polyneuron* sugerem origem epidérmica para as fibras do endocarpo. Neste trabalho, assim como observado por Aguiar *et al.* (2009), sugere-se que as células do endocarpo das três espécies tenham origem mista, ou seja, da epiderme ovariana e de camadas sub-epidérmicas, sendo desta forma, um endocarpo *sensu lato* segundo Roth (1977). Das três espécies estudadas somente *A. australe* apresentou células lignificadas no estágio estudado, sendo este um bom caráter distintivo entre as espécies. Apesar de *A. olivaceum* e *A. pyrifolium* não apresentarem endocarpo lignificado neste estágio sugere-se que em estádios posteriores ocorrerá lignificação das células, pois estas células possuem as mesmas características das células do endocarpo de *P. riedelii*, estudadas por Aguiar *et al.* (2009), em estádios anteriores a lignificação.

Neste trabalho foi adotado o termo esclerócito para caracterizar as células que formam o endocarpo de *A. australe*, devido à quantidade de pontuações, formato irregular e curto tamanho apresentado pelas células. No entanto, em grande parte das espécies já estudadas na família o tipo celular mais citado para o endocarpo dos frutos são as fibras. Souza & Moscheta (1992) citam a presença de fibras e esclerócitos no endocarpo de *A. polyneuron*. Nos trabalhos de Zala *et al.* (1976), Kuriachen *et al.* (1991), Thomas & Dave (1991, 1994) é citada a presença de células lignificadas ou esclerenquimáticas no endocarpo dos frutos, sem mencionar o tipo celular apresentado por elas. Gupta & Lamba (1981) citam vários tipos de esclerócitos presentes no endocarpo de *Rauvolfia serpentina* Benth. ex Kurz (macroesclerócitos, braquiesclerócitos, esclerócitos filiformes e esclerócitos fusiformes), mas como neste trabalho não foi realizado macerado no endocarpo de *A. australe* não se pode chegar a nenhuma conclusão quanto ao tipo de esclerócito que forma o mesmo.

A deiscência dos folículos das três espécies estudadas ocorre ao longo das margens do carpelo. Antigamente este tipo de deiscência era chamado de ventral, mas Roth (1977) considera que este termo é inadequado, pois o lado ventral do carpelo corresponde à face interna deste. Assim sendo, utilizou-se o termo deiscência marginal, sugerido por Roth (1977), para os folículos estudados, visto que a sutura se forma ao longo das margens do carpelo. Semelhante deiscência foi também retratada para *A. polyneuron* (Souza & Moscheta 1992) e para *P. riedelii* (Aguiar *et al.* 2009). Segundo Roth (1977) os mecanismos de deiscência são baseados, em geral, em movimentos de tecidos vivos e mortos. Dois tipos fundamentais de mecanismos de deiscência podem ocorrer: o higroscópico e o de turgor. Os higroscópicos dependem, geralmente, do encolhimento ou distensão das paredes de células mortas, enquanto que o de turgor funciona com células vivas, de paredes elásticas. No caso dos frutos de *A. australe*, *A. olivaceum* e *A. pyrifolium* pode-se concluir que a deiscência é do tipo higroscópica xerocástica, visto que o pericarpo do fruto seca à medida que o fruto amadurece. Vários fatores auxiliam na abertura dos frutos, como a presença de uma linha de deiscência, formada por células de paredes delgadas, a ocorrência de células parenquimáticas no mesocarpo e a lignificação, mesmo que tardia em

*A. olivaceum* e *A. pyrifolium*, do endocarpo. As células lignificadas e de paredes altamente espessadas, presentes no endocarpo, e a perda de água pelas células parenquimáticas do mesocarpo, criam uma tensão higroscópica no fruto, contribuindo para o mecanismo de abertura.

A partir dos resultados obtidos no presente estudo e de dados do trabalho de Souza & Moscheta (1992) foi possível elaborar uma chave de identificação de espécies de *Aspidosperma* baseada somente em caracteres anatômicos dos frutos.

#### **Chave para a identificação das três espécies de *Aspidosperma* baseada em caracteres anatômicos dos frutos**

1. Epicarpo com tricomas de cobertura..... *A. australe* Müll. Arg.
- 1'. Epicarpo sem tricomas de cobertura.
  2. Laticíferos com bainha parenquimática..... *A. olivaceum* Müll. Arg.
  3. Laticíferos sem bainha parenquimática..... *A. pyrifolium* Mart.

### **Conclusões**

Com base nos dados obtidos neste trabalho pode-se concluir que os frutos das espécies de *Aspidosperma* estudadas podem ser distinguidos a partir de caracteres anatômicos presentes no pericarpo. Além disto, notou-se uma semelhança entre as espécies, no que diz respeito à estrutura do pericarpo, como presença de lenticelas, epicarpo unisseriado, cutícula espessa, feixes vasculares distribuídos por todo o mesocarpo, laticíferos, esclerócitos no mesocarpo, linha de deiscência formada por células parenquimáticas de parede delgada e endocarpo multisseriado. Características anatômicas exclusivas em cada um dos frutos, como tricomas de cobertura e endocarpo lignificado em *A. australe*, esclerócitos formando grupos de diversas células e linha de deiscência se estendendo somente até a metade do mesocarpo em *A. pyrifolium* e laticíferos com bainha parenquimática em *A. olivaceum* também foram levantadas.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa concedida ao primeiro autor durante a elaboração deste trabalho e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio à pesquisa fornecido (proc. 01/12364-0).

## 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.; Carmello-Guerreiro, S.M. & Kinoshita, L.S. 2009. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr. (Apocynaceae). **Acta Botanica Brasilica**
- Albers, F. & Meve, U. 2001. A karyological survey of Asclepiadoideae, Periplocoideae and Secamonoideae and evolutionary considerations within Apocynaceae s.l. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **88**: 624–656.
- APG II (The Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update on the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society** **141**: 399–436.
- Bobrov, A.V.F.CH.; Endres, P.K.; Melikian, A.P.; Romanov, M.S.; Sorokin, A.N. & Bejerano, A.P. 2005. Fruit structure of *Amborella trichopoda* (Amborellaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society** **148**: 265–274.
- Castro, M.A. 1986. Anatomia del fruto de *Araujia horotorum* E. Fourn. (Asclepiadaceae). **Parodiana** **4**: 195–203.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1987. Structure and development of stomata on the fruit wall of *Calotropis procera* (Arr.) R. BR. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences – Plant Sciences** **97**(6): 449–456.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1990. Structure and development of the follicle of *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae) with note on dehiscence. **Beitrag zur Biologie der Pflanzen** **65**: 109–122.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1991. Comparative anatomical characters of *Periplocaceae* follicles and their taxonomic significance. **Feddes Repertorium** **102**(1/2): 63–68.
- Endress, M.E. & Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. **The Botanical Review** **66**(1): 1–56.
- 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**. 2<sup>nd</sup> ed. Tokyo, Toppan Company LTDA.
- Evert, R.F. 2006. **Esau's plant anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body – their structure, function and development**. New Jersey, John Wiley & Sons, Inc.
- Ezcurra, C. 1981. Revisión de las Apocináceas de la Argentina. **Darwiniana** **23**: 367–474.
- Fahn, A. 1979. **Secretory tissues in plants**. London, Academic Press.
- Fahn, A. 1990. **Plant anatomy**. Oxford, Pergamon Press.
- Farrel, B.D.; Dussourd, D.E. & Mitter, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? **American Naturalist** **138**: 881–900.

- 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 e sementes em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. **Acta Botanica Brasilica** **22**: 521 – 534.
- Gupta, V. & Lamba, L.C. 1981. Sclereids in the endocarp of *Rauvolfia serpentina* (L) Benth ex Kurz. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences – Plant Sciences** **90**(1): 79 – 84.
- Hunter, J. R. 1994. Reconsidering the functions of latex. **Tree** **9**: 1 – 5.
- Hutchinson, J. 1969. **Evolution and phylogeny of flowering plants**. London, Academic Press.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Company.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A. & Stevens, P.F. 2002. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland, Massachusetts, USA, Sinauer Associates Inc. Publishers.
- Kinoshita, L.S. (coord.). 2005. Apocynaceae. Pp. 35 – 91. 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.
- Kinoshita, L.S. & Simões, A.O. 2005. *Hancornia* Gomes. Pp. 54. 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.
- Koch, I. 2002. **Estudos das espécies neotropicais do gênero *Rauvolfia* L. (Apocynaceae)**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Koch, I. 2005. *Rauvolfia* L. Pp. 78. 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.
- Koch, I. & Kinoshita, L.S. 1999. As Apocynaceae s. str. da região de Bauru, São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** **13**: 61 – 86.
- 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**(1): 15 – 20.
- Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1990. Morphohistogenic studies in the follicle of *Tylophora dalzellii* HK. F. **Phytomorphology** **40**(3/4): 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**(2): 107 – 112.
- Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1992. Taxonomic and phylogenetic significance of fruit walls in Asclepiadaceae. **Feeds Repertorium** **103**(3/4): 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**(3/4): 227 – 235.
- Mahrán, G.H.; Saber, A.H. & Rizkallah, M.M. 1967. *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. IV. The fruits, its macro and micromorphology. **Journal of Pharmacological Sciences of United Arab Republic** **9**: 81 – 100.

- 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.
- Marcondes-Ferreira, W. & Kinoshita, L.S. 1996. Uma nova divisão infragenérica para *Aspidosperma* Mart. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **19**(2): 203 – 214.
- O'Brien, T.P.; Feder, N. & Mc Cully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** **59**(2): 368 – 373.
- Pearse, A.G.E. 1985. **Histochemistry theoretical and applied**. vol. 2. Edinburgh, C. Livingstone.
- 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.
- Rizzini, C.T. & Mors, W.B. 1976. **Botânica Econômica Brasileira**. São Paulo, EPU USP.
- Roth, I. 1977. **Fruits of angiosperms: encyclopedia of plant anatomy**. Berlin, Gebrüder Borntraeger.
- Sakane, M. & Shepherd, G.J. 1986. Uma revisão do gênero *Allamanda* L. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **9**: 125 – 149.
- 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. Phylogenetic and systematics of the Raulvolfoioideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **94**: 268 – 297.
- Simpson, M.G. 2007. **Plant systematics**. London, Elsevier Academic Press.
- Souza, L.A.; Iawazaki, 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. & Moscheta, I.S. 1992. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Biologia** **52**(3): 439 – 447.
- Spjut, R.W. 1994. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden** **70**: 1 – 82.
- 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**(1): 9 – 20.
- Von Teichman, I. & Van Wyk, A.E. 1991. Trends in the evolution of dicotyledonous seeds based on character associations, with special reference to pachycalazy and recalcitrance. **Botanical Journal of the Linnean Society** **105**: 211 – 237.
- Zala, J.V.; Patel, N.D. & Dave, Y.S. 1976. Structure of the developing and dry pericarp of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). **Flora** **165**: 335 – 360.



## Capítulo 2

### Morfoanatomia e ontogênese na caracterização dos frutos de *Allamanda blanchetii* A. DC. e *Allamanda schottii* Pohl (Apocynaceae)<sup>1</sup>

Shesterson Aguiar<sup>2</sup>, Sandra Maria Carmello-Guereiro<sup>2,3</sup> e Luiza Sumiko Kinoshita<sup>2</sup>

**Resumo:** As espécies do gênero *Allamanda* L. possuem frutos do tipo cápsula, muito semelhantes quanto à morfologia. Desta forma os principais objetivos do presente trabalho foram caracterizar, através de estudos ontogenéticos, os frutos de *Allamanda blanchetii* A. DC. e *Allamanda schottii* Pohl, além de levantar dados anatômicos do pericarpo que possam ser utilizados na identificação das duas espécies. Flores, frutos jovens e maduros foram coletados, fixados e submetidos a técnicas usuais de anatomia. Apesar das cápsulas do gênero *Allamanda* serem tradicionalmente classificadas como loculicidas, neste trabalho ficou comprovado que as cápsulas de *A. blanchetii* e *A. schottii* são, na realidade, cápsulas septicidas bivalvares. O epicarpo das duas espécies é unisseriado e possui células epidérmicas de paredes espessas, cutícula delgada e estômatos. No mesocarpo pode-se observar hipoderme de células colenquimatosas, anel esclerenquimático, parênquima fundamental, aerênquima, feixes vasculares, ilhas de floema e laticíferos. O endocarpo das duas espécies é constituído por diversas camadas de esclerócitos, que possuem disposição cruzada somente em *A. blanchetii*. Apesar de apresentarem pericarpo com muitas similaridades, foi possível constatar que somente *A. blanchetii* possui aerênquima distribuído por todo o mesocarpo do fruto sendo este, portanto, o principal caráter para distinguir as espécies.

**Palavras – chave:** Rauvolfioideae, *Allamanda*, pericarpo, cápsula septicida

### Introdução

Apocynaceae é uma das maiores e mais representativas famílias de Angiospermas, contendo em seus limites atuais cerca de 400 – 480 gêneros e 4.300 – 4.800 espécies com distribuição pantropical e em climas temperados (Albers & Meve 2001; Potgieter & Albert 2001; APG 2003), incluindo espécies de diversos hábitos, como árvores, arbustos, subarbustos, lianas e ervas (Judd *et al.* 2002; Kinoshita 2005; Simpson 2007). A família exhibe vários tipos morfológicos de frutos, como bacáceos, drupáceos e foliculares (Simões & Kinoshita 2002), além de cápsulas, presentes no gênero *Allamanda* L. (Sakane & Shepherd 1986) e *Plectaneia* Thou. (Endress & Bruyns 2000).

*Allamanda* L. é um pequeno gênero da família, pertencente à subfamília Rauvolfioideae Kostel (Endress & Bruyns 2000) e à tribo Plumerieae E. Mey. (Simões *et al.* 2007). O gênero apresenta 14 espécies nativas do continente americano, sendo que 12 ocorrem no Brasil (Sakane & Shepherd 1986). Algumas espécies são utilizadas como plantas ornamentais, devido a suas flores vistosas, e na medicina popular (Simões & Kinoshita 2005), principalmente *A. cathartica* L., cuja infusão das folhas é utilizada como catártico (Sakane & Shepherd 1986).

Seus frutos são classificados como cápsulas bicarpelares elíptico-compressas ou globosas (Simões & Kinoshita 2005) geralmente espinescentes (Sakane & Shepherd 1986) e muito semelhantes

<sup>1</sup>Parte da tese de doutorado do primeiro autor, vinculado ao programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas

<sup>2</sup>Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Caixa Postal nº 6109, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 13083 – 970, Campinas, SP, Brasil

<sup>3</sup>Autor para correspondência: [smcg@unicamp.br](mailto:smcg@unicamp.br)

quanto à morfologia externa. Apesar de Barroso *et al.* (1999) terem classificado seus frutos como cápsulas loculicidas, análises morfoanatômicas prévias sugerem que estes frutos são na verdade cápsulas septicidas.

A carência de estudos ontogenéticos em frutos tem gerado dificuldades na descrição e correta classificação dos frutos (Spujt 1994). Apesar de existirem trabalhos relacionados à anatomia de frutos em Apocynaceae (Mahran *et al.* 1967; Khan 1970; Castro 1986; Kuriachen & Dave 1989; Dave & Kuriachen 1990; Kuriachen *et al.* 1990; Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Kuriachen *et al.* 1993; Souza & Moscheta 1992; Thomas & Dave 1994; Souza *et al.* 2004; Gomes 2008; Aguiar *et al.* 2009), eles são poucos frente a variedade morfológica de frutos apresentada pela família (Potgieter & Albert 2001) e, além disto, em nenhum destes trabalhos foram contempladas espécies de *Allamanda*.

Desta forma, um estudo ontogenético em frutos de *A. blanchetii* e *A. schottii* além de ser de extrema importância para uma correta caracterização morfológica dos frutos, também poderá contribuir com dados anatômicos que possam ser utilizados na distinção das duas espécies, sendo, portanto, os principais objetivos do presente trabalho.

## **Materiais e métodos**

### Material Botânico

Para a realização deste trabalho foram utilizados botões florais, flores e frutos em vários estádios de desenvolvimento de *Allamanda blanchetii* A. DC. e de *Allamanda schottii* Pohl coletados a partir de indivíduos cultivados como ornamentais no *Campus* da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

*Allamanda blanchetii* A. DC. (Fig. D) é uma espécie de fácil identificação devido a suas flores violáceas. É um arbusto ou planta escandente ocorrente em caatingas, em lugares secos e pedregosos, cuja distribuição se estende por todo o Nordeste Brasileiro, desde o Maranhão até a Bahia (Sakane & Shepherd 1986). *Allamanda schottii* Pohl (Fig. A) é uma arbusto sublenhoso de flores amarelas ou amarelo-alaranjadas. A planta cresce à beira da mata, em lugares úmidos como as margens de rios, ocorrendo na Argentina, Paraguai e no Brasil, nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (Sakane & Shepherd 1986).

Os exemplares foram identificados pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luiza Sumiko Kinoshita (especialista na família) e os materiais testemunha herborizados e incorporados ao Herbário UEC (Tabela 1).

Tabela 1. Dados referentes ao material testemunha das espécies estudadas.

<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>Nome e n<sup>o</sup> do coletor</b>	<b>Data da coleta</b>	<b>Registro UEC</b>
<i>A. blanchetii</i>	Campinas (SP) “Unicamp”	S. M. Gomes 487	28/XI/2002	142021
<i>A. schottii</i>	Campinas (SP) “Unicamp”	S. M. Gomes 488	28/XI/2002	142022

## Metodologia

Os materiais coletados foram fixados em FAA (Johansen 1940) por 24 horas e colocados em bomba à vácuo para facilitar a penetração do fixador, sendo posteriormente conservados em álcool etílico 70%. Após este período os materiais foram incluídos em resina plástica (Gerrits & Smid 1983), seccionados em micrótomo rotativo e as secções longitudinais e transversais, de 10µm aproximadamente, foram coradas com azul de toluidina (O' Brien *et al.* 1964), para análise estrutural. Algumas secções foram submetidas ao teste com Sudan black B (Pearse 1985), para análise de lipídios totais, ao reagente de Lugol (Johansen 1940), para detecção de amido e à luz polarizada, a fim de evidenciar constituintes celulares birrefringentes, como cristais, amido e celulose (Evert 2006). Para a descrição dos resultados utilizaram-se as terminologias de Roth (1977) e de Spjut (1994).

As ilustrações consistiram de fotografias e fotomicrografias. As fotomicrografias foram realizadas por meio de uma câmera digital acoplada ao microscópio Olympus BX 51, utilizando-se o programa Olympus DP Controller. As ilustrações foram utilizadas na confecção das pranchas, montadas no programa CorelDraw X3.

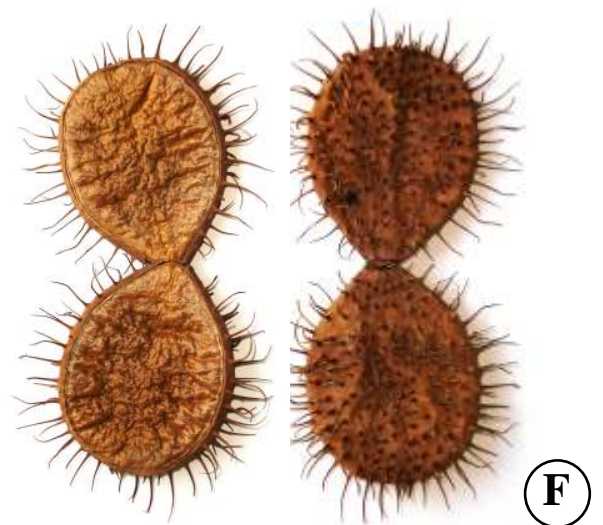
## **Resultados**

### **1. Morfologia dos frutos**

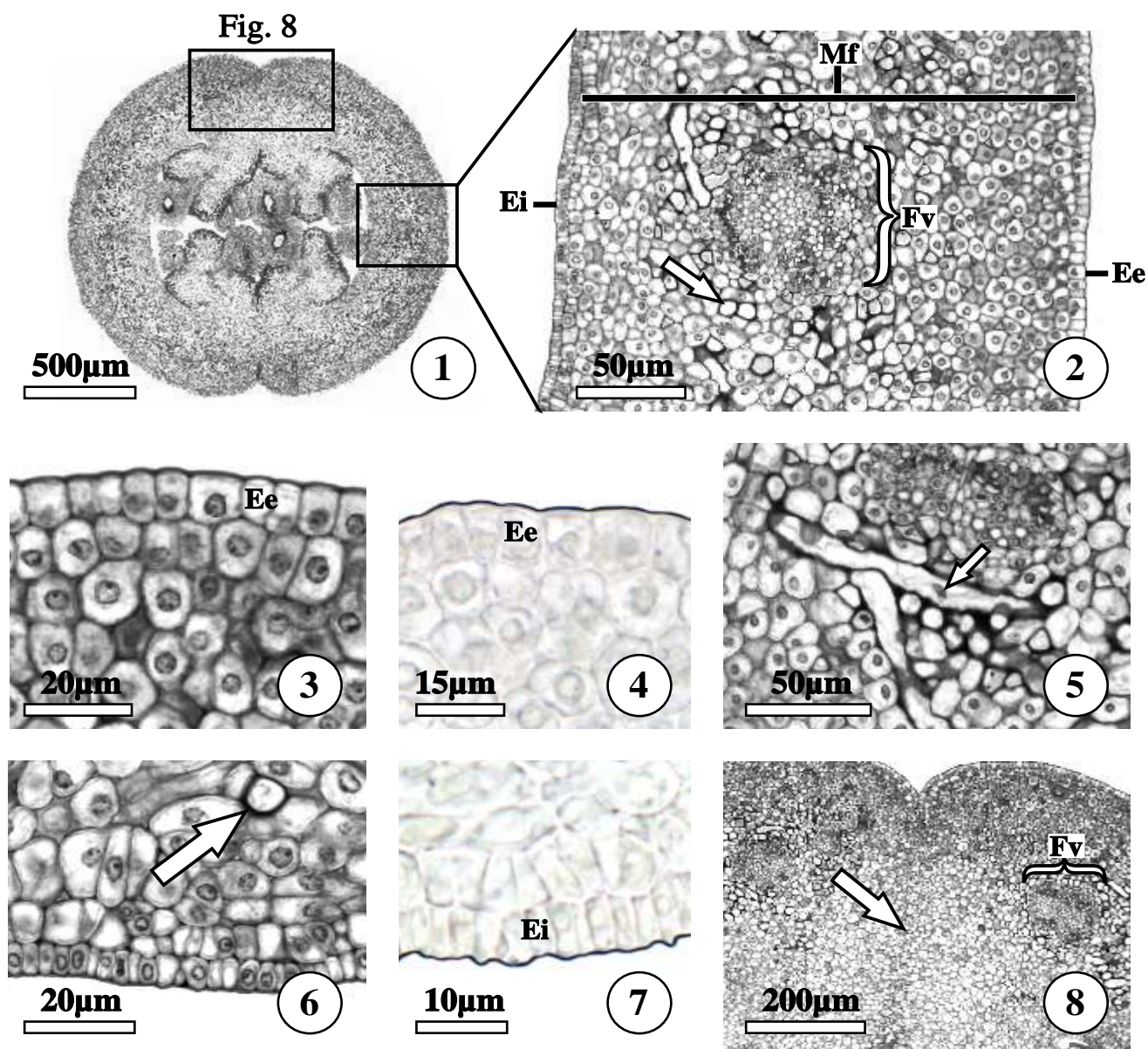
Os frutos de *A. blanchetii* e *A. schottii* se desenvolvem a partir de flores com gineceu sincárpico, bicarpelar, unilocular, de ovário súpero e placentação parietal (Fig. 1 e 26), sendo classificados como cápsulas septícidas bivalvares. As cápsulas são elíptico-compressas e espinhosas, apresentam coloração esverdeada, quando jovens e totalmente desenvolvidas (Fig. B e E), e marrom, quando maduras (Fig. C e F). Possuem deiscência através de duas suturas longitudinais marginais, que ao se romperem, formam duas valvas (Fig. C e F) que expõem diversas sementes. Cada valva é originada a partir do desenvolvimento de um único carpelo.

### **2. Anatomia**

O estágio inicial do desenvolvimento dos frutos de *A. blanchetii* e *A. schottii* é representado pelo ovário das flores em antese. Com base nas alterações anatômicas que ocorrem durante o desenvolvimento dos frutos, como o espessamento de parede das células do epicarpo, a diferenciação dos esclerócitos e o surgimento do aerênquima no mesocarpo e a lignificação das células do endocarpo, foram utilizados dois estádios de desenvolvimento para descrever o pericarpo: estágio I – fruto jovem e estágio II – fruto desenvolvido. Para melhor entendimento, o pericarpo dos frutos foi dividido em três regiões anatômicas claramente diferenciadas em todos os estádios de desenvolvimento: epicarpo, mesocarpo e endocarpo. Tanto a anatomia da parede do ovário quanto dos frutos são tratadas de forma separada para as duas espécies.



**Figuras A – C.** *Allamanda schottii* Pohl. **D – F.** *Allamanda blanchetii* A. DC.  
**A e D.** Hábito. **B e E.** Frutos maduros. **C e F.** Frutos abiertos.



**Figuras 1 – 8.** Secções transversais do ovário de *Allamanda blanchetii* A. DC. **1.** Vista geral do ovário. **2.** Pormenor da figura 1, evidenciando a parede do ovário (seta = laticífero). **3.** Epiderme externa e células parenquimáticas do tecido fundamental. **4.** Cutícula da epiderme externa do ovário, evidenciada pelo teste com Sudan black B. **5.** Laticíferos (seta) e feixe vascular. **6.** Epiderme interna, laticíferos (seta) e células parenquimáticas do tecido fundamental. **7.** Cutícula da epiderme interna do ovário, evidenciada pelo teste com Sudan black B. **8.** Pormenor da figura 1, indicando a região de união dos carpelos (seta). Ee = epiderme externa; Ei = epiderme interna; Fv = feixe vascular; Mf = mesofilo ovariano

### *Allamanda blanchetii* A. DC.

#### Parede do ovário

A epiderme externa do ovário é constituída por uma camada de células quadrangulares, com núcleos basais, vacúolo de posição apical (Fig. 2 e 3) e cutícula delgada (Fig. 4). Estômatos em início de diferenciação, apesar de raros, estão presentes na epiderme externa.

O mesofilo ovariano é formado por parênquima, feixes vasculares e laticíferos, dispostos em 30 a 35 camadas (Fig. 2). As células parenquimáticas, de paredes pecto-celulósicas delgadas e núcleos evidentes, são as mais abundantes do tecido fundamental (Fig. 2) e armazenam pequenos grãos de

amido. Já os laticíferos são as estruturas mais destacadas no tecido fundamental por apresentarem parede pecto-celulósica levemente espessada e formato cilíndrico (Fig. 2, 5 e 6). No protoplasto de alguns deles é possível observar diversos núcleos (Fig. 5). O sistema vascular é formado por feixes vasculares pouco diferenciados, sendo que os mais desenvolvidos são os marginais (Fig. 8), próximos à região de deiscência, e os dorsais (Fig. 2). Inúmeros cordões procambiais estão distribuídos no mesofilo ovariano.

A epiderme interna do ovário é unisseriada e revestida por cutícula delgada (fig. 7), possuindo células levemente colunares de citoplasma e núcleo evidentes (Fig. 2 e 6).

## **Pericarpo**

### Estádio I

A epiderme externa, agora denominada epicarpo, permanece composta por uma única camada de células que, neste estágio, tornam-se levemente colunares e com paredes periclinais externas espessadas (Fig. 11). Os estômatos, agora diferenciados, são pouco freqüentes no epicarpo.

Durante o desenvolvimento do fruto ocorre espessamento do pericarpo, devido a um aumento no número de células que compõem o mesocarpo, além do alongamento das células e aumento na quantidade de espaços intercelulares (Fig. 9). O mesocarpo, desenvolvido a partir do mesofilo ovariano, é constituído por parênquima, idioblastos cristalíferos, feixes vasculares, ilhas de floema e laticíferos (Fig. 9).

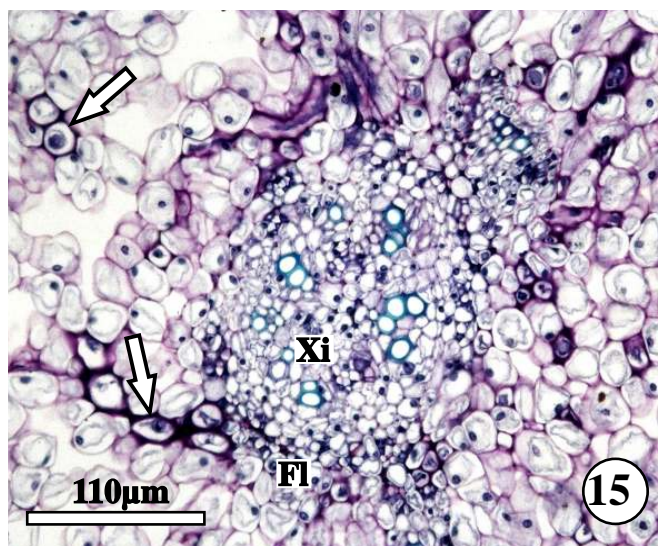
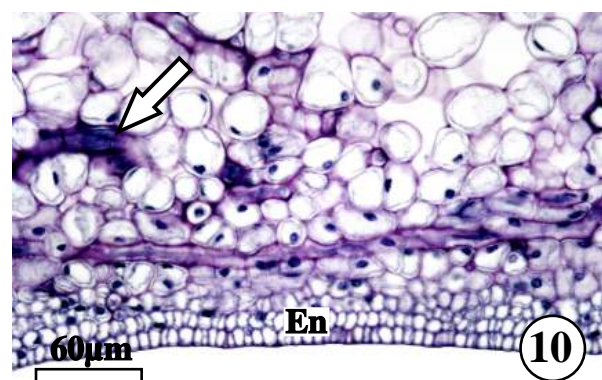
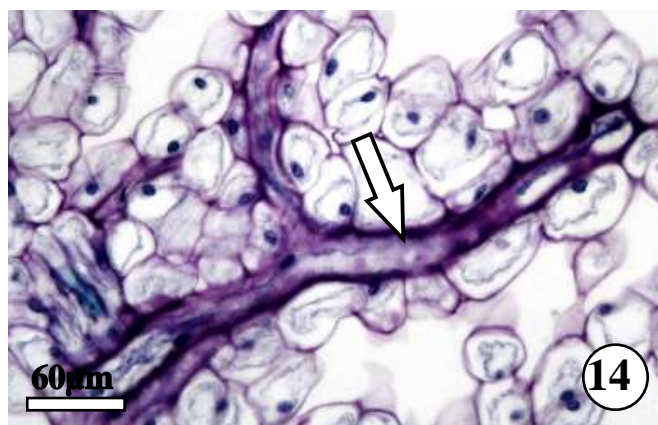
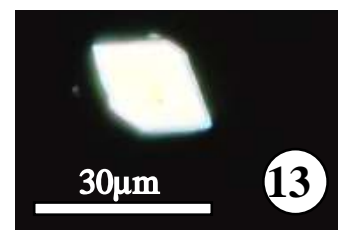
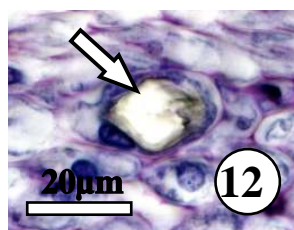
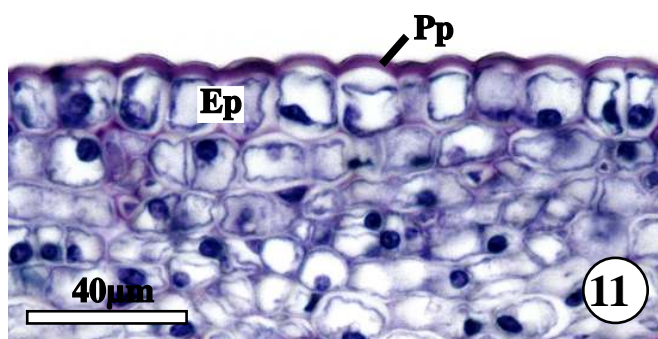
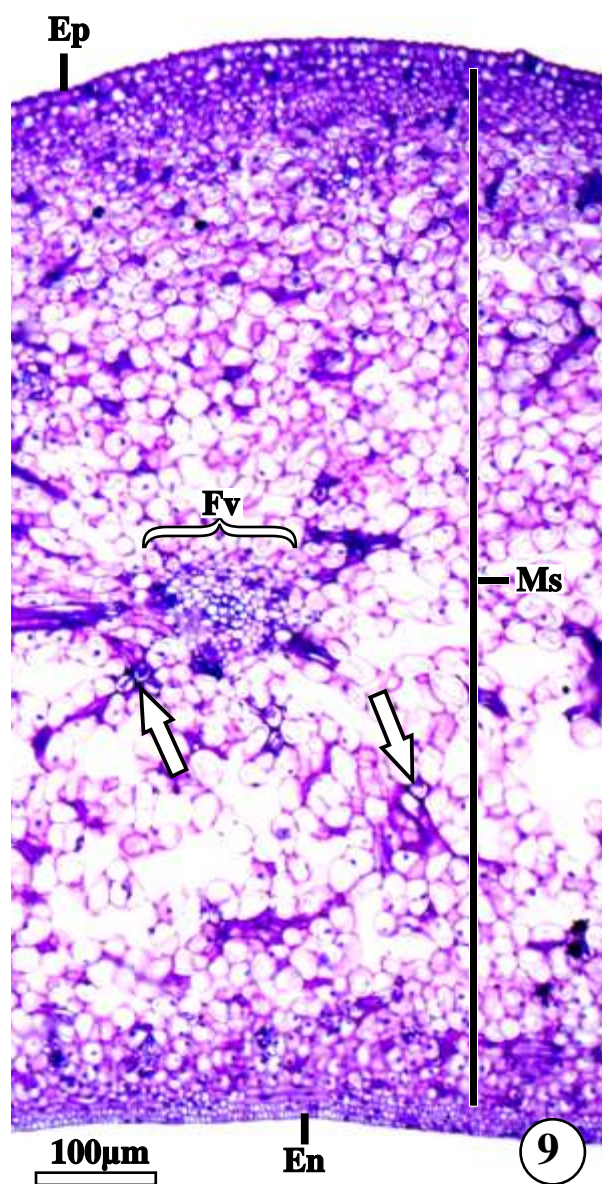
As células parenquimáticas do mesocarpo são diferentes conforme a região onde são encontradas. As que se localizam próximas ao epicarpo são menores e não possuem espaços intercelulares (Fig. 9 e 11); já a grande maioria das células parenquimáticas do mesocarpo possui grandes espaços intercelulares, formando um aerênquima (Fig. 9). Idioblastos cristalíferos estão espalhados entre as células parenquimáticas e possuem cristais prismáticos e/ou drusas (Fig. 12 e 13). Os laticíferos são as células mais destacadas no mesocarpo, pois possuem espessamento pecto-celulósico de parede (Fig. 9, 14 e 15) e conteúdo de aspecto denso (Fig. 9 e 10). Os feixes vasculares, apesar de estarem mais diferenciados (Fig. 15), ainda não estão totalmente desenvolvidos.

Os espinhos são formados a partir de divisões celulares de camadas epidérmicas e subepidérmicas que iniciam a formação de um domo que se desenvolverá em espinho. Neste estágio, o espinho é constituído de células epidérmicas, parenquimáticas, feixes vasculares e laticíferos e, devido à baixa quantidade de células lignificadas, ainda não são rígidos.

A epiderme interna e camadas subepidérmicas formam o endocarpo (Fig. 9 e 10), que possui células de paredes delgadas e justapostas, todas com mesmo formato.

### Estádio II

No epicarpo, a principal mudança é o aumento da espessura das paredes das células epidérmicas, principalmente a periclinal externa (Fig. 17 e 18). A cutícula torna-se mais evidente, apesar de



**Figuras 9 – 15.** Secções transversais do fruto jovem (estádio I) de *Allamanda blanchetii* A. DC. **9.** Vista geral do pericarpo (seta = laticífero). **10.** Mesocarpo e endocarpo (seta = laticífero). **11.** Epicarpo e células parenquimáticas do mesocarpo. **12.** Cristal prismático (seta). **13.** Cristal prismático em luz polarizada. **14.** Laticífero ramificado (seta). **15.** Feixe vascular e laticíferos (setas) do mesocarpo. En = endocarpo; Ep = epicarpo; Fl = floema; Fv = feixe vascular; Ms = mesocarpo; Pp = parede periclinal externa; Xi = xilema

permanecer delgada (Fig. 22). Apesar dos estômatos continuarem presentes (Fig. 17) sua frequência é muito menor.

Junto ao epicarpo, nota-se uma hipoderme, constituída por 2 a 4 camadas de células colenquimatosas, de paredes pecto-celulósicas espessas (Fig. 18) e repletas de cloroplastos. Entre estas células podem ser observados idioblastos cristalíferos. Em contato direto com a hipoderme colenquimática nota-se o anel esclerenquimático, constituído por 5 a 8 camadas de esclerócitos de paredes extremamente espessas e lignificadas (Fig. 16 e 18), originados a partir da transdiferenciação de células parenquimáticas presentes no estágio I. Idioblastos cristalíferos também podem ser encontrados nas proximidades do endocarpo (Fig. 21 e 25).

As células parenquimáticas localizadas entre o anel esclerenquimático e o endocarpo possuem grandes espaços intercelulares e formam o aerênquima, que é o tecido mais desenvolvido do mesocarpo (Fig. 16).

Distribuídos por todo aerênquima, estão os laticíferos que, devido à parede espessa e conteúdo de aspecto denso, são as células mais destacadas no mesocarpo (Fig. 16, 19, 20, 23 e 24). O espessamento pecto-celulósico da parede não é uniforme em toda a extensão do laticífero, visto que podem ser visualizadas regiões com espessamento pronunciado e regiões sem espessamento (Fig. 19).

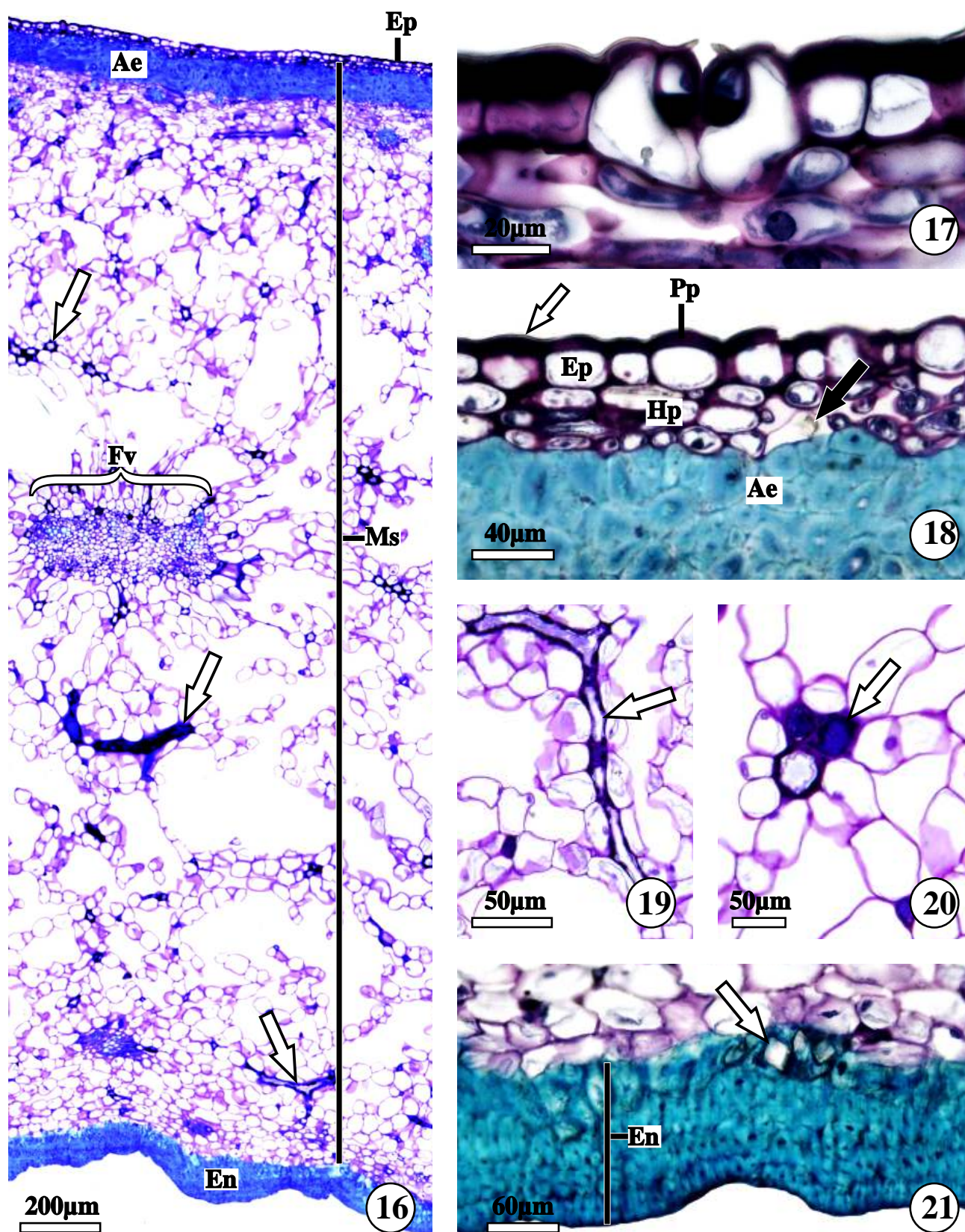
Os feixes vasculares são colaterais, concêntricos ou bicolaterais e possuem, neste estágio, as células totalmente diferenciadas (Fig. 16 e 24). Estão distribuídos por todo o mesocarpo, mas os que se encontram na região mediana do mesocarpo são os mais desenvolvidos. Também podem ser observadas ilhas de floema próximas ao endocarpo (Fig. 23), não distinguidas no estágio anterior.

Neste estágio, os espinhos completam o seu crescimento e tornam-se rígidos, devido ao espessamento das células do epicarpo, da diferenciação da hipoderme colenquimática e da lignificação das células do anel esclerenquimático e dos feixes vasculares.

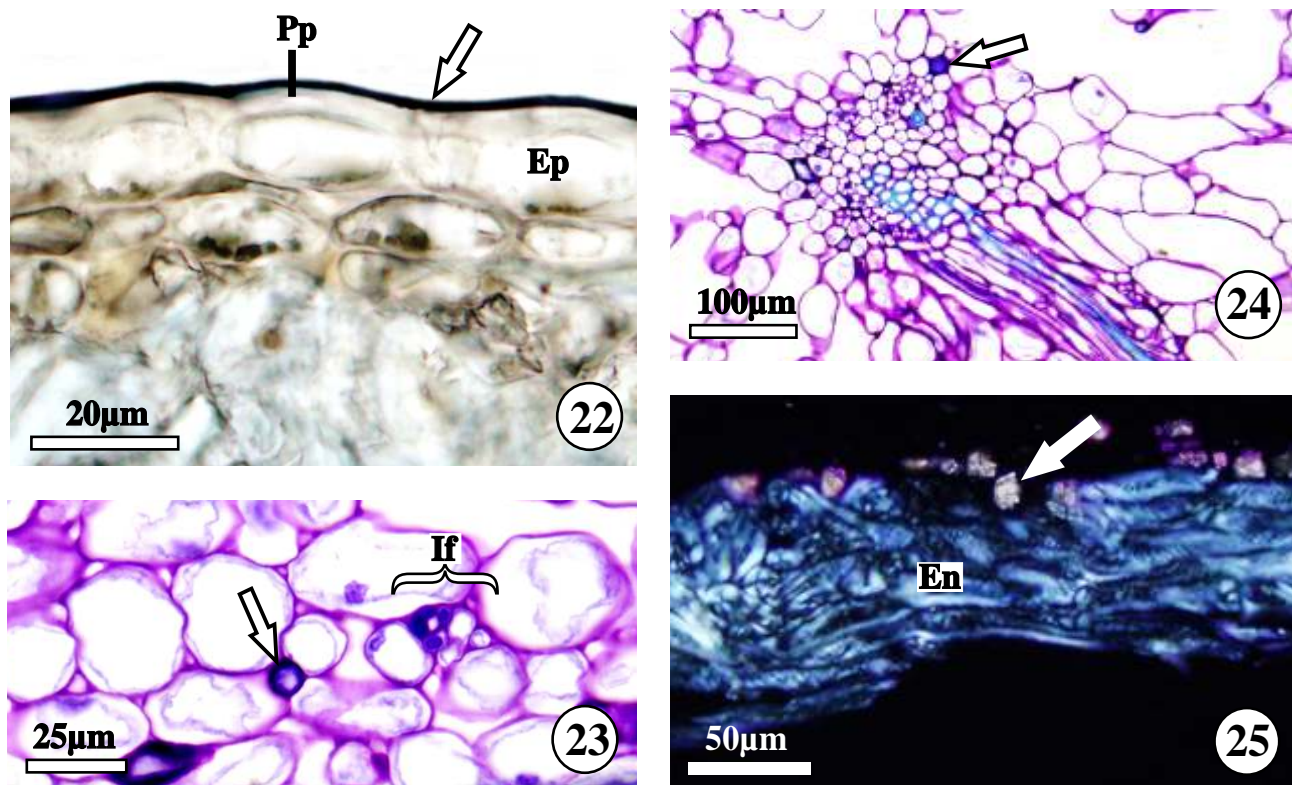
O endocarpo torna-se totalmente diferenciado, e é constituído por 4 a 8 camadas de esclerócitos de parede extremamente espessa e lignificada (Fig. 16, 21 e 25). Os esclerócitos são alongados preferencialmente no sentido longitudinal do fruto, mas células alongadas no sentido transversal também podem estar presentes (Fig. 25). Mesmo possuindo lume extremamente reduzido, devido ao espessamento da parede, em algumas células do endocarpo pode-se observar cristais prismáticos (Fig. 21 e 25).

Nas regiões de união dos carpelos, notam-se as linhas de deiscência, constituídas, cada uma, por 1 a 2 camadas de células parenquimáticas de paredes delgadas e sinuosas, menores do que as parenquimáticas adjacentes.





**Figuras 16 – 21.** Seções transversais do fruto maduro (estádio II) de *Allamanda blanchetii* A. DC. **16.** Vista geral do pericarpo do fruto (setas = laticíferos). **17.** Estômato. **18.** Epicarpo, hipoderme colenquimática e anel esclerenquimático (seta branca = cutícula; seta preta = cristal). **19 e 20.** Laticíferos (setas). **21.** Endocarpo (seta = cristal prismático). Ae = anel esclerenquimático; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Fl = floema; Fv = feixe vascular; Hp = hipoderme; Ms = mesocarpo; Pp = parede periclinal externa



**Figuras 22 – 25.** Secções transversais do fruto maduro (estádio II) de *Allamanda blanchetii* A. DC. **22.** Cutícula do epicarpo (seta), evidenciada pelo teste com Sudan black B. **23.** Laticífero (seta) e ilha de floema. **24.** Feixe vascular (seta = laticífero). **25.** Endocarpo em luz polarizada (seta = cristal). En = endocarpo; Ep = epicarpo; If = ilha de floema; Pp = parede periclinal externa

## *Allamanda schottii* Pohl

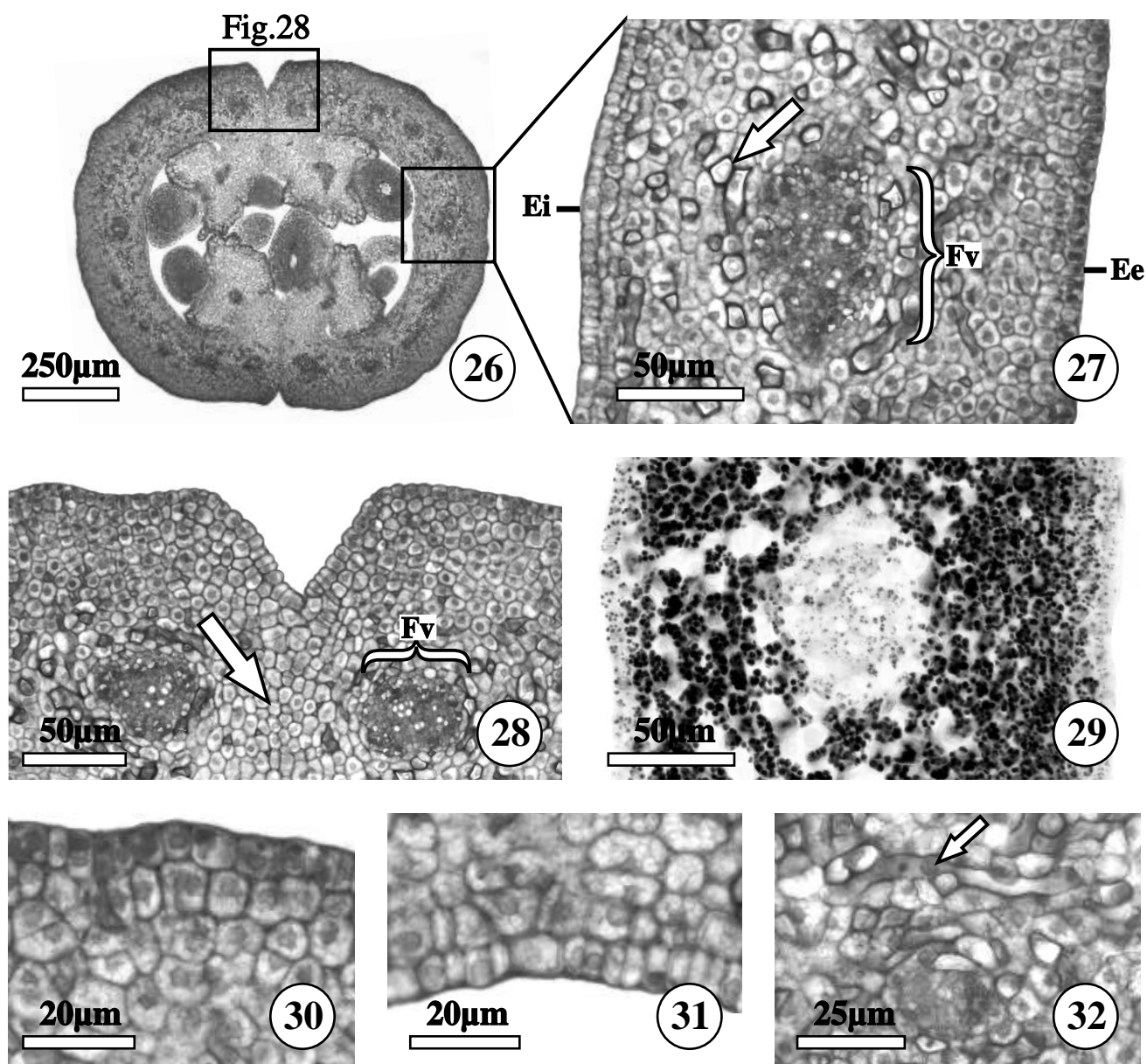
### 2. Anatomia

#### Parede do ovário

As epidermes externa e interna do ovário são unisseriadas e constituídas por células de citoplasma com aspecto denso com numerosos grãos de amido (Fig. 29), núcleos evidentes e cutícula delgada (Fig. 30 e 31). Estômatos, em início de diferenciação, estão presentes somente na epiderme externa.

O mesofilo ovariano é formado 20 a 25 camadas de células parenquimáticas (Fig. 27) entre as quais estão dispersos feixes vasculares, cordões procambiais e laticíferos. As células parenquimáticas possuem paredes delgadas, núcleos evidentes e citoplasma de aspecto denso (Fig. 27, 28, 30, 31 e 32) repleto de grãos de amido (Fig. 29). Os laticíferos são células bem destacadas no tecido fundamental por apresentarem parede pecto-celulósica levemente espessa, formato cilíndrico (Fig. 27), muitas vezes ramificado, e diversos núcleos (Fig. 32). O sistema vascular do ovário consiste de feixes vasculares pouco diferenciados, sendo mais desenvolvidos os marginais (Fig. 28), próximos a região de deiscência, e os dorsais (Fig. 27).

Na região de união dos carpelos nota-se uma linha, pouco proeminente, constituída de células parenquimáticas de paredes bem justapostas (Fig. 28), que se estende da epiderme externa até a placenta. Próximos às linhas de deiscência estão localizados feixes vasculares marginais (Fig. 28).



**Figuras 26 – 32.** Secções transversais do ovário de *Allamanda schottii* Pohl. **26.** Vista geral do ovário. **27.** Pormenor da figura 26, indicando a parede do ovário (seta = laticífero). **28.** Pormenor da figura 26, indicando a região de união dos carpelos (seta). **29.** Teste com reagente de Lugol, indicando grãos de amido, corados em preto, nas células parenquimáticas e epidérmicas. **30.** Epiderme externa e células parenquimáticas do tecido fundamental. **31.** Epiderme interna. **32.** Laticíferos (seta) e feixe vascular. Ee = epiderme externa; Ei = epiderme interna; Fv = feixe vascular

## Pericarpo

### Estádio I

A camada mais externa do pericarpo, o epicarpo, origina-se exclusivamente da epiderme externa do ovário, sendo, portanto, um epicarpo *sensu stricto*. É constituído por uma camada de células epidérmicas, de citoplasma com aspecto pouco denso e núcleo de posição basal (Fig. 35). As paredes delgadas das células são pecto-celulósicas e revestidas externamente por cutícula delgada. Estômatos são pouco frequentes no epicarpo do fruto.

Células parenquimáticas, idioblastos cristalíferos, esclerócitos, feixes vasculares, ilhas de

floema e laticíferos constituem o mesocarpo (Fig. 33), que se forma a partir do desenvolvimento do mesofilo ovariano. Durante o desenvolvimento dos frutos ocorre um aumento no número de células que compõem o mesocarpo, devido a divisões, em vários planos, das células que o constituem. Nas regiões próximas ao epicarpo, observam-se células parenquimáticas alongadas (Fig. 35) que se transdiferenciarão em esclerócitos no fruto maduro. Neste estágio ainda observam-se poucos espaços intercelulares entre as células parenquimáticas do mesocarpo.

Os laticíferos distribuem-se por todo o mesocarpo e possuem parede pecto-celulósica mais espessa do que as das células parenquimáticas adjacentes, facilitando o seu reconhecimento (Fig. 36 e 37). Possuem formato cilíndrico e alongado, algumas vezes ramificado, e látex pouco denso, sendo possível distinguir núcleos com seus respectivos nucléolos (Fig. 36) no protoplasto destas células.

O sistema vascular do fruto consiste de inúmeros feixes pouco diferenciados e ilhas de floema (Fig. 34 e 37). Os feixes vasculares se distribuem uniformemente pelo mesocarpo, sendo que os de maior calibre são os que se localizam nas regiões de deiscência (Fig. 34). As ilhas de floema são pouco proeminentes e restritas as proximidades do endocarpo.

Neste estágio de desenvolvimento, o endocarpo é constituído somente por uma camada de células de paredes pecto-celulósicas delgadas, alongadas, principalmente, no sentido longitudinal do fruto (Fig. 38), e estão pouco diferenciadas quando comparadas ao estágio anterior.

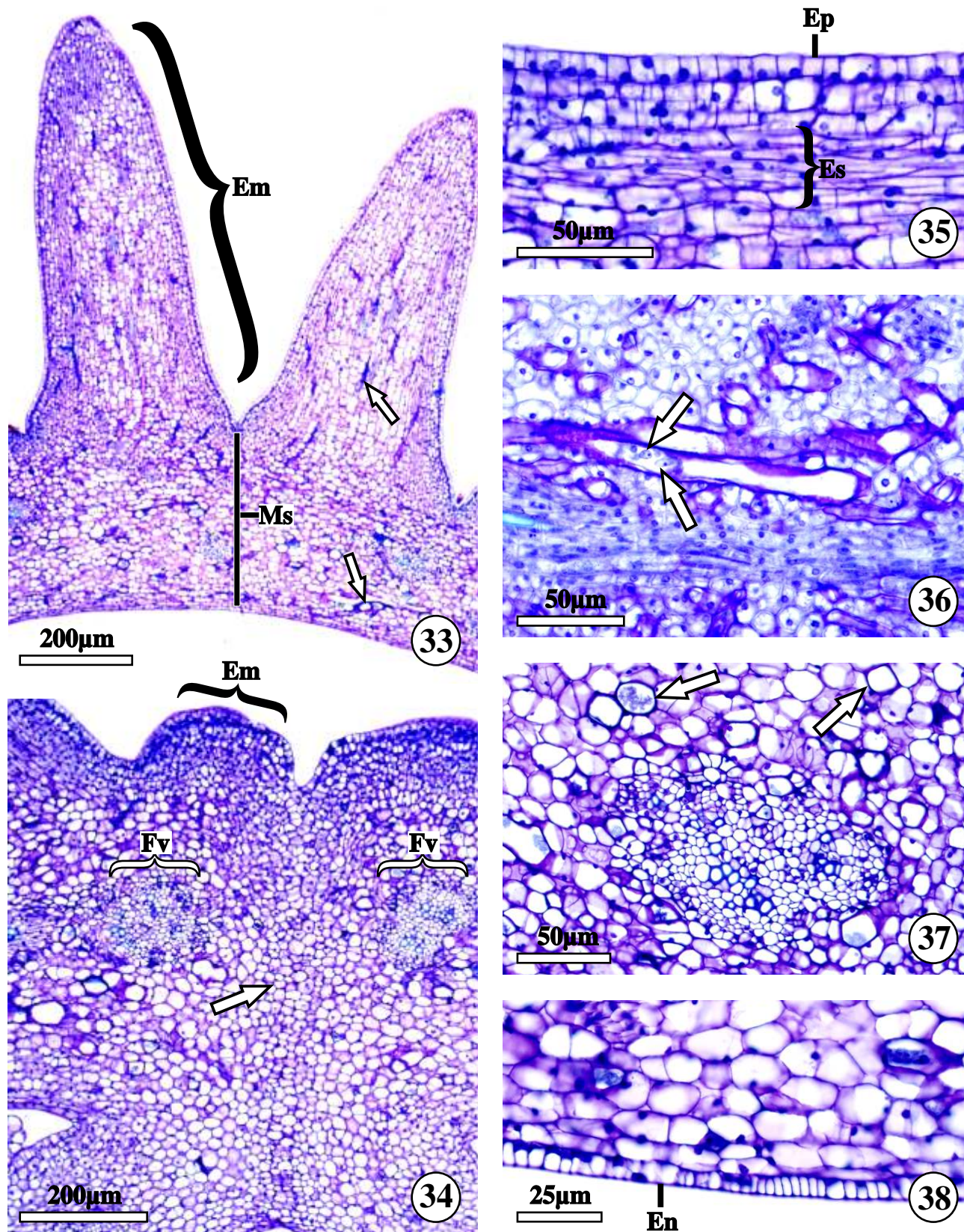
Emergências na forma de espinhos (Fig. 33 e 34) são formadas neste estágio de desenvolvimento, sendo constituídas por células epidérmicas, parenquimáticas, feixes vasculares e laticíferos. A formação dos espinhos inicia-se a partir de divisões mitóticas de camadas subepidérmicas que inicialmente formam um domo (Fig. 34), que continua a crescer até se transformar em espinho (Fig. 33) que, neste estágio, ainda não estão rígidos devido à baixa lignificação de suas células.

Nas regiões de união dos carpelos, notam-se as linhas de deiscência, constituídas de células parenquimáticas de paredes justapostas e sem espaços intercelulares (Fig. 34), pouco diferentes do estágio anterior, além de feixes vasculares marginais.

## Estádio II

A principal mudança no epicarpo é o espessamento das paredes das células, que é mais pronunciado na parede periclinal externa (Fig. 40 e 48). As células continuam dispostas em uma única camada e são revestidas por cutícula um pouco mais espessa que no estágio anterior (Fig. 40, 48 e 51). Os estômatos (Fig. 40) tornam-se ainda mais escassos no epicarpo.

Diversas mudanças ocorrem no mesocarpo. Junto ao epicarpo nota-se a presença de 2 a 3 camadas de células colenquimatosas, com paredes pecto-celulósicas espessas formando a hipoderme (Fig. 40 e 48). Em contato direto com estas células observa-se um anel esclerenquimático, constituído por aproximadamente 5 a 8 camadas de esclerócitos de paredes extremamente espessas e lignificadas (Fig. 39, 40, 45 e 48) que percorrem todo o mesocarpo do fruto, sendo interrompida somente nas regiões de deiscência do fruto. Os esclerócitos do anel esclerenquimático originam-se a partir da



**Figuras 33 – 38.** Secções transversais do fruto jovem (estádio I) de *Allamanda schottii* Pohl. 33. Vista geral do pericarpo (setas = laticíferos). 34. Região de união dos carpelos indicando a linha de deiscência (seta). 35. Detalhe do epicarpo e dos esclerócitos em diferenciação do mesocarpo. 36. Detalhe dos laticíferos com núcleos (setas). 37. Feixe vascular e laticíferos (seta). 38. Mesocarpo e endocarpo. Em = emergência; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Es = esclerócitos em diferenciação; Fv = feixe vascular; Ms = mesocarpo

transdiferenciação de células parenquimáticas presentes no fruto no estágio anterior. Alguns esclerócitos do anel esclerenquimático possuem cristais prismáticos (Fig. 40).

Logo abaixo ao anel esclerenquimático, observam-se diversas camadas de células parenquimáticas cujos espaços intercelulares tornam-se maiores do que no estágio anterior (Fig. 39). Nas proximidades do endocarpo estes espaços são mais pronunciados, formando um aerênquima (Fig. 39 e 44). Idioblastos cristalíferos com cristais prismáticos e/ou drusas (Fig. 46) estão dispersos entre as células parenquimáticas do mesocarpo.

Esclerócitos com paredes repletas de pontuações (Fig. 43) também ocorrem isolados no mesocarpo, principalmente nas proximidades do endocarpo, sendo possível verificar em alguns deles cristais prismáticos (Fig. 47).

Os laticíferos possuem parede mais espessa que no estágio anterior, sendo mais facilmente reconhecidos no mesocarpo (Fig. 39, 41, 42, 47 e 49). Quando se observa o laticífero em corte longitudinal, nota-se que sua parede não possui espessamento homogêneo, havendo regiões onde a parede ainda permanece delgada (Fig. 41). Eles estão distribuídos por todo o mesocarpo entre as células parenquimáticas, mas também estão presentes ao redor dos feixes vasculares (Fig. 49), entre as células da hipoderme ou até próximos ao endocarpo (Fig. 47). O formato cilíndrico, a presença de conteúdo com aspecto denso (Fig. 42) e de ramificações facilitam o reconhecimento desta célula.

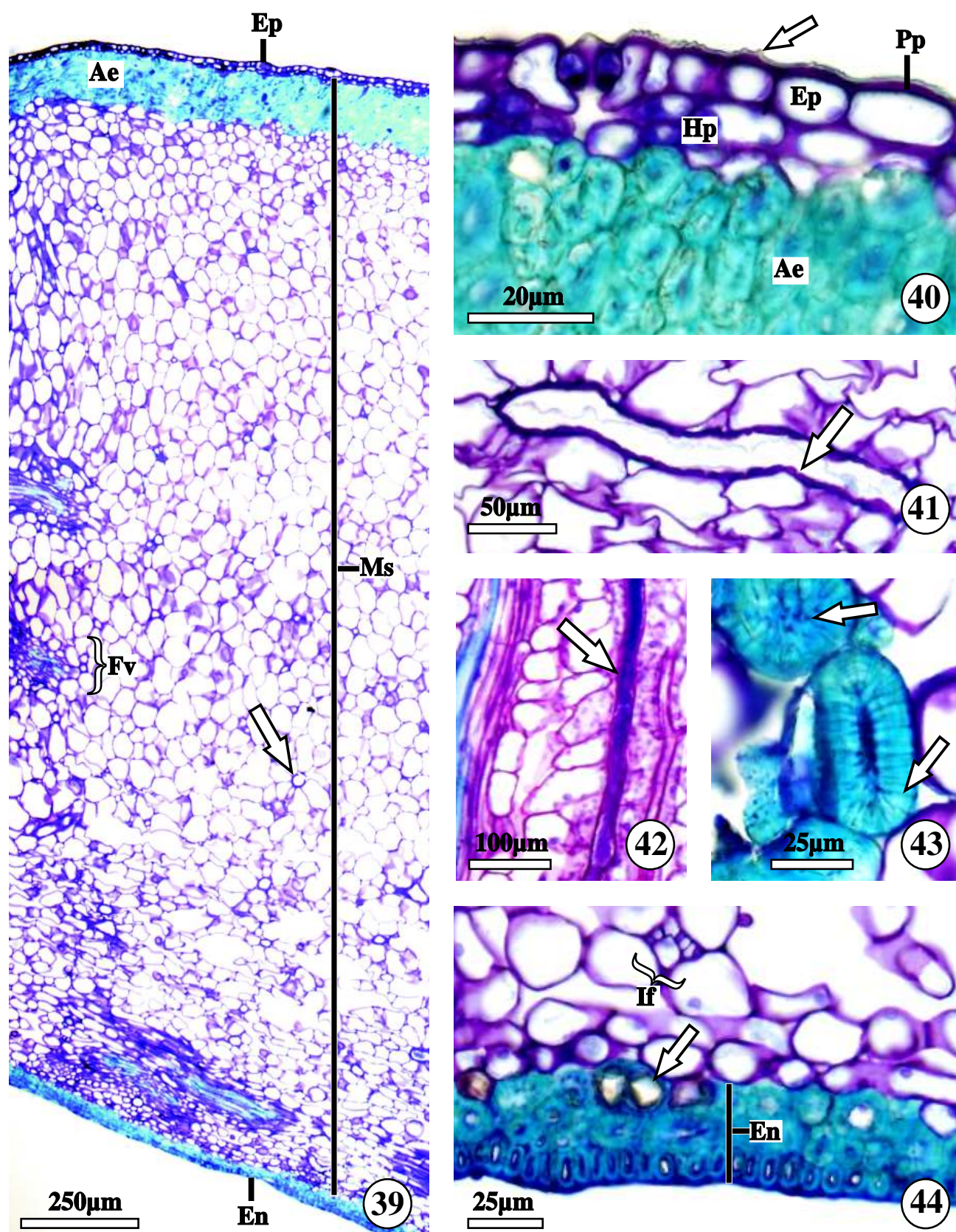
Os feixes vasculares tornam-se mais evidentes devido à diferenciação dos elementos condutores (Fig. 49), sendo classificados como colaterais, concêntricos ou bicolaterais. Os mais desenvolvidos se concentram na região mediana e os menores se distribuem homogeneamente pelo mesocarpo. As diversas ilhas de floema (Fig. 44) continuam restritas às proximidades do endocarpo.

O endocarpo torna-se lignificado e multisseriado (Fig. 39, 44 e 47). É constituído por esclerócitos de parede extremamente espessa, alongados no sentido longitudinal do fruto, e distribuídos em 3 ou 4 camadas: a camada mais interna, em contato direto com a cavidade seminal, deriva-se da única camada existente no endocarpo no estágio anterior (Fig. 44 e 47); já as demais camadas originam-se a partir da transdiferenciação de camadas subepidérmicas do mesocarpo (Fig. 44 e 47). Possuem lume extremamente reduzido, mas algumas células, principalmente as que se localizam em contato direto com o mesocarpo, podem acumular cristais prismáticos (Fig. 44 e 47).

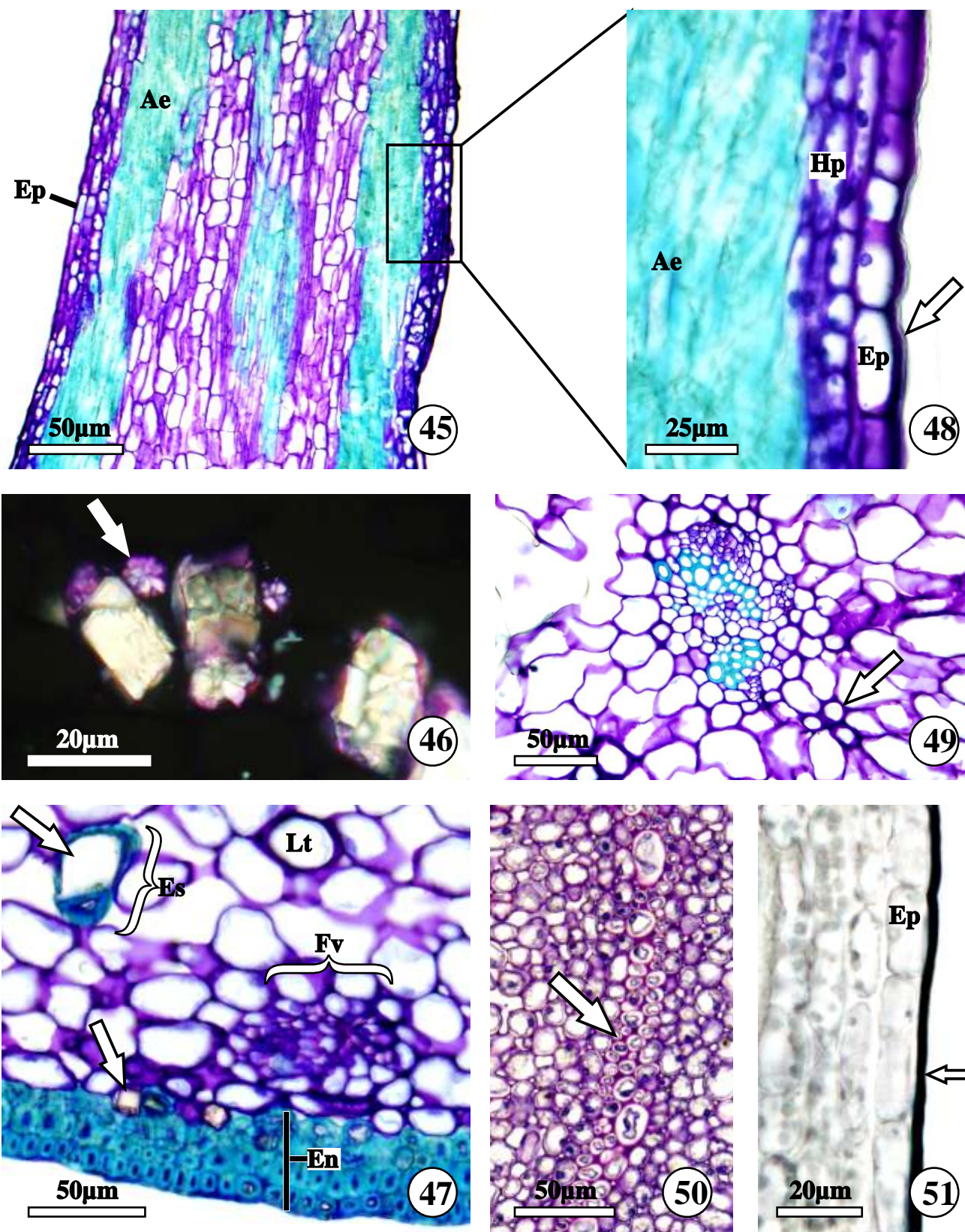
Os espinhos possuem, neste estágio, hipoderme colenquimática e anel esclerenquimático, tornando-os rígidos e resistentes (Fig. 45). Além destes tecidos citados, no espinho também podem ser encontrados feixes vasculares, laticíferos, parênquima fundamental, laticíferos e células epidérmicas de paredes espessas (Fig. 45 e 48).

Nas regiões de união dos carpelos ocorre espessamento das células das linhas de deiscência e afrouxamento das células parenquimáticas adjacentes (Fig. 50).

Com base nos dados obtidos, foi elaborada uma tabela comparativa (tabela 2) na qual estão descritas as principais características morfoanatômicas presentes nos frutos de *A. blanchetii* e *A. schottii*.



**Figuras 39 – 44.** Seções transversais do fruto maduro (estádio II) de *Allamanda schottii* Pohl. **39.** Vista geral do pericarpo do fruto (setas = laticíferos). **40.** Epicarpo, hipoderme colenquimática e anel esclerenquimático (seta = cutícula). **41 e 42.** Laticíferos (setas). **43.** Esclerócitos do mesocarpo (seta = pontuações simples). **44.** Endocarpo e ilha de floema (seta = cristal prismático). Ae = anel esclerenquimático; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Fv = feixe vascular; Hp = hipoderme colenquimática; If = ilha de floema; Ms = mesocarpo; Pp = parede periclinal externa espessada



**Figuras 45 – 51.** Fruto maduro (estádio II) de *Allamanda schottii* Pohl. 45, 48 e 51. Secções longitudinais. 46, 47, 49 e 50. Secções transversais. 45. Espinho. 46. Cristais prismáticos e drusas (seta) do mesocarpo em luz polarizada. 47. Endocarpo, feixe vascular, laticífero, esclerócito e cristais prismáticos (setas). 48. Pormenor da figura 45, evidenciando epicarpo com cutícula (seta), hipoderme colenquimática e anel esclerenquimático. 49. Feixe vascular e laticíferos (seta) do mesocarpo. 50. Linha de deiscência (seta). 51. Cutícula do epicarpo (seta), evidenciada pelo teste com Sudan black B. Ae = anel esclerenquimático; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Es = esclerócito; Fv = feixe vascular; Hp = hipoderme colenquimática; Lt = laticífero



**Tabela 2.** Resumo das principais características morfoanatômicas observadas nos frutos de *Allamanda blanchetii* A. DC. e *A. schottii* Pohl (Apocynaceae). + = presente; - = ausente

Características morfoanatômicas	<i>Allamanda blanchetii</i>	<i>Allamanda schottii</i>
tipo de fruto	cápsula bicarpelar septicida	cápsula bicarpelar septicida
consistência do fruto	lenhosa	lenhosa
espinhos	+	+
número de camadas do epicarpo	1	1
estômatos	+	+
espessura da cutícula	delgada	delgada
lenticelas	-	-
tricomas	-	-
espessamento de e parede das células epidérmicas	+	+
aerênquima	+	+
	(estende-se por todo mesocarpo)	(restrito a região do mesocarpo próxima ao endocarpo)
número de camadas de células na hipoderme	2 a 4	2 a 3
número de camadas de esclerócitos no anel esclerenquimático	5 a 8	5 a 10
laticíferos	+	+
ilhas de floema	+	+
tipo de feixe vascular	Colateral, bicolateral e concêntrico	Colateral, bicolateral e concêntrico
idioblastos cristalíferos	+	+
esclerócitos no mesocarpo	+	+
número de camadas do endocarpo	4 a 8	3 a 4
tipo de célula do endocarpo	esclerócito	esclerócito
orientação das células do endocarpo	cruzada	alongadas no sentido longitudinal
	(predomínio de células alongadas no sentido longitudinal)	
linha de deiscência	células de paredes delgadas	células de paredes espessas

## Discussão

### Morfologia dos frutos

Frutos do tipo cápsula são raros na família Apocynaceae, sendo encontrados na subfamília Raulvolfoideae, como no gênero *Allamanda* L. (Sakane & Shepherd 1986) e *Plectaneia* Thou. (Endress & Bruyns 2000), e, recentemente, descritos também para a subfamília Apocynoideae, como em *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Gomes 2008). As cápsulas de espécies de *Allamanda* foram descritas como loculicidas por Barroso *et al.* (1999) mas neste trabalho foi demonstrado que os frutos de *A. blanchetii* e *A. schottii* são cápsulas septicidas e não loculicidas.

Cápsulas são frutos simples, secos ou carnosos, provenientes de ovário súpero ou ínfero, bicarpelares a pluricarpelares, plurispérmicos e deiscentes mediante fendas longitudinais (Souza 2006). Quando a deiscência ocorre ao longo da nervura mediana, produzindo valvas constituídas, cada uma, de

metades de dois carpelos adjacentes, as cápsulas são denominadas loculicidas (Richard 1808; Barroso *et al.* 1999); já quando a deiscência ocorre ao longo de uma sutura ventral, produzindo valvas que correspondem a carpelos completos, as cápsulas são septicidas (Richard 1808; Hertel 1959; Spjut 1994).

Tendo em vista que as valvas presentes nas cápsulas das duas espécies estudadas são originadas, cada uma, a partir do desenvolvimento de carpelos inteiros e que as suturas longitudinais ocorrem nas regiões marginais, pode-se concluir que as cápsulas estudadas são septicidas. Segundo Spjut (1994), algumas vezes torna-se difícil distinguir cápsulas loculicidas de septicidas, o que não ocorreu neste trabalho.

### Estrutura do pericarpo

O pericarpo das duas espécies constitui-se de três zonas bem demarcadas: o epicarpo, o mesocarpo e o endocarpo. Através de estudos ontogenéticos, pode-se observar, nas duas espécies, que o epicarpo origina-se exclusivamente da epiderme externa do ovário, sendo, portanto, um epicarpo *sensu stricto*. Em *A. blanchetii* as células epidérmicas do epicarpo possuem espessamento pecto-celulósico mais pronunciado do que em *A. schottii*, indicando uma maior proteção contra radiação solar, visto que esta espécie é comumente encontrada em lugares secos, como a caatinga (Sakane & Shepherd 1986).

A hipoderme, presente nas duas espécies, está localizada em contato direto com o epicarpo, aumentando a resistência dos frutos. Este tecido já foi descrito para diversos folículos da família (Dave & Kuriachen 1991; Thomas & Dave 1991; Souza & Moscheta 1992; Thomas & Dave 1994; Gomes 2008).

Esclerócitos são freqüentemente encontrados em frutos (Roth 1977) e, no caso das espécies aqui estudadas, formam um anel esclerenquimático. Esta camada mecânica torna o pericarpo extremamente resistente e protege os feixes vasculares do acesso de fitófagos. Estas células também estão presentes nos folículos de *Aspidosperma polyneuron* Müll. Arg. (Souza & Moscheta 1992), *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Aguiar 2003) e *Aspidosperma parvifolium* A. DC. (Gomes 2008), mas, nestas espécies, eles estão distribuídos por todo o mesocarpo, e não formam bainha.

A função dos cristais de oxalato presentes no pericarpo das duas espécies estudadas não é clara, mas as funções comumente relatadas destas estruturas são as de proteção contra a herbivoria e regulação da concentração de cálcio na planta (Webb 1999; Molano-Flores 2001; Franceschi & Nakata 2005). A composição química, morfologia e localização destas estruturas na planta podem ser importantes para a taxonomia (Baas 1981). No entanto, outros autores consideram os cristais como caracteres de baixo valor diagnóstico, devido à variação que pode ocorrer entre organismos da mesma espécie. Nas duas espécies estudadas, os cristais são muito freqüentes, podendo ser vistos na hipoderme, entre as células parenquimáticas do mesocarpo ou no endocarpo.

Segundo Sharma (1964), espinhos são providos de feixes vasculares e podem se originar a partir de ramos, pecíolos, estípulas ou outras partes de uma planta. Espinhos não são muito comuns em frutos

de espécies da família Apocynaceae, mas em *Pergularia daemia* (Forsk.) Chiov (Asclepiadoideae) (Kuriachen & Dave 1989), a ontogenia destas estruturas foi bem retratada. Nesse trabalho, os autores observam que os espinhos são originados a partir de proliferação de células subepidérmicas em estádios iniciais de desenvolvimento dos frutos e possuem praticamente todos os tecidos do mesocarpo, fato também observado nas espécies estudadas neste trabalho. A rigidez apresentada pelos espinhos de *A. blanchetii* e *A. schottii* se deve ao fato de serem constituídos por células epidérmicas de paredes espessas, hipoderme colenquimática e anel esclerenquimático, além da presença de tecido vascular.

Laticíferos são células (ou fileiras de células) espalhadas por todo o corpo da planta, contendo um fluido chamado látex (Esau 1965; Evert 2006), que possui uma composição química muito variada (Fahn 1979). Sua função é de proteger a planta contra herbivoria, microorganismos e também selar ferimentos (Fahn 1979, 1990; Farrell *et al.* 1991; Hunter 1994). Como a presença de laticíferos é universal na família (Cronquist 1981), praticamente todos os trabalhos com frutos citam a presença destas estruturas (Mahran *et al.* 1967; Castro 1986; Kuriachen & Dave 1989; Kuriachen *et al.* 1990; Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Souza & Moscheta 1992; Thomas & Dave 1994; Souza *et al.* 2004; Gomes 2008; Aguiar *et al.* 2009). No entanto, os laticíferos de *A. blanchetii* e *A. schottii* são ligeiramente diferentes dos já descritos, pois possuem parede com espessamento irregular. Em *P. riedelii* (Aguiar *et al.* 2009) os laticíferos também possuem parede pecto-celulósica espessada, principalmente nos ângulos de contato com as células parenquimáticas que o margeiam, mas quando observado em corte longitudinal, apresenta padrão de deposição de parede homogênea. Desta forma um estudo ultraestrutural, histoquímico e de imunolocalização nos laticíferos de *A. blanchetii* e *A. schottii* seria interessante para esclarecer a composição química e função dos laticíferos nestas espécies, já que possuem um padrão diferente das demais espécies da família.

Aerênquima está presente no mesocarpo das duas espécies, mas é mais desenvolvido em *A. blanchetii*, sendo considerada a principal característica distintiva entre os frutos das espécies. Este tecido é comumente encontrado em plantas aquáticas para aumentar a flutuabilidade (Evans 2003), mas quando presente em frutos possui também a função de diminuir a densidade do órgão para facilitar a dispersão pelo vento ou água (Roth 1977). Espécies da subfamília Asclepiadoideae comumente possuem este tecido no mesocarpo (Castro 1986; Kuriachen *et al.* 1992; Souza 2004), tendo provável relação com o mecanismo de deiscência dos folículos. Assim sendo, acredita-se que, da mesma forma que nos folículos em Asclepiadoideae, este tecido colabore com os mecanismos de deiscência das cápsulas.

O endocarpo, segundo Roth (1977) pode se originar da epiderme interna do ovário (endocarpo *sensu stricto*), somente das camadas subepidérmicas do tecido fundamental ovariano, ou ainda da combinação de ambas (endocarpo *sensu lato*). Nas duas espécies aqui estudadas, pôde-se verificar que o endocarpo lignificado dos frutos maduros é derivado da epiderme interna do ovário e de camadas subepidérmicas, sendo considerado endocarpo *sensu lato*. A lignificação completa só ocorre no fruto em estágio maduro, garantindo, desta forma, o crescimento das sementes no interior da câmara seminal.

Em *A. schottii* as células do endocarpo, além de serem ligeiramente menos numerosas do que em *A. blanchetii*, não possuem disposição cruzada, sendo este um critério distintivo entre as duas espécies. Segundo Potgieter & Albert (2001) a presença de endocarpo lignificado seria uma característica primitiva em Apocynaceae e foi descrita nos frutos drupáceos de *Rauvolfia serpentina* Benth. ex Kurz (Gupta & Lamba 1981) e folículos de diversas outras espécies (Kuriachen *et al.* 1990; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Souza & Moscheta 1992; Kuriachen *et al.* 1992; Thomas & Dave 1994; Gomes 2008; Aguiar *et al.* 2009). Somente poucas espécies como *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Aguiar 2003) e *Asclepias curassavica* L. (Souza *et al.* 2004) possuem endocarpo não lignificado..

## Conclusões

Através de estudos ontogenéticos e estruturais pode-se comprovar que os frutos de *A. blanchetii* e *A. schottii*, anteriormente descritos como cápsulas loculicidas, são na realidade cápsulas septicidas bivalvares. Apesar dos dois frutos terem pericarpo muito semelhante, alguns caracteres anatômicos, como número e disposição das células do endocarpo e grau de desenvolvimento do aerênquima, podem ser utilizados para o reconhecimento das espécies. Desta forma, este trabalho demonstrou a importância da utilização de caracteres anatômicos de frutos na caracterização morfológica dos frutos, na distinção das espécies e também na aquisição de dados que possam ser utilizados em futuras análises filogenéticas e taxonômicas para o grupo.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa concedida ao primeiro autor durante a elaboração deste trabalho e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio à pesquisa fornecido (proc. 01/12364-0). Agradecimentos especiais a Ana Paula de Souza Caetano, por ter ajudado a processar parte do material utilizado neste trabalho.

## 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.; Carmello-Guerreiro, S.M. & Kinoshita, L.S. 2009. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr. (Apocynaceae). **Acta Botanica Brasilica**
- Albers, F. & Meve, U. 2001. A karyological survey of Asclepiadoideae, Periplocoideae and Secamonoideae and evolutionary considerations within Apocynaceae *s.l.* **Annals of the Missouri Botanical Garden** **88**: 624–656.

- APG II (The Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update on the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society** **141**: 399–436.
- 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).
- Bass, P. 1981. A note on stomatal types and crystals in the leaves of Melastomataceae. **Blumea** **27**: 475–479.
- Castro, M.A. 1986. Anatomia del fruto de *Araujia horotorum* E. Fourn. (Asclepiadaceae). **Parodiana** **4**: 195–203.
- Cronquist, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York, Columbia University Press.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1990. Structure and development of the follicle of *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae) with note on dehiscence. **Beitrag zur Biologie der Pflanzen** **65**: 109–122.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1991. Comparative anatomical characters of *Periplocaceae* follicles and their taxonomic significance. **Feddes Repertorium** **102**(1/2): 63–68.
- Endress, M.E. & Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. **The Botanical Review** **66**(1): 1–56.
- Esau, K. 1965. **Plant anatomy**. 2<sup>nd</sup> ed. Tokyo, Toppan Company LTDA.
- Evans, D.E. 2003. Aerenchyma formation. **New Phytologist** **161**: 35–49.
- Evert, R.F. 2006. **Esau's plant anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body – their structure, function and development**. New Jersey, John Wiley & Sons, Inc.
- Fahn, A. 1979. **Secretory tissues in plants**. London, Academic Press.
- Fahn, A. 1990. **Plant anatomy**. Oxford, Pergamon Press.
- Farrel, B.D.; Dussourd, D.E. & Mitter, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? **American Naturalist** **138**: 881–900.
- Franceschi, V.R. & Nakata, P.A. 2005. Calcium oxalate in plants: formation and function. **Annual Review of Plant Biology** **56**: 41–71.
- 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 e sementes em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. **Acta Botanica Brasilica** **22**: 521–534.
- Gupta, V. & Lamba, L.C. 1981. Sclereids in the endocarp of *Rauwolfia serpentina* (L) Benth ex Kurz. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences – Plant Sciences** **90**(1): 79–84.
- Hertel, R.J.G. 1959. Contribuições para a fitologia teórica II. Algumas concepções na carpologia. **Humanitas** **4**: 1–43.

- Hunter, J. R. 1994. Reconsidering the functions of latex. **Tree** **9**: 1 – 5.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Company.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A. & Stevens, P.F. 2002. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland, Massachusetts, USA, Sinauer Associates Inc. Publishers.
- 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.
- Kinoshita, L.S. (coord.). 2005. Apocynaceae. Pp. 35 – 91. *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.
- 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(1)**: 15 – 20.
- Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1990. Morphohistogenic studies in the follicle of *Tylophora dalzellii* HK. F. **Phytomorphology** **40(3/4)**: 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(2)**: 107 – 112.
- Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1992. Taxonomic and phylogenetic significance of fruit walls in Asclepiadaceae. **Feeds Repertorium** **103(3/4)**: 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(3/4)**: 227 – 235.
- Mahrán, G.H.; Saber, A.H. & Rizkallah, M.M. 1967. *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. IV. The fruits, its macro - and micromorphology. **Journal of Pharmacological Sciences of United Arab Republic** **9**: 81 – 100.
- Molano-Flores, B. 2001. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). **Annals of Botany** **88**: 387 – 391.
- O'Brien, T.P.; Feder, N. & Mc Cully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** **59(2)**: 368 – 373.
- Pearse, A.G.E. 1985. **Histochemistry theoretical and applied**. vol. 2. Edinburgh, C. Livingstone.
- 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.
- Richard, L.C. 1808. **Démonstrations botaniques, ou analyse du fruit considéré em general**. Paris, Chez Gabon.
- Roth, I. 1977. **Fruits of angiosperms: encyclopedia of plant anatomy**. Berlin, Gebrüder Borntraeger.
- Sakane, M. & Shepherd, G.J. 1986. Uma revisão do gênero *Allamanda* L. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **9**: 125 – 149.

- Sharma, P.C. 1964. Morphology of fruit projections I. *Ricinus communis* L. and *Datura metel* L. **Proc. Natl. Acad. Sci. India B 34**: 476–480.
- 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. & Kinoshita, L.S. 2005. *Allamanda* L. Pp. 37–39. 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.
- Simões, A.O.; Rio, M.C.S. do; Castro, M. de M. & Kinoshita, L.S. 2007. Gynostegium morphology of *Mesechitae* Miers (Apocynaceae, Apocynoideae) as it pertains to the classification of the tribe. **International Journal of Plant Sciences 94**: 268–297.
- Simpson, M.G. 2007. **Plant systematics**. London, Elsevier Academic Press.
- Souza, L.A. 2006. Fruto. Pp. 11–163. In: L.A. Souza (org.). **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa, UEPG.
- Souza, L.A.; Iawazaki, 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. & Moscheta, I.S. 1992. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Biologia 52**(3): 439–447.
- Spjut, R.W. 1994. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden 70**: 1–82.
- 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**(1): 9–20.
- Webb, M.A. & Arnott, H.J. 1999. A survey of calcium oxalate crystals and other mineral inclusions in seeds. **Scanning Electron Microscopy 3**: 1109–1131.

## Capítulo 3

### Ontogenia e estrutura do pericarpo na caracterização dos frutos de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae)<sup>1</sup>

Shesterson Aguiar<sup>2</sup>, Sandra Maria Carmello-Guereiro<sup>2,3</sup> e Luiza Sumiko Kinoshita<sup>2</sup>

**Resumo:** O presente trabalho foi realizado com o objetivo de descrever o pericarpo e caracterizar os frutos de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae). Para a realização deste trabalho foram coletadas flores e frutos em vários estádios de desenvolvimento. Os materiais foram processados no laboratório de anatomia vegetal seguindo técnicas usuais. O fruto de *P. coalita*, anteriormente chamado de folículo, é uma cápsula septicida bicarpelar, sendo cada valva originada de um único carpelo. O epicarpo, originado exclusivamente da epiderme externa do ovário, é formado por uma camada de células epidérmicas de paredes pecto-celulósicas e cutícula espessas, estômatos, lenticelas e tricomas tectores. O mesocarpo origina-se do mesofilo ovariano e é constituído por células colenquimatosas, células parenquimáticas, anel de fibras não lignificadas, feixes vasculares bicolaterais, ilhas de floema e laticíferos. O endocarpo é formado por 1 a 2 camadas de esclerócitos e a deiscência da cápsula ocorre pela ruptura na região de união das folhas carpelares e na região de união dos carpelos.

**Palavras – chave:** Apocynoideae, cápsula septicida, anatomia, folículo

### Introdução

Apocynaceae é uma das maiores e mais representativas famílias de Angiospermas, contendo em seus limites atuais cerca de 400 – 480 gêneros e 4.300 – 4.800 espécies com distribuição pantropical e em climas temperados (Albers & Meve 2001; Potgieter & Albert 2001; APG 2003), incluindo espécies de diversos hábitos, como árvores, arbustos, subarbustos, lianas e ervas (Judd *et al.* 2002; Kinoshita 2005; Simpson 2007). Dentre as espécies pertencentes à família, algumas se destacam pelo grande potencial econômico na produção de madeiras, como as perobas (Rizzini & Mors 1976); na produção de borracha, como *Funtumia elastica* Stapf (Metcalf & Chalk 1983); mas muitas espécies apresentam grande importância medicinal, como *Catharanthus roseus* G. Don, da qual são extraídas a vincristina e a vimblastina, utilizadas no tratamento do câncer (Souza & Lorenzi 2008). Além disto, as flores brancas, róseas e púrpuras em espécies de *Mandevilla* Lindl. (Almeida *et al.* 1988) têm valor paisagístico, assim como as da espírradeira (*Nerium oleander* L.), chapéu-de-napoleão (*Thevetia peruviana* K. Schum.), jasmim-manga (*Plumeria* Tourn. ex L.) e *Allamanda* L. (Souza & Lorenzi 2008).

A família Apocynaceae exibe uma variedade de tipos morfológicos de frutos, dentre eles bacáceos, como os de *Hancornia speciosa* Gomes (Koch & Kinoshita 1999; Kinoshita & Simões 2005), drupáceos, como os de *Rauvolfia sellowii* Müll. Arg. (Koch 2002, 2005), mericarpos articulados, como os de *Condylocarpon isthmicum* (Vell.) A. DC. (Kinoshita 2005), cápsulas bivalvares, como as presentes nos gênero *Allamanda* L. (Sakane & Shepherd 1986), folículos carnosos, como os de

<sup>1</sup> Parte da tese de doutorado do primeiro autor, vinculado ao programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas

<sup>2</sup> Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Caixa Postal n° 6109, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 13083 – 970, Campinas, SP, Brasil

<sup>3</sup> Autor para correspondência: [smcg@unicamp.br](mailto:smcg@unicamp.br)



*Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Aguiar 2003), ou secos, como os presentes em espécies das subfamílias Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (Endress & Bruyns 2000; Endress *et al.* 2007).

Segundo a última classificação proposta para a família Apocynaceae, o gênero *Prestonia* R. Br. está incluído na subfamília Apocynoideae Burnett e, dentro desta, na tribo Echiteae G. Don (Endress & Bruyns 2000; Endress *et al.* 2007). *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson, conhecida popularmente como áurea, erva-de-lagarto ou cipó-de-leite, é a espécie mais comum do gênero, podendo ocorrer tanto em beira de floresta estacional semidecídua quanto em formações de cerrado, caatinga e, mais raramente, restinga (Rio & Kinoshita 2005).

O gênero tem sido descrito como apocárpico na literatura (Woodson 1936; Markgraf 1968; Simões & Kinoshita 2002; Rio & Kinoshita 2005), mas recentemente, no trabalho de Gomes (2006), foi verificado que *P. coalita* possui gineceu sincárpico de origem mista (congênita e pós-gênita). Desta forma, Gomes (2008) sugere que os frutos desta espécie, anteriormente descritos como folículos moniliformes unidos pelo ápice (Rio & Kinoshita 2005), são na verdade cápsulas bivalvares septícidas.

Trabalhos recentes demonstram que estudos ontogenéticos são de grande importância para a correta classificação dos frutos e das camadas que compõem o pericarpo (Julio & Oliveira 2007; Martins & Oliveira 2007; Cortez & Carmello-Guerreiro 2008; Aguiar *et al.* 2009). Desta forma, um estudo ontogenético dos frutos de *P. coalita* é de fundamental importância para classificar corretamente os frutos da espécie, além de poder levantar, junto com o trabalho de Aguiar *et al.* (2009), novos dados morfoanatômicos que possam ser utilizados por taxonomistas na distinção das espécies do gênero e nos trabalhos filogenéticos realizados para família, sendo, portanto, os principais objetivos do presente trabalho.

## **Materiais e Métodos**

### Material Botânico

Para a realização deste trabalho foram utilizados botões florais, flores e frutos, em vários estádios de desenvolvimento, de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson coletados a partir de indivíduos ?

Os exemplares foram identificados pela Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Sueli Maria Gomes (especialista na família) e os materiais testemunha herborizados e incorporados ao Herbário UEC.

### Metodologia

Os materiais coletados foram fixados em FAA (Johansen 1940) por 24 horas e colocados em bomba à vácuo para facilitar a penetração do fixador, sendo posteriormente conservados em álcool etílico 70%. Após este período os materiais foram incluídos em resina plástica (Gerrits & Smid 1983), seccionados em micrótomo rotativo e as secções longitudinais e transversais, de 10µm aproximadamente, foram coradas com azul de toluidina (O' Brien *et al.* 1964) para análise estrutural.

Algumas secções foram submetidas ao teste com floroglucina acidificada (Johansen 1940) para detectar lignina, ao teste com Sudan black B (Pearse 1985) para análise de lipídios totais e ao reagente de Lugol (Johansen 1940) para detectar amido. Outras secções foram submetidas à luz polarizada a fim de evidenciar constituintes celulares birrefringentes, como cristais, amido e celulose (Evert 2006).

A nomenclatura utilizada para descrever as camadas do pericarpo foi baseada em Roth (1977) e para descrever a morfologia dos frutos em Spjut (1994).

As ilustrações consistiram de esquemas, fotografias e fotomicrografias. O esquema da flor em corte longitudinal foi obtido em câmara clara acoplada a microscópio. As fotomicrografias de alta resolução foram obtidas em câmara digital acoplada ao microscópio Olympus BX 51, utilizando-se o programa Olympus DP Controller, e utilizadas na confecção das pranchas, montadas no programa CorelDraw X3.

## **Resultados**

### Morfologia

O fruto de *P. coalita* é uma cápsula septicida bivalvar (Fig. 1), sendo cada valva muito semelhante a um fruto do tipo folículo (Fig. 6). As valvas são moniliformes (Fig. 1) e unidas entre si (Fig. 6, 11 e 23) por toda a extensão do fruto. O fruto jovem possui tricomas tectores (Fig. 6, 7 e 12) e coloração verde; à medida que o fruto amadurece parte dos tricomas tectores cai, permanecendo somente poucos no pericarpo do fruto maduro, e a coloração torna-se marrom. Cada valva do fruto assemelha-se a um folículo por ser fechada e apresentar região de deiscência, que representa a região de ligação da folha carpelar (Fig. 11 e 23). Além desta, existe também a região de deiscência das valvas, que corresponde à região de união entre os carpelos (Fig. 6, 11 e 23). Na maturidade, ocorre primeiro ruptura na região de deiscência da folha carpelar (Fig. 23); posteriormente, ocorre ruptura na região de união dos carpelos, com conseqüente separação das valvas e liberação de diversas sementes comosas. Os frutos se originam de flores com gineceu sincárpico, bicarpelar, bilocular, de ovário semi-ínfero e placentação sutural (Fig. 2 e 4).

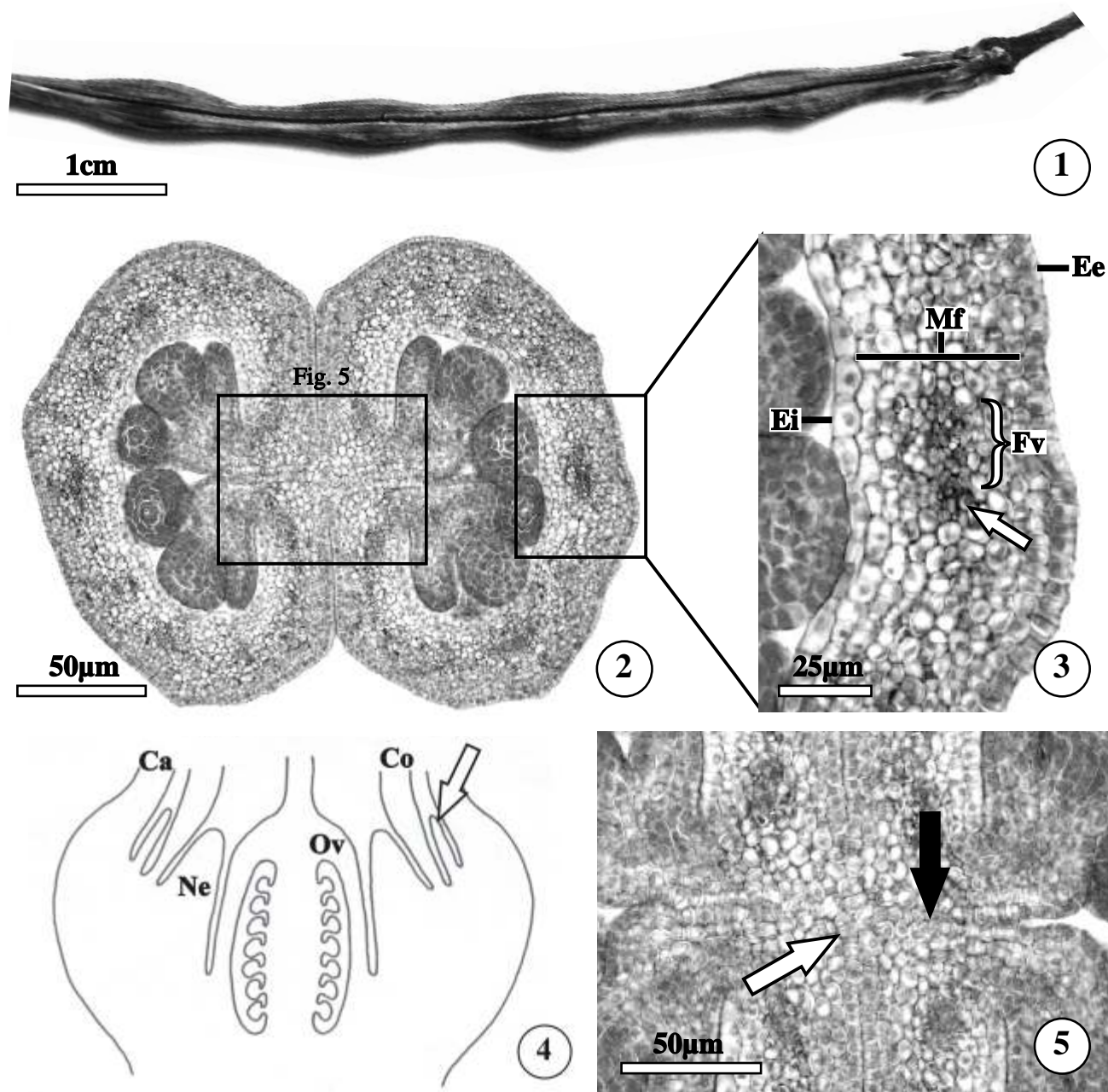
### Anatomia

#### **Parede do ovário**

A parede do ovário, em cada um dos carpelos, é constituída de uma epiderme externa, de mesofilo ovariano e de uma epiderme interna (Fig. 3).

A epiderme externa é unisseriada, com células de citoplasma abundante, núcleo esférico de posição central e cutícula delgada (Fig. 3). Já a epiderme interna, também unisseriada, é constituída por células maiores e de citoplasma de aspecto menos denso (Fig. 3), levemente alongadas no sentido transversal.

O mesofilo ovariano é formado por cerca de 10 camadas de células parenquimáticas em meio às quais são encontrados laticíferos e feixes vasculares (Fig. 2 e 3). Os laticíferos são cilíndricos,



**Figuras 1 – 5.** *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson. **2, 3 e 5.** Secções transversais. **1.** Fruto maduro. **2.** Secção na região do ovário. **3.** Detalhe da parede do ovário (seta = laticífero). **4.** Esquema da flor, em corte longitudinal, na região do ovário. **5.** Pormenor da figura 2, evidenciando a região de união dos carpelos (seta branca) e ligação da folha carpelar (seta preta). EE = epiderme externa; Ei = epiderme interna; Fv = feixe vascular; Mf = mesofilo ovariano

alongados, de paredes pecto-celulósicas pouco espessas e látex de aspecto pouco denso (Fig. 3), sendo facilmente confundidos com as demais células parenquimáticas do mesofilo. O sistema vascular de cada carpelo consiste de 8 a 10 feixes vasculares pouco diferenciados que se concentram na região mediana de todo tecido fundamental (Fig. 2 e 3).

Os carpelos são unidos entre si através de uma região formada por células parenquimáticas (Fig. 5); próximo a esta região também se observa a região de ligação de cada folha carpelar (Fig. 5).

## Pericarpo

Com base nas alterações anatômicas que ocorrem durante o desenvolvimento do fruto, como aparecimento de tricomas no epicarpo, formação das lenticelas, diferenciação das fibras no mesocarpo e lignificação das células do endocarpo, foram utilizados dois estádios de desenvolvimento para descrever o pericarpo: estágio I – fruto jovem e estágio II – fruto maduro. Para melhor entendimento, o pericarpo dos frutos foi dividido em três regiões anatômicas estruturalmente distintas nos dois estádios de desenvolvimento: epicarpo, mesocarpo e endocarpo.

Estádio I – O epicarpo, derivado exclusivamente da epiderme externa do ovário, é constituído por uma camada de células de paredes pecto-celulósicas periclinais externas ligeiramente convexas, com núcleos proeminentes e centrais, recobertas por cutícula delgada (Fig. 8 e 9). Tricomas tectores (Fig. 6, 7 e 12), estômatos (Fig. 9) e lenticelas em início de desenvolvimento (Fig. 10) também estão presentes no epicarpo. Os tricomas são multicelulares e unisseriados (Fig. 7 e 12), e originam-se a partir do alongamento e divisões periclinais das células epidérmicas durante o desenvolvimento dos frutos, visto que não estão presentes no ovário.

Parênquima, feixes vasculares, ilhas de floema, laticíferos e fibras em diferenciação são encontradas no mesocarpo (Fig. 7) que se desenvolve a partir do mesofilo ovariano. Durante o desenvolvimento, as células do mesocarpo não realizam muitas divisões celulares no sentido de aumentar a espessura do pericarpo, pois o número de camadas de células é muito semelhante ao que se observa no ovário: cerca de 10 a 15 camadas (Fig. 7).

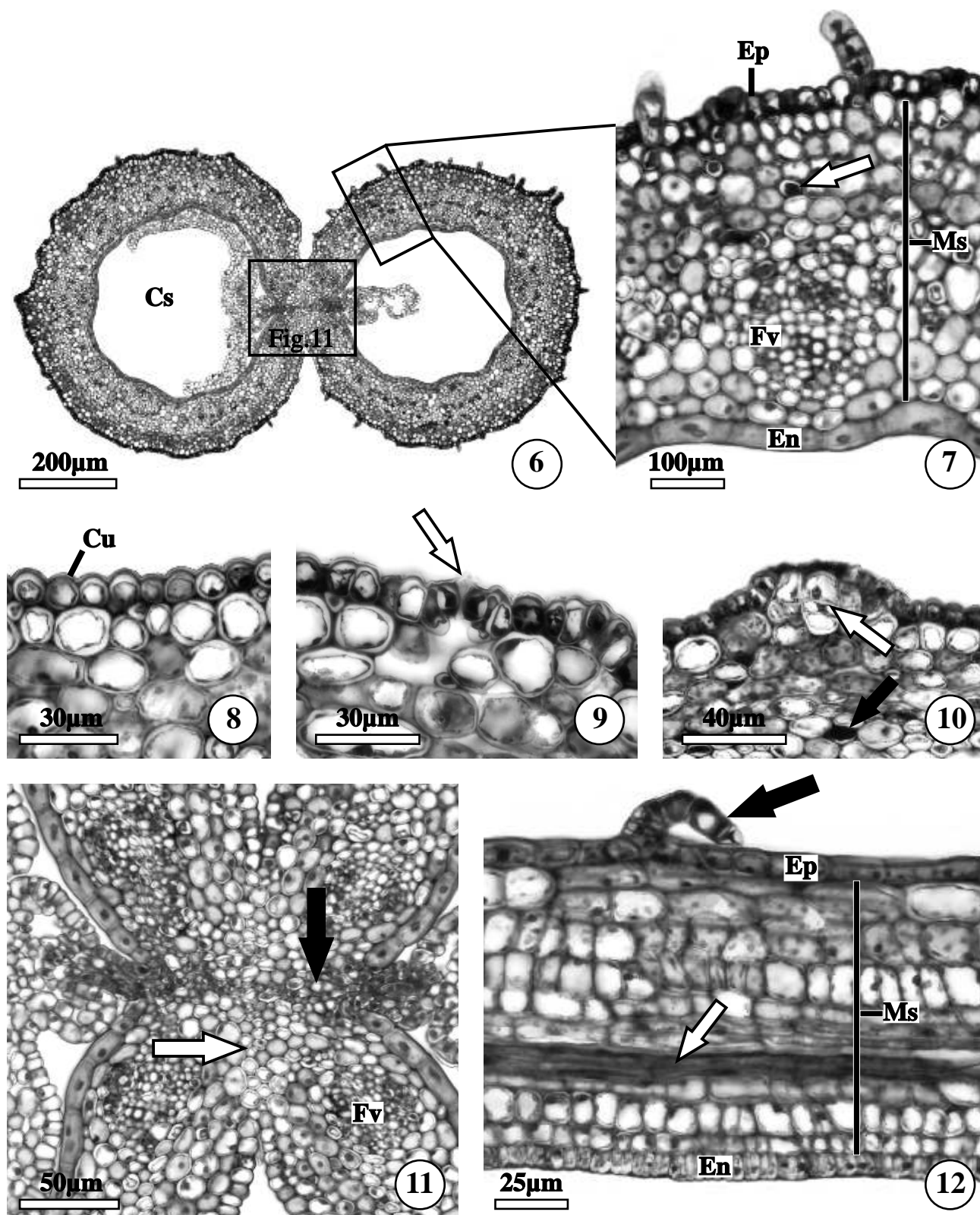
Na região mediana do mesocarpo de cada valva, encontra-se o sistema vascular do fruto, que é constituído por 8 a 10 feixes vasculares e por diversas ilhas de floema. Apesar de possuírem elementos de condução em diferentes estádios de desenvolvimento, os feixes vasculares bicolaterais são facilmente distinguidos no mesocarpo (Fig. 7 e 11). As ilhas de floema encontram-se sempre entre os feixes vasculares do mesocarpo.

Fibras em diferenciação situam-se nas proximidades do floema externo dos feixes, sendo derivadas de células parenquimáticas que se alongam e iniciam a deposição de parede secundária.

Os laticíferos possuem formato cilíndrico e alongado (Fig. 12) e estão distribuídos por todo o mesocarpo do fruto, espalhados entre as células parenquimáticas (Fig. 7, 10 e 12). Diferente do que foi verificado no ovário, os laticíferos podem ser facilmente reconhecidos pela parede pecto-celulósica levemente espessada nos ângulos de contato com as células adjacentes ou pelo conteúdo de aspecto denso (Fig. 7 e 10) que apresentam.

O endocarpo é constituído por uma camada de células epidérmicas de paredes pecto-celulósicas delgadas (Fig. 7 e 12), derivada, exclusivamente, da epiderme interna do ovário. As células do endocarpo, da mesma forma que as da epiderme interna do ovário, são alongadas no sentido transversal do fruto (Fig. 7).

As valvas da cápsula bicarpelar são unidas entre si (Fig. 6) por uma região de conação, formada



**Figuras 6 – 12.** Secções do fruto jovem (estádio I) de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson. **6 - 11.** Secções transversais. **12.** Secção longitudinal. **6.** Aspecto geral das valvas do fruto. **7.** Detalhe do pericarpo (seta = laticífero). **8.** Detalhe do epicarpo. **9.** Detalhe de um estômato (seta). **10.** Início de formação de lenticela (seta branca); seta preta = laticífero. **11.** Pormenor da figura 6, evidenciando a região de união dos carpelos (seta branca) e a região de ligação da folha carpelar (seta preta). **12.** Detalhe do pericarpo (seta branca = laticífero; seta preta = tricoma tector). Cs = cavidade seminal; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Fv = feixe vascular; Ms = mesocarpo

por células parenquimáticas (Fig. 11). As valvas são fechadas e possuem, cada uma, uma região de deiscência que consiste no local de união da folha carpelar, constituída por células parenquimáticas pequenas, de paredes delgadas e citoplasma de aspecto denso (Fig. 11).

Estádio II – As principais mudanças que ocorrem no epicarpo dos frutos são o espessamento da parede das células epidérmicas (Fig. 13, 16, 17 e 22) e a diminuição na quantidade de tricomas tectores. O epicarpo é constituído ainda por uma camada de células epidérmicas, porém nesta fase as células possuem espessamento pecto-celulósico de parede (Fig. 13, 16, 17 e 22). O formato das células permanece oval e o contorno da parede periclinal continua sinuoso, sendo recobertas por cutícula que se torna mais espessa (Fig. 24). À medida que o fruto vai crescendo, ocorre diminuição dos tricomas tectores, sendo raramente encontrados nos frutos maduros. Ocorre também desenvolvimento e aumento na quantidade de lenticelas nos frutos (Fig. 20 e 21) que são constituídas por células suberosas (Fig. 21). Estômatos ainda podem ser encontrados no epicarpo (Fig. 22), porém são menos freqüentes. Em algumas regiões do fruto observa-se a formação de uma periderme com células suberosas de paredes delgadas.

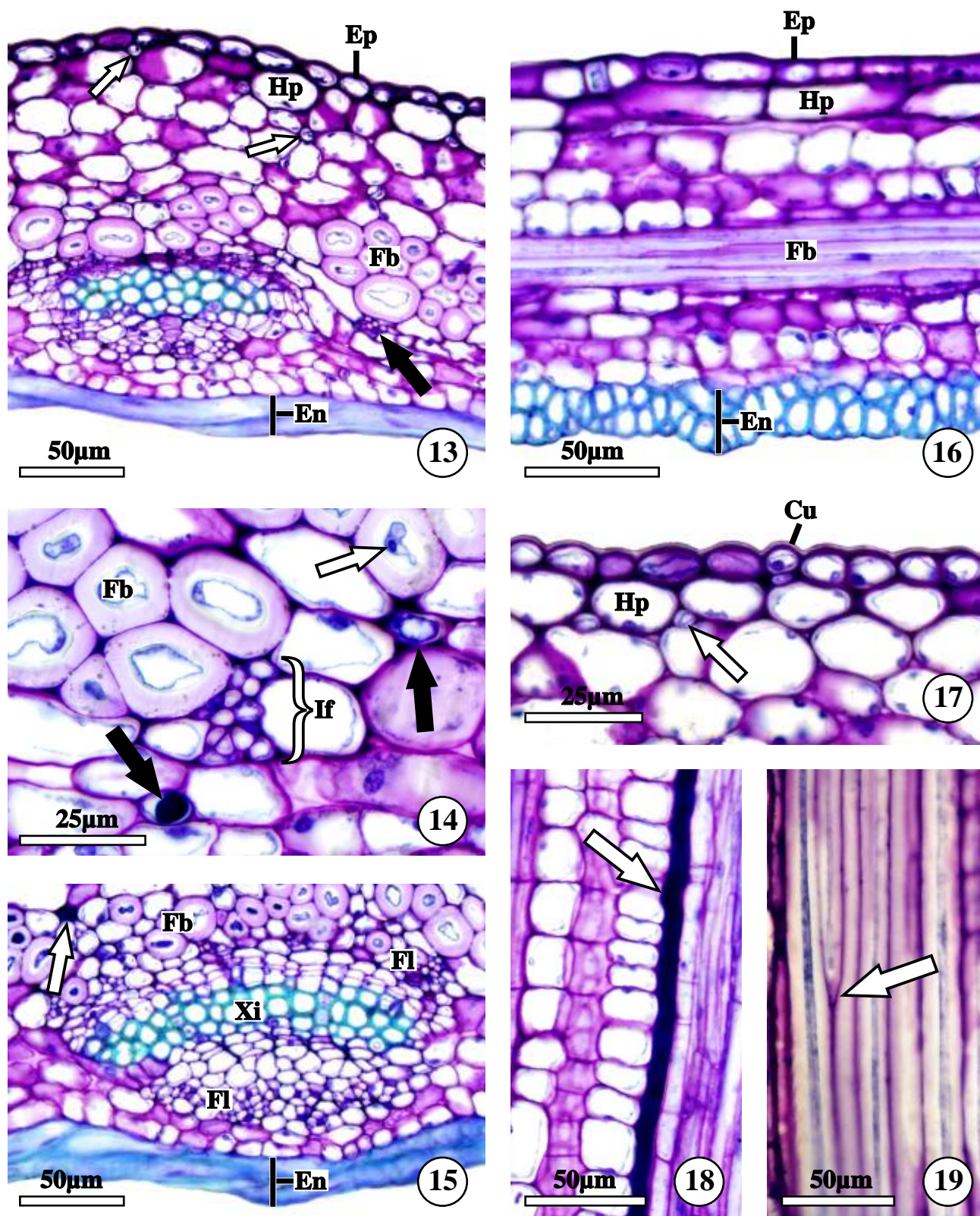
O mesocarpo possui o mesmo número de camadas do estágio anterior, indicando que não houve muitas divisões celulares entre os estádios I e II (Fig. 13, 16 e 20). A mudança mais expressiva neste estágio é a diferenciação das fibras (Fig. 13, 14, 15, 16, 19 e 20), da hipoderme colenquimática (Fig. 13, 16 e 17) e dos feixes vasculares (Fig. 13, 15 e 23).

Em contato direto com o epicarpo existe uma camada de células colenquimatosas de paredes pecto-celulósicas ligeiramente espessadas (Fig. 13, 16 e 17), formando uma hipoderme. Estas células são levemente alongadas no sentido longitudinal do fruto (Fig. 16) e podem apresentar cloroplastos.

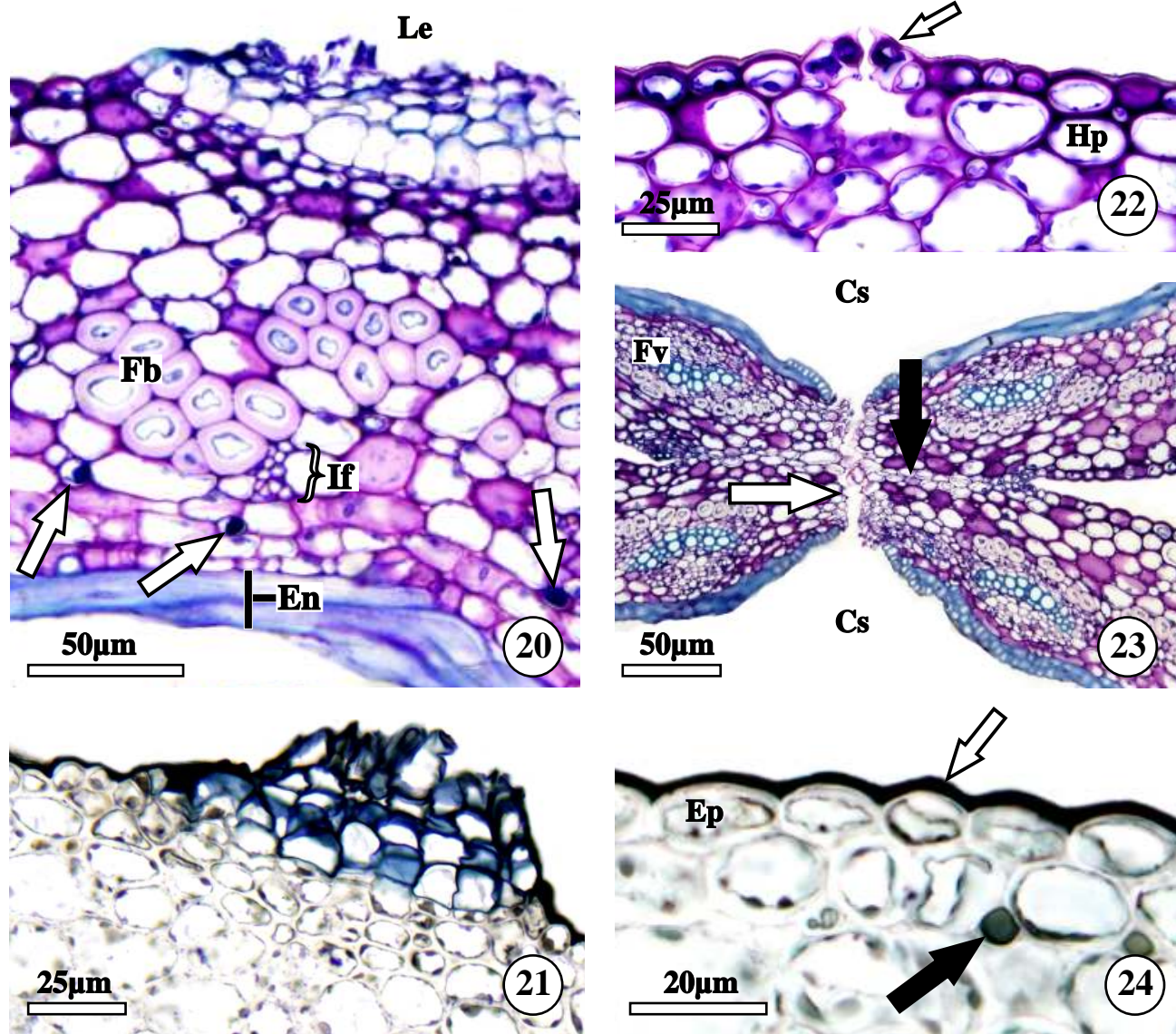
Neste estágio, as células parenquimáticas do mesocarpo possuem paredes pecto-celulósicas mais espessas (Fig. 13, 16 e 20) quando comparadas com o estágio anterior. A última camada de células parenquimáticas do mesocarpo, em contato direto com o endocarpo, é formada por células pequenas, de paredes delgadas e sinuosas sendo facilmente distinguidas das demais.

As fibras, originadas a partir de células parenquimáticas do fruto jovem, encontram-se totalmente diferenciadas (Fig. 13, 14, 15, 16, 19 e 20). São alongadas no sentido longitudinal do fruto (Fig. 16 e 19) e formam um anel periférico, quase contínuo, por todo o mesocarpo (Fig. 13 e 20), estando quase sempre em associação com os feixes vasculares (Fig. 13 e 15) e com as ilhas de floema (Fig. 13, 14 e 20). Estas células possuem parede secundária extremamente espessa (Fig. 14 e 19), com um padrão diferente do esperado para este tipo celular, pois apresentam coloração púrpura e não verde ao ser corada com azul de toluidina (Fig. 13, 14, 15, 16, 19 e 20). Com a realização do teste de floroglucina acidificada, foi constatada a ausência de lignina na parede das fibras e confirmada a natureza pecto-celulósica da mesma. Em algumas fibras, constatou-se a presença de citoplasma e núcleo (Fig. 14), mostrando que ainda estão vivas neste estágio de desenvolvimento.

Os feixes vasculares, agora totalmente diferenciados (Fig. 13 e 15), distribuem-se ainda na



**Figuras 13 – 19.** Secções do fruto maduro (estádio II) de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson. **13, 14, 15 e 17.** Secções transversais. **16, 18 e 19.** Secções longitudinais. **13.** Aspecto geral do pericarpo (setas brancas = laticíferos; seta preta = ilha de floema). **14.** Detalhe das fibras, laticíferos (setas pretas) e ilha de floema (seta branca = núcleo da fibra). **15.** Detalhe do feixe vascular bicoloral e do endocarpo (seta = laticífero). **16.** Aspecto geral do pericarpo. **17.** Detalhe do epicarpo e da hipoderme colenquimática (seta = laticífero). **18.** Laticífero com látex denso (seta). **19.** Fibras (seta = extremidade afilada de uma fibra). Cu = cutícula; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Hp = hipoderme; If = ilha de floema; Fb = fibra; Fl = floema; Xi = xilema



**Figuras 20 – 24.** Secções transversais do fruto maduro (estádio II) de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson. **20, 22 e 23.** Azul de toluidina. **21 e 24.** Teste com Sudan black B. **20.** Aspecto geral do pericarpo do fruto (setas brancas = laticíferos). **21.** Lenticela; notar suberina nas paredes das células. **22.** Detalhe da epiderme com estômato e hipoderme colenquimática. **23.** Detalhe da região de união das valvas (seta preta) e da linha de deiscência de cada valva (seta branca). **24.** Detalhe do epicarpo com cutícula (seta branca) e do laticífero (seta preta). En = endocarpo; Ep = epicarpo; Hp = hipoderme; If = ilha de floema; Fb = fibra; Fl = floema; Fv = feixe vascular; Xi = xilema

região mediana do mesocarpo (Fig. 13), internamente ao anel de fibras. Todos os feixes encontrados são bicolaterais (Fig. 15), e possuem o floema interno (voltado para o endocarpo) mais desenvolvido que o externo, que é protegido pelas fibras. As ilhas de floema (Fig. 13, 14 e 20) são mais distinguíveis que no estágio anterior e ocorrem somente na região interfascicular.

Os laticíferos (Fig. 13, 14, 15, 18 e 20) tornam-se mais evidentes no mesocarpo, devido à espessura da parede (Fig. 14), que é mais pronunciada nos ângulos de contato entre as células parenquimáticas que o circundam (Fig. 12), além do fato de possuírem formato alongado (Fig. 18) e conteúdo de aspecto denso (Fig. 14, 15, 18 e 20). Nota-se que os laticíferos mais próximos ao epicarpo (Fig. 13 e 17) são menos calibrosos que os localizados na região mediana do mesocarpo ou próximos ao endocarpo.



Durante o amadurecimento do fruto, as células do endocarpo produzem parede secundária espessa e se transdiferenciam em esclerócitos (Fig. 13, 15, 16 e 20). Estes esclerócitos são lignificados, pois coram em verde com azul de toluidina (Fig. 13, 15, 16 e 20) e em vermelho com floroglucina acidificada, sendo revestidos por cutícula delgada. São células alongadas preferencialmente no sentido transversal (Fig. 13 e 20) do fruto, mas próximo a região de deiscência, encontram-se células alongadas no sentido longitudinal (Fig. 23). Na maior parte do pericarpo o endocarpo é constituído por apenas uma camada de células, mas em alguns trechos podemos encontrar duas camadas de células, sendo a segunda derivada do mesofilo ovariano (Fig. 16). Em algumas regiões o endocarpo parece ser bisseriado, pelo fato das extremidades das células alongadas se sobreporem (Fig. 13).

Neste estágio de desenvolvimento, o fruto ainda encontra-se fechado, portanto ainda observa-se as duas regiões de deiscência: a região de união de cada valva e a região de união entre as valvas do fruto (Fig. 23), ambas constituídas por células parenquimáticas de paredes delgadas.

## Discussão

### Classificação morfológica

Frutos de muitas espécies de *Prestonia* R. Br. têm sido descritos como foliculares (Woodson 1936; Markgraf 1968; Rio & Kinoshita 2005) ou do tipo folicário (Aguiar *et al.* 2009), possuindo, em muitos casos, os frutículos unidos pelo ápice, separando-se na maturidade. O fruto de *P. coalita* tem sido referido na literatura como par de folículos (Simões & Kinoshita 2002; Rio & Kinoshita 2005) ou como cápsula septicida (Gomes 2008). Frutos do tipo cápsula estão descritos somente nas subfamílias Rauvolfioideae, como os de *Allamanda* L. (Sakane & Shepherd 1986), originados a partir de gineceu de sincarpia mista (Gomes 2006), e *Plectaneia* Thou. (Endress & Bruyns 2000).

O termo folículo, empregado para a maioria dos representantes do gênero, refere-se a frutos unicarpelares e univalvares que apresentam deiscência por uma única sutura longitudinal (Judd 1985), que pode ocorrer na região ventral (Linnaeus 1759) ou, raramente, na região dorsal (Souza 2006). Já o termo cápsula é empregado para frutos simples, secos ou carnosos, provenientes de ovário súpero ou ínfero, bicarpelares a pluricarpelares, plurispérmicos e deiscentes mediante fendas longitudinais (Souza 2006). Quando a deiscência ocorre ao longo da nervura mediana, produzindo valvas constituídas, cada uma, de metades de dois carpelos adjacentes, as cápsulas são denominadas loculicidas (Barroso *et al.* 1999); quando a deiscência ocorre ao longo de uma sutura ventral, produzindo valvas que correspondem a carpelos completos, as cápsulas são septicidas (Hertel 1959; Spjut 1994).

Por meio de estudos ontogenéticos, pode-se concluir que os frutos de *P. coalita* são na verdade cápsulas septicidas bivalvares, pois são unidas através de conexão de tecidos por todo o comprimento do fruto e não somente pelo ápice como sugerido por Rio & Kinoshita (2005). Apesar de cada valva do fruto de *P. coalita* ser muito semelhante morfológica e anatomicamente a um folículo, foi observado por Gomes (2006) e no presente trabalho que as flores possuem gineceu sincárpico, sendo desta forma incoerente a classificação dos frutos como folículos. Assim sendo, os resultados deste trabalho

corroboram com o trabalho de Gomes (2008) que registra pela primeira vez a existência de cápsula septicida no gênero e para a subfamília Apocynoideae, além de enfatizar a necessidade de estudos ontogenéticos para corretas descrições morfológicas.

Outros frutos de morfologia semelhante à de *P. coalita* já foram estudados, como os de *Nerium oleander* L. (Thomas & Dave 1991), *Parsonsia spiralis* Wall., *Vallaris solanaceae* O. Ktze. e *Wrightia tomentosa* Roem. & Schult. (Thomas & Dave 1994) e foram tratados como “folículos fusionados”. Com base nos resultados do presente trabalho sugere-se que sejam realizados estudos da mesma natureza nos frutos acima mencionados, com o objetivo de verificar se não se tratam de cápsulas septicidas, da mesma forma que os frutos de *P. coalita*.

### Estrutura do pericarpo

O epicarpo de *P. coalita* é classificado como *sensu stricto*, pois se origina exclusivamente da epiderme do ovário, e assemelha-se muito com o de *Prestonia riedelii* (Müll. Arg) Markgr. (Aguiar *et al.* 2009), por apresentar uma camada de células, estômatos, cutícula e tricomas tectores multicelulares. Nossas observações contradizem o trabalho de Gomes (2008), que ao estudar frutos maduros de *P. coalita* considerou o epicarpo da espécie como multisseriado *sensu lato*, sendo constituído pela epiderme unisseriada e por uma camada de colênquima.

Epicarpo unisseriado é muito comum na família Apocynaceae e já foi descrito para várias espécies (Mahran *et al.* 1967; Zala *et al.* 1976; Castro 1986; Kuriachen & Dave 1989; Dave & Kuriachen 1990; Kuriachen *et al.* 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Souza & Moscheta 1992; Thomas & Dave 1994; Aguiar 2003; Souza *et al.* 2004; Gomes 2008; Aguiar *et al.* 2009). No entanto epicarpo multisseriado já foi descrito para *Tylophora dalzellii* Hook. f. (Kuriachen *et al.* 1990), *Hemidesmus indicus* R. Br. (Dave & Kuriachen 1991), *N. oleander* (Thomas & Dave 1991), *Aganosma caryophyllata* G. Don, *Holarrhena antidysenteria* (L.) Wall., *Strophanthus wallichii* A. DC., *V. solanacea*, *Wrightia tinctoria* (Roxb.) R. Br., *W. tomentosa* (Thomas & Dave 1994) e *Aspidosperma parvifolium* A. DC. (Gomes 2008), sendo que em todas estas espécies o epicarpo é considerado *sensu lato*, pois é formado por uma camada de células epidérmicas e camadas subseqüentes de células colenquimáticas e/ou esclerenquimáticas subepidérmicas. Somente em algumas regiões do pericarpo de *A. caryophyllata* (Thomas & Dave 1994), observa-se epicarpo multisseriado *sensu stricto*.

Cutícula espessa, observada nos folículos de *P. coalita*, é um caráter muito comum em frutos de Apocynaceae (Mahran *et al.* 1967; Zala *et al.* 1976; Castro 1986; Kuriachen & Dave 1989; Kuriachen *et al.* 1990; Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Souza & Moscheta 1992; Kuriachen *et al.* 1993; Thomas & Dave 1994; Aguiar 2003; Aguiar *et al.* 2009). A cutícula possui papel fundamental na diminuição da perda de água para o ambiente (Thomas & Dave 1994), sendo esta função de grande importância em *P. riedelii* visto que esta planta está submetida a altas intensidades luminosas, pois geralmente é encontrada em encostas e bordas de matas (Aguiar *et al.* 2009). Estriações cuticulares estão presentes em folículos de *Calotropis procera* (Ailton) W. T. Ailton (Mahran *et al.*

1967; Dave & Kuriachen 1987; Kuriachen *et al.* 1991), *Asclepias curassavica* L. (Dave & Kuriachen 1990), *T. dalzellii* (Kuriachen *et al.* 1990), *Calotropis gigantea* W. T. Ailton e *Tylophora indica* Merr. (Kuriachen *et al.* 1992), mas não foram observadas em *P. coalita*.

Tricomas de cobertura multicelulares e unisseriados foram observados no epicarpo de *P. coalita*, da mesma forma que em *C. procera* (Mahran *et al.* 1967; Dave & Kuriachen 1987), *Catharanthus roseus* G. Don (Zala *et al.* 1976), *Araujia hortorum* E. Fourn. (Castro 1986), *Pergularia daemia* (Forssk.) Chiov. (Kuriachen & Dave 1989), *A. caryophyllata*, *Ichnocarpus frutescens* R. Br. e *W. tinctoria* (Thomas & Dave 1994) e *P. riedelii* (Aguiar *et al.* 2009), tendo provável função de contribuir para a redução da transpiração. Já em *H. indicus* (Dave & Kuriachen 1991), *C. roseus*, *P. spiralis* e *V. solanacea* (Thomas & Dave 1994) os tricomas são unicelulares. Somente no epicarpo de *N. oleander* (Thomas & Dave 1991) e de *T. indica* (Kuriachen *et al.* 1992) existem tricomas uni e multicelulares.

Da mesma forma que *P. coalita*, praticamente todos os frutos estudados de espécies de Apocynaceae possuem estômatos (Mahran *et al.* 1967; Zala *et al.* 1976; Dave & Kuriachen 1987; Kuriachen & Dave 1989; Kuriachen *et al.* 1990; Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Thomas & Dave 1994; Gomes 2008), sendo classificados como paracíticos, anomocíticos ou ciclocíticos. Em *Aspidosperma polyneuron* Müll. Arg. (Souza & Moscheta 1992), *P. spiralis* e *S. wallichii* (Thomas & Dave 1994), *A. parvifolium* e *Mesechites mansoana* (A. DC.) Woodson (Gomes 2008) os estômatos são substituídos por lenticelas, fato observado também neste trabalho.

Fibras não lignificadas estão presentes no mesocarpo de *P. coalita* e são semelhantes às encontradas em *P. riedelii* (Aguiar *et al.* 2009) e em diversas outras espécies da família (Thomas & Dave 1994). Kuriachen *et al.* (1990) denominaram estas células de fibras celulósicas, termo utilizado por pesquisadores em outros trabalhos (Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1992) para nomear as células formadoras das bainhas vasculares. Neste trabalho, assim como no de Gomes (2008) e no de Aguiar *et al.* (2009), foi realizado o teste com floroglucina acidificada para confirmar a ausência de lignina nas fibras e a natureza pecto-celulósica das mesmas. Segundo Esau (1965), a presença de lignina não é uma condição indispensável às fibras, pois fibras extra-xilemáticas podem ou não se apresentar lignificadas. Nas espécies descritas em outros trabalhos (Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Thomas & Dave 1994) as fibras protegem os feixes vasculares, fato também observado no pericarpo de *P. coalita*. Percebe-se que estas células não estão presentes somente em frutos, pois Larrosa & Duarte (2005) também encontraram fibras sem lignificação no pecíolo de *Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson. Segundo Roth (1977), as fibras do mesocarpo dos frutos atuam como um tecido de resistência, mas no caso de *P. coalita*, além desta função, acredita-se que estas células contribuam também para a proteção contra fitófagos, por protegerem o floema externo dos feixes vasculares, e na deiscência do fruto, por exibir grande capacidade de absorção e perda de água, criando uma tensão higroscópica no pericarpo. A hidrofília apresentada pela parede faz com que esta célula tenha capacidade e facilidade de perder água rapidamente, auxiliando o mecanismo higroscópico-

xerocástico de deiscência do fruto. Em dias quentes, estas células perdem água e a parede sofre retração que, junto da retração das células parenquimáticas do mesocarpo, contribui para a contração do pericarpo e conseqüente ruptura na região de deiscência.

Segundo Gorshkova & Morvan (2006), fibras não lignificadas são semelhantes a fibras gelatinosas, pois os autores a tratam como sinônimos. Neste trabalho, pode-se observar que as fibras não lignificadas do mesocarpo de *P. coalita* são diferentes das fibras gelatinosas, pois as últimas apresentam a camada mais externa lignificada e a camada mais interna (camada G) não lignificada, rica em celulose e hidrofílica (Ranjani & Krishnamurthy 1988; Evert 2006). Com a realização do teste de floroglucina acidificada, pode-se constatar que as fibras dos frutos de *P. coalita*, da mesma forma que as presentes nos frutos de *P. riedelii* (Aguiar *et al.* 2009), não possuem lignina em nenhuma de suas camadas, fazendo com que não possam ser classificadas como gelatinosas.

Laticíferos são células (ou fileiras de células) espalhadas por todo o corpo da planta, contendo um fluido chamado látex (Esau 1965; Evert 2006), que possui uma composição química muito variada (Fahn 1979). Sua função é de proteger a planta contra herbivoria, microorganismos e também selar ferimentos (Fahn 1979, 1990; Farrell *et al.* 1991; Hunter 1994). Os laticíferos também se desenvolvem em frutos e já foram reportados em várias espécies como *Ficus carica L.* (Moraceae), *Carica papaya L.* (Caricaceae) e *Papaver somniferum L.* (Papaveraceae) (Roth 1977). Como a presença de laticíferos é universal na família (Cronquist 1981), diversos trabalhos citam a presença de destas estruturas em frutos (Mahran *et al.* 1967; Castro 1986; Kuriachen & Dave 1989; Kuriachen *et al.* 1990; Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Souza & Moscheta 1992; Thomas & Dave 1994; Souza *et al.* 2004; Gomes 2008; Aguiar *et al.* 2009). Em *P. coalita*, os laticíferos estão localizados por todo o mesocarpo do fruto, apresentando parede pecto-celulósica espessada, principalmente nos ângulos de contato com as células parenquimáticas que o margeiam, e conteúdo de aspecto denso. Na maioria dos trabalhos de anatomia de frutos em Apocynaceae (Castro 1986; Kuriachen & Dave 1989; Kuriachen *et al.* 1990; Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1991; Thomas & Dave 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Thomas & Dave 1994; Souza *et al.* 2004), os laticíferos são descritos como não-articulados, mas em nenhum destes trabalhos estudou-se com detalhe o desenvolvimento destas estruturas nos frutos. Por meio de estudos de ontogenia, Demarco *et al.* (2006) demonstraram a ocorrência de laticíferos articulados em *Aspidosperma australe* Müll. Arg. e *Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn., sugerindo o mesmo para outras espécies da família Apocynaceae.

O sistema vascular de *P. coalita* consiste de feixes vasculares bicolaterais e ilhas de floema. Feixes vasculares bicolaterais são freqüentes em frutos de espécies de Apocynaceae (Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1990; Kuriachen *et al.* 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Thomas & Dave 1991; Thomas & Dave 1994; Aguiar *et al.* 2009) e é o único tipo de feixe encontrado no mesocarpo de *P. coalita*. Outros tipos de feixes vasculares, como colaterais (Dave & Kuriachen 1991; Kuriachen *et al.* 1990; Kuriachen *et al.* 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Thomas & Dave 1991; Thomas & Dave 1994;

Aguiar *et al.* 2009) e concêntricos (Souza & Moscheta 1992; Gomes 2008), também foram encontrados em frutos de espécies da família. O floema externo dos feixes e as ilhas de floema são margeados por fibras, que certamente garantem uma proteção contra o acesso de fitófagos à seiva.

O endocarpo, segundo Roth (1977), pode se originar da epiderme interna do ovário (endocarpo *sensu stricto*), somente das camadas subepidérmicas do tecido fundamental ovariano, ou ainda da combinação de ambas (endocarpo *sensu lato*). Em *P. coalita*, o endocarpo desenvolve-se a partir da epiderme interna do ovário e, somente em algumas regiões, de uma camada subepidérmica interna do mesofilo ovariano, diferente do que foi observado por Aguiar *et al.* (2009) para *P. riedelii*, que possui endocarpo bisseriado e de disposição cruzada. A lignificação do endocarpo de *P. coalita* ocorre somente no fruto maduro, facilitando, desta forma, o crescimento das sementes na cavidade seminal.

A tabela (2) mostra os principais caracteres anatômicos presentes em frutos de *P. coalita* (presente trabalho e Gomes 2008) e *P. riedelii* (Aguiar *et al.* 2009).

**Tabela 2.** Tabela comparativa entre as principais características morfológicas e anatômicas presentes nas flores e frutos de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (presente trabalho e Gomes 2008) e *Prestonia riedelii* (Müll. Arg) Markgr. (Aguiar *et al.* 2009). + = presente; - = ausente; ... = dado não informado

Características morfológicas e anatômicas	<i>P. coalita</i> (presente trabalho)	<i>P. coalita</i> (Gomes 2008)	<i>P. riedelii</i> (Aguiar <i>et al.</i> 2009)
posição do ovário	semi-ínfero	...	súpero
união dos carpelos	sincárpico	sincárpico	hemi-sincárpico
tipo de fruto	cápsula septicida bivalvar	cápsula bicarpelar septicida	folicário
número de camadas do epicarpo	1	2	1
estômatos	+	+	-
cutícula	+	...	+
tricomatos	+	+	+
espessamento de parede das células epidérmicas	+	...	+
lenticelas	+	+	-
periderme	+	...	-
n <sup>o</sup> de camadas no mesocarpo	10 a 15	8 a 11	30 a 35
hipoderme	+	-	+
fibras não lignificadas	+	+	+
laticíferos	+	+	+
ilhas de floema	+	...	+
tipo de feixe vascular	bicolateral	bicolateral	colateral e bicolateral
número de camadas do endocarpo	1 a 2	1 a 2	2
tipo de célula do endocarpo	esclerócito	fibra	esclerócito
lignificação das células do endocarpo	+	+	+
orientação das células do endocarpo	cruzada (transversal e longitudinal)	transversal	cruzada (transversal e longitudinal)
tipo de deiscência	septicida e sutural	septicida	marginal
região de deiscência	+	+	+

## Conclusões

O estudo ontogenético foi fundamental na caracterização morfológica dos frutos de *P. coalita* que, anteriormente descritos como foliculares, são na verdade cápsulas septicidas bivalvares. A análise da estrutura do pericarpo, além de ser importante na classificação morfológica dos frutos, demonstrou ser importante nos estudos filogenéticos, pois a espécie possui características anatômicas compartilhadas por várias espécies da família, além de possuir características anatômicas próprias, que podem ser utilizadas para a identificação da mesma.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa concedida ao primeiro autor durante a elaboração deste trabalho e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio à pesquisa fornecido (proc. 01/12364-0). Agradecimentos especiais a Dr<sup>a</sup>. Maria Carolina Scatolin do Rio e a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sueli Maria Gomes por terem cedido parte do material botânico utilizado na elaboração deste trabalho.

## 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.; Carmello-Guerreiro, S.M. & Kinoshita, L.S. 2009. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr. (Apocynaceae). **Acta Botanica Brasilica**
- Albers, F. & Meve, U. 2001. A karyological survey of Asclepiadoideae, Periplocoideae and Secamonoideae and evolutionary considerations within Apocynaceae *s.l.* **Annals of the Missouri Botanical Garden** **88**: 624–656.
- Almeida, S.P. de; Proença, C.E.B.; Sano, S.M. & Ribeiro, J.F. 1988. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina, Embrapa/CPAC.
- APG II (The Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update on the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society** **141**: 399–436.
- 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.A. 1986. Anatomia del fruto de *Araujia horotorum* E. Fourn. (Asclepiadaceae). **Parodiana** **4**: 195–203.
- 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.

- Cronquist, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York, Columbia University Press.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1987. Structure and development of stomata on the fruit wall of *Calotropis procera* (Arr.) R. BR. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences – Plant Sciences** **97**(6): 449–456.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1990. Structure and development of the follicle of *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae) with note on dehiscence. **Beitrage zur Biologie der Pflanzen** **65**: 109–122.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1991. Comparative anatomical characters of *Periplocaceae* follicles and their taxonomic significance. **Feddes Repertorium** **102**(1/2): 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. Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. **The Botanical Review** **66**(1): 1–56.
- 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**. 2<sup>nd</sup> ed. Tokyo, Toppan Company LTDA.
- Evert, R.F. 2006. **Esau's plant anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body – their structure, function and development**. New Jersey, John Wiley & Sons, Inc.
- Fahn, A. 1979. **Secretory tissues in plants**. London, Academic Press.
- Fahn, A. 1990. **Plant anatomy**. Oxford, Pergamon Press.
- Farrel, B.D.; Dussourd, D.E. & Mitter, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? **American Naturalist** **138**: 881–900.
- 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. 2006. **Ontogênese floral com ênfase no estudo do gineceu em Apocynaceae s.l.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Gomes, S.M. 2008. Morfo-anatomia de frutos e sementes em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. **Acta Botanica Brasilica** **22**: 521–534.
- Gorshkova, T. & Morvan, C. 2006. Secondary cell-wall assembly in flax phloem fibers: role of galactans. **Planta** **223**: 149–158.
- Hertel, R.J.G. 1959. Contribuições para a fitologia teórica II. Algumas concepções na carpologia. **Humanitas** **4**: 1–43.
- Hunter, J. R. 1994. Reconsidering the functions of latex. **Tree** **9**: 1–5.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Company.
- Judd, W.S. 1985. A revised traditional/descriptive classification of fruits for using in floristics and teaching. **Phytologia (Huntsville)** **58** (4): 233–242.

- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A. & Stevens, P.F. 2002. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland, Massachusetts, USA, Sinauer Associates Inc. Publishers.
- Julio, P.G.S. & Oliveira, D.M.T. 2007. Morfoanatomia e ontogênese do fruto e da semente de *Styrax camporum* Pohl. (Styracaceae), espécie de cerrado do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica** 30(2): 189–203.
- Kinoshita, L.S. (coord.). 2005. Apocynaceae. Pp. 35 – 91. 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.
- Kinoshita, L.S. & Simões, A.O. 2005. *Hancornia* Gomes. Pp. 54. 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.
- Koch, I. 2002. **Estudos das espécies neotropicais do gênero *Rauvolfia* L. (Apocynaceae)**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Koch, I. 2005. *Rauvolfia* L. Pp. 78. 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.
- Koch, I. & Kinoshita, L.S. 1999. As Apocynaceae s. str. da região de Bauru, São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 13: 61 – 86.
- 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(1): 15 – 20.
- Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1990. Morphohistogenic studies in the follicle of *Tylophora dalzellii* HK. F. **Phytomorphology** 40(3/4): 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(2): 107 – 112.
- Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1992. Taxonomic and phylogenetic significance of fruit walls in Asclepiadaceae. **Feddes Repertorium** 103(3/4): 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(3/4): 227 – 235.
- Larrosa, C.R.R. & Duarte, M.R. 2005. Contribuição ao estudo anatômico de *Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson, Apocynaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 15: 110 – 114.
- Linnaeus, C. 1759. **Systema naturae II**. Holmiae, Laurentii Salvii.
- Mahran, G.H.; Saber, A.H. & Rizkallah, M.M. 1967. *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. IV. The fruits, its macro- and micromorphology. **Journal of Pharmacological Sciences of United Arab Republic** 9: 81 – 100.
- Markgraf, F. 1968. Apocináceas. Pp. 1 – 112. In: P.R. Reitz (ed.). **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues.



- Martins, M.A.G. & Oliveira, D.M.T. 2007. Morfoanatomia comparada dos frutos em desenvolvimento de *Vernonia brevifolia* Less. e *V. herbacea* (Vell.) Rusby (Asteraceae). **Revista Brasileira de Botânica** **30**(1): 101 – 112.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1983. **Anatomy of the dicotyledons: wood structure and conclusion of the general introduction**. London, Oxford.
- O'Brien, T.P.; Feder, N. & Mc Cully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** **59**(2): 368 – 373.
- Pearse, A.G.E. 1985. **Histochemistry theoretical and applied**. vol. 2. Edinburgh, C. Livingstone.
- 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.
- Ranjani, K. & Krishnamurthy, K.V. 1988. The gelatinous fibres of Caesalpiniaceae. **Canadian Journal of Botany** **66**: 394 – 399.
- Rio, M.C.S. do & Kinoshita, L.S. 2005. *Prestonia* (Apocynaceae) do Sul e Sudeste do Brasil. **Hoehnea** **32**(2): 233 – 258.
- Rizzini, C.T. & Mors, W.B. 1976. **Botânica Econômica Brasileira. São Paulo, EPU USP**.
- Roth, I. 1977. **Fruits of angiosperms: encyclopedia of plant anatomy**. Berlin, Gebrüder Borntraeger.
- Sakane, M. & Shepherd, G.J. 1986. Uma revisão do gênero *Allamanda* L. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **9**: 125 – 149.
- Simões, A.O. & Kinoshita, L.S. 2002. The Apocynaceae s. str. of the Carrancas region, Minas Gerais, Brazil. **Darwiniana** **40**(1/4): 127 – 169.
- Simpson, M.G. 2007. **Plant systematics**. London, Elsevier Academic Press.
- Souza, L.A. 2006. Fruto. Pp. 11 – 163. In: L.A. Souza (org.). **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa, UEPG.
- Souza, L.A.; Iawazaki, 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. & Moscheta, I.S. 1992. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Biologia** **52**(3): 439 – 447.
- 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.
- Spjut, R.W. 1994. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden** **70**: 1 – 82.
- 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**(1): 9 – 20.

- Woodson Jr., R.E. 1936. Studies in the Apocynaceae IV – the American genera of Echioideae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **23**: 341 – 611.
- Zala, J.V.; Patel, N.D. & Dave, Y.S. 1976. Structure of the developing and dry pericarp of *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). **Flora** **165**: 335 – 360.

## Capítulo 4

### Anatomia de frutos em Asclepiadoideae (Apocynaceae)<sup>1</sup>

Shesterson Aguiar<sup>2</sup>, Sandra Maria Carmello-Guereiro<sup>2,3</sup> e Luiza Sumiko Kinoshita<sup>2</sup>

**Resumo:** As espécies da subfamília Asclepiadoideae (Apocynaceae) possuem frutos do tipo folículo, muito semelhantes quanto à morfologia. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo dos caracteres anatômicos presentes em frutos de espécies desta subfamília que pudessem auxiliar na identificação das espécies e no seu maior conhecimento. Frutos de *Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn., *Oxypetalum appendiculatum* Mart., *O. balansae* Malme e *O. glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquete foram coletados, fixados e submetidos a técnicas usuais de anatomia. O pericarpo de todos os frutos estudados é constituído por um epicarpo unisseriado revestido por cutícula espessa, sendo estriada somente em *B. bicuspidatum*. Todas as espécies possuem estômatos, mas tricomas de cobertura estão presentes somente em *O. appendiculatum*. O mesocarpo de todas as espécies é muito similar, pois é constituído de parênquima fundamental, fibras, laticíferos, feixes vasculares, ilhas de floema e aerênquima. As fibras possuem paredes espessas e sem lignina, sendo achatadas em *O. glaziovii* e arredondadas nas demais espécies. Os laticíferos estão distribuídos por todo o mesocarpo e possuem parede pecto-celulósica levemente espessa. Idioblastos com cristais do tipo drusa estão presentes somente no mesocarpo de *O. appendiculatum*. Todas as espécies apresentam endocarpo lignificado uni ou bisseriado.

**Palavras - chave:** *Blepharodon bicuspidatum*, *Oxypetalum appendiculatum*, *Oxypetalum balansae* e *Oxypetalum glaziovii*

### Introdução

Tradicionalmente, Asclepiadaceae era reconhecida como uma família distinta de Apocynaceae, principalmente com base na presença de um ginostégio e de polínias (Souza & Lorenzi 2008). Os estudos recentes em filogenia revelaram que, embora os gêneros reconhecidos em Asclepiadaceae formem um grupo bem definido, o seu reconhecimento como uma família à parte torna as Apocynaceae um grupo parafilético (Sennblad & Bremer 1996; Endress & Stevens 2001). Estudos cladísticos e moleculares apóiam o conceito da junção de Apocynaceae *sensu stricto* com Asclepiadaceae (Endress & Bruyns 2000; Rapini *et al.* 2001). Desta forma, Apocynaceae *sensu lato* tornou-se uma das maiores e mais representativas famílias de Angiospermas, contendo, em seus limites atuais, cerca de 400 – 480 gêneros e 4.300 – 4.800 espécies com distribuição pantropical e em climas temperados (Albers & Meve 2001; Potgieter & Albert 2001; APG 2003), incluindo espécies de diversos hábitos, como árvores, arbustos, subarbustos, lianas e ervas (Judd *et al.* 2002; Kinoshita 2005; Simpson 2007), distribuídas em 5 subfamílias (Endress & Bruyns 2000), sendo uma delas Asclepiadoideae R. Br. ex Burnett.

O estudo das espécies desta subfamília desperta interesse principalmente pelas flores, que são consideradas uma das mais complexas entre as Angiospermas (Marquete 2003). Além disto, algumas espécies pertencentes à subfamília destacam-se por apresentarem importância medicinal, como *Calotropis procera* (Ailton) W. T. Ailton, que possui propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana,

<sup>1</sup> Parte da tese de doutorado do primeiro autor, vinculado ao programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas

<sup>2</sup> Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Caixa Postal n° 6109, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 13083 – 970, Campinas, SP, Brasil

<sup>3</sup> Autor para correspondência: [smcg@unicamp.br](mailto:smcg@unicamp.br)

analgésica e espermicida (Kamath & Rana 2002) e *Vicentoxicum officinale* Moench, com propriedades laxativas, diuréticas e antitumorais (Nowak & Kisiel 2000). Outras espécies são utilizadas como fonte de borracha e fibras na fabricação de cordas e papel (Marquete 2003) ou utilizadas como plantas ornamentais, como a flor-de-cera (*Hoya* R. Br.) e a flor-estrela (*Stapelia hirsuta* L.) (Ollerton & Liede 1997; Endress 1998). Além disto, várias espécies do gênero *Asclepias* L. são combatidas como pragas, pois são tóxicas e prejudicam a criação de animais (Rapini *et al.* 2001).

Trabalhos que descrevem as características anatômicas de frutos em Asclepiadoideae são escassos e não contemplam espécies da nossa flora (Castro 1986; Kuriachen *et al.* 1990; Kuriachen *et al.* 1991; Kuriachen *et al.* 1992). Segundo Hutchinson (1969) características anatômicas de frutos podem ter grande importância em trabalhos taxonômicos, mas têm sido sempre negligenciadas em estudos sistemáticos porque são tecnicamente difíceis de serem investigadas (Bobrov *et al.* 2005).

Segundo Fontella-Pereira (2005), as espécies da subfamília possuem frutos do tipo folículo muito semelhantes quanto à morfologia. Por apresentarem frutos tão semelhantes, a identificação das espécies sem a presença das flores torna-se difícil. Desta forma, um levantamento das características anatômicas presentes nos frutos de espécies de Asclepiadoideae é de grande importância para auxiliar na distinção das mesmas, além de contribuir para o conhecimento da subfamília, sendo, portanto, o principal objetivo do presente trabalho.

## Materiais e Métodos

### Material Botânico

Para a realização deste trabalho foram utilizados frutos maduros de *Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn., *Oxypetalum appendiculatum* Mart., *O. balansae* Malme e *O. glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquete coletados, respectivamente, a partir de indivíduos de Campinas (SP), Aquidauana (MS) e Passa Quatro (MG).

Os exemplares foram identificados pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luiza Sumiko Kinoshita, pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sueli Maria Gomes e pelo MSc. Shesterson Aguiar e os materiais testemunha (Tabela 2) foram herborizados e incorporados ao Herbário UEC.

Tabela 2. Dados referentes ao material testemunha das espécies estudadas.

<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>Nome e nº do coletor</b>	<b>Data da coleta</b>
<i>B. bicuspidatum</i>	Campinas (SP)	D. Demarco 9	29/VIII/2003
<i>O. appendiculatum</i>	Campinas (SP)	S. M. Gomes 572	25/VIII/2005
<i>O. balansae</i>	Aquidauana (MS)	S. M. Gomes 531	02/IX/2006
<i>O. glaziovii</i>	Passa Quatro (MG)	L. D. Meireles <i>et al.</i> 2551	19/IX/2006

## Metodologia

Os frutos coletados foram fixados em FAA (Johansen 1940) por 24 horas e colocados em bomba à vácuo para facilitar a penetração do fixador, sendo posteriormente conservados em álcool etílico 70%. Após este período, alguns frutos foram cortados na região mediana, incluídos em resina plástica (Gerrits & Smid 1983), seccionados em micrótomo rotativo e as secções longitudinais e transversais, de 10µm aproximadamente, foram coradas com azul de toluidina (O' Brien *et al.* 1964), para análise estrutural. Algumas secções foram submetidas ao teste com floroglucina acidificada (Johansen 1940), para análise de lignina, e ao teste com Sudan black B (Pearse 1985), para análise de lipídios totais na cutícula. Outras secções foram submetidas à luz polarizada a fim de evidenciar constituintes celulares birrefringentes, como cristais, amido e celulose (Evert 2006). Para a descrição dos resultados utilizaram-se as terminologias de Roth (1977) e de Spjut (1994).

As ilustrações foram efetuadas através de imagens de alta resolução obtidas em câmera digital acoplada ao microscópio Olympus BX 51, utilizando-se o programa Olympus DP Controller. As imagens foram utilizadas na confecção das pranchas, realizadas no programa CorelDraw X3.

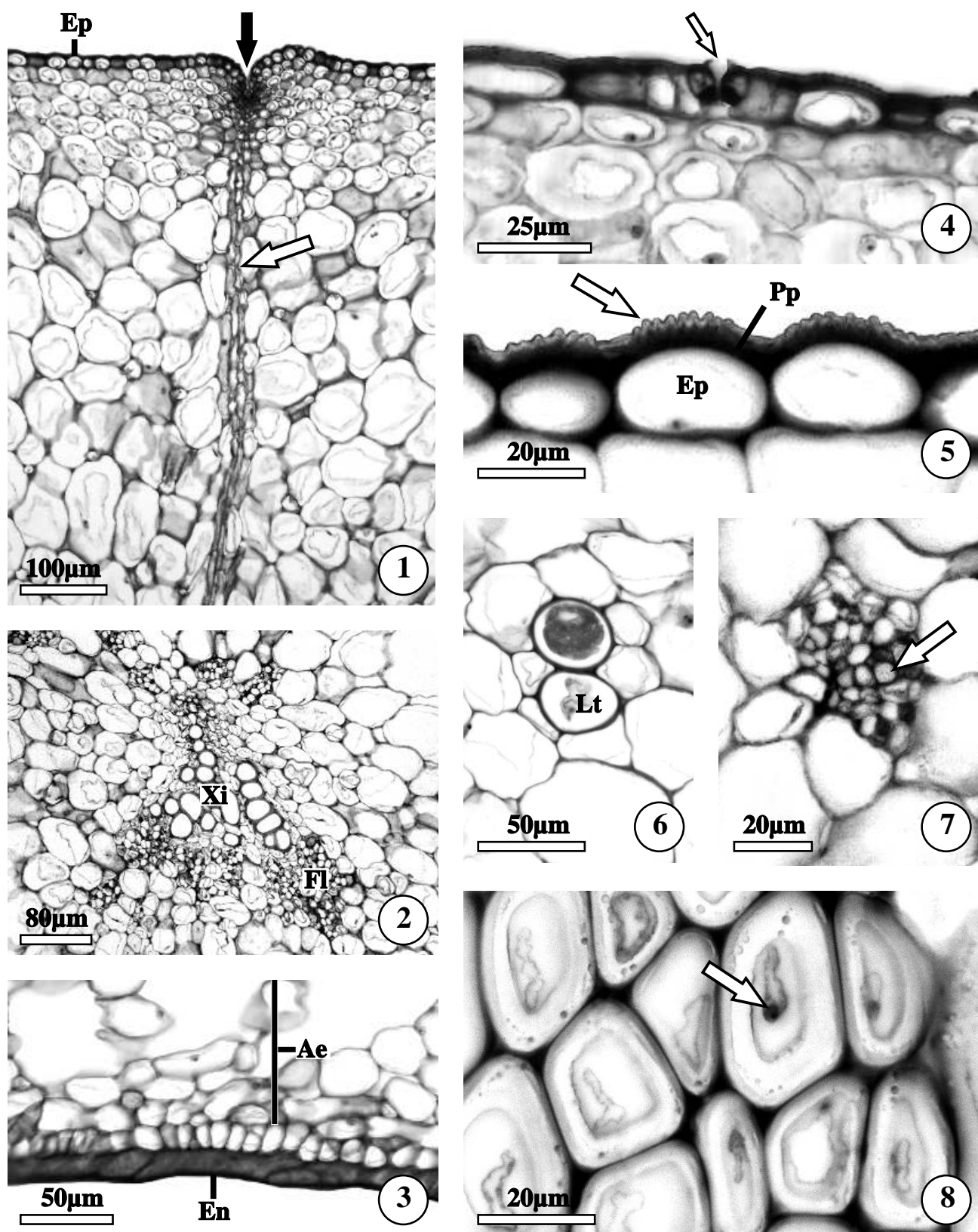
## **Resultados**

Todas as espécies estudadas neste trabalho possuem frutos do tipo folicário, constituído de dois frutículos do tipo folículo. Os frutos possuem o pericarpo dividido em três regiões anatômicas, estruturalmente distintas: epicarpo, mesocarpo e endocarpo. Abaixo são apresentadas as principais características anatômicas do pericarpo das quatro espécies estudadas neste trabalho.

### ***Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn.**

**Epicarpo** – formado por uma camada de células epidérmicas de citoplasma de aspecto pouco denso, núcleo de posição basal e paredes pecto-celulósicas espessas (Fig. 4 e 5), mais pronunciadas na região periclinal externa (Fig. 5). As células são revestidas por cutícula espessa e estriada (Fig. 5). Estômatos também estão presentes e possuem células-guarda bem conspícuas (Fig. 4). Tricomas e lenticelas não foram observados no epicarpo desta espécie.

**Mesocarpo** – constituído por parênquima fundamental, aerênquima, laticíferos, fibras, feixes vasculares e ilhas de floema. As células parenquimáticas são as mais abundantes do mesocarpo e apresentam paredes pecto-celulósicas delgadas (Fig. 1). As localizadas próximas ao epicarpo são menores e não possuem espaços intercelulares (Fig. 1); as que se localizam na região mediana do mesocarpo são maiores e possuem espaços intercelulares de diferentes tamanhos e dimensões (Fig. 1); já as que se localizam próximas ao endocarpo possuem grandes espaços intercelulares, formando um aerênquima (Fig. 3), que ocupa praticamente metade do mesocarpo. Os laticíferos estão distribuídos por todo o mesocarpo e formam um sistema alongado no sentido longitudinal do fruto, algumas vezes



**Figuras 1 – 8.** Seções transversais do fruto maduro de *Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn. **1.** Região de deiscência onde nota-se e reentrância no epicarpo (seta preta) e a linha de deiscência no mesocarpo (seta branca). **2.** Feixe vascular. **3.** Aerênquima e endocarpo. **4.** Estômato (seta) no epicarpo. **5.** Estriações cuticulares (seta) e espessamento da parede periclinal externa das células do epicarpo. **6.** Laticíferos; notar o espessamento de parede. **7.** Ilha de floema (seta = placa crivada). **8.** Fibras do mesocarpo com duas camadas de deposição da parede secundária (seta = núcleo). Ae = aerênquima; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Fl = floema; Lt = laticífero; Pp = parede periclinal externa; Xi = xilema

ramificado, sendo mais calibrosos os que de encontram próximos ao endocarpo (Fig. 6), quando comparados com os localizados próximos ao epicarpo. Possuem parede pecto-celulósica circular ligeiramente espessa e látex de aspecto denso (Fig. 6), sendo facilmente identificados. As fibras (Fig. 8) são fusiformes e alongadas no sentido longitudinal do fruto, distribuindo-se entre as células parenquimáticas ou associando-se aos feixes vasculares. Estas células possuem parede secundária espessa, com raras pontuações, e depositada em duas camadas (Fig. 8), sendo a camada externa mais birrefringente em luz polarizada do que a interna. As fibras são coradas em púrpura com azul de toluidina. Por meio do teste com floroglucina acidificada, constatou-se a ausência de lignina na parede destas células, confirmando natureza pecto-celulósica das mesmas. Em algumas fibras constatou-se a presença de núcleo e nucléolo (Fig. 8), mostrando que ainda estão vivas neste estágio de desenvolvimento. O sistema vascular consiste de vários feixes vasculares (Fig. 2), colaterais ou bicolaterais, dispersos por todo o mesocarpo e inúmeras ilhas de floema (Fig. 7).

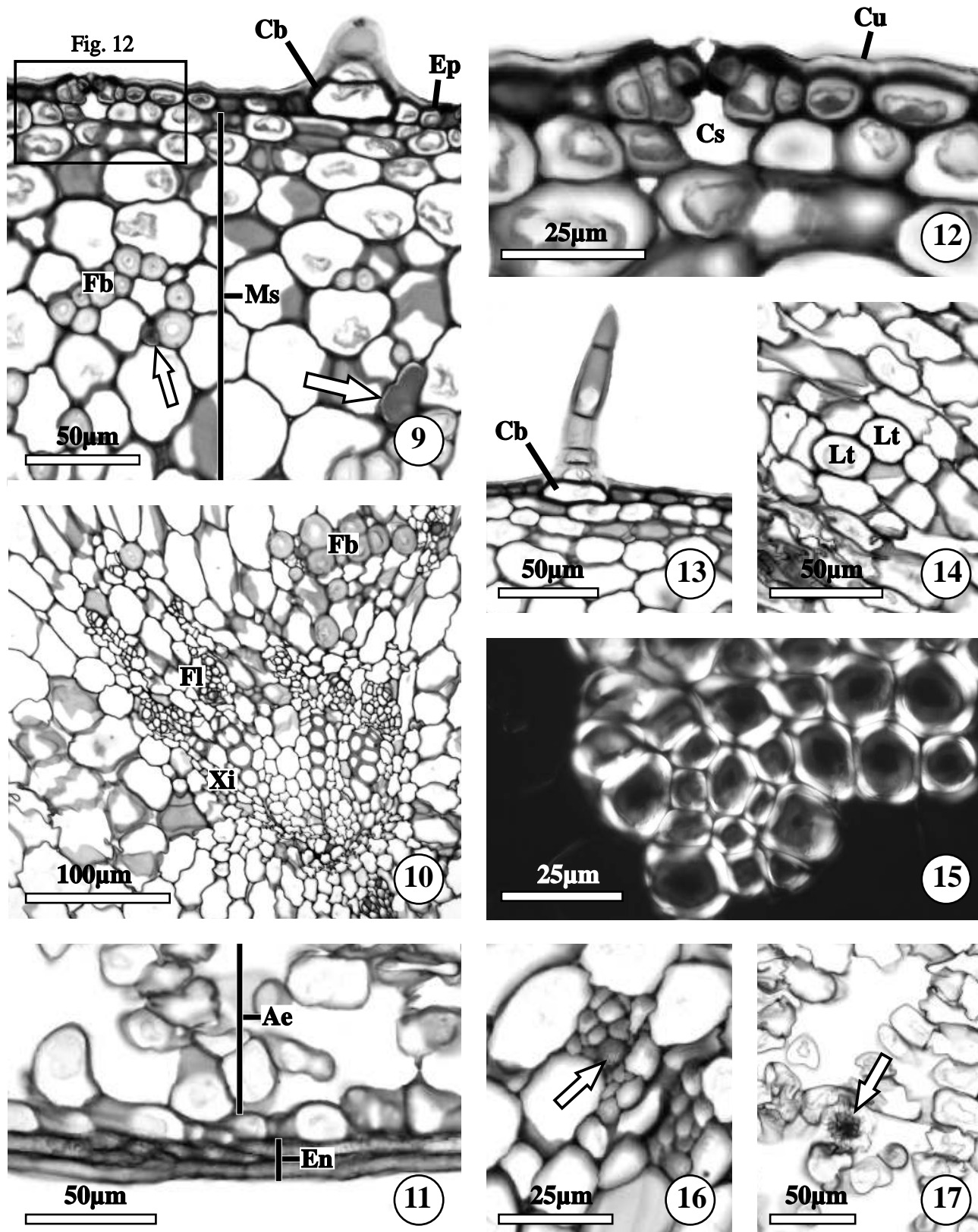
**Endocarpo** – formado por uma, ou raramente duas, camadas de esclerócitos alongados no sentido transversal do fruto (Fig. 3), de paredes lignificadas e com inúmeras pontuações.

**Região de deiscência** – identificada por uma reentrância na margem de união do carpelo e por possuir duas a três camadas de células achatadas e de paredes delgadas (Fig. 1), que formam a linha de deiscência. Esta linha se estende a partir da reentrância até a cavidade seminal, sendo margeada por células parenquimáticas e laticíferos (Fig. 1).

### ***Oxypetalum appendiculatum* Mart.**

**Epicarpo** – formado por uma camada de células epidérmicas de citoplasma com aspecto pouco denso e paredes com espessamento pecto-celulósico revestidas por cutícula espessa e sem estriações (Fig. 9 e 12). O epicarpo também possui estômatos com pequenas câmaras subestomáticas (Fig. 9 e 12) e tricomas de cobertura, multicelulares e unisseriados, constituídos de células basais muito conspícuas (Fig. 9 e 13). Lenticelas não foram encontradas no epicarpo dos frutos.

**Mesocarpo** – constituído por parênquima fundamental, aerênquima, idioblastos cristalíferos, laticíferos, fibras, feixes vasculares e ilhas de floema. As células parenquimáticas são as mais abundantes do mesocarpo e apresentam paredes pecto-celulósicas delgadas (Fig. 9, 11 e 17). Próximo ao endocarpo as células parenquimáticas são levemente colapsadas e com grandes espaços intercelulares, formando um aerênquima (Fig. 11 e 17), no qual estão dispersos alguns idioblastos com drusas (Fig. 17). Os laticíferos estão distribuídos por todo o mesocarpo e formam um sistema alongado no sentido longitudinal, sendo algumas vezes ramificado. Apresentam parede pecto-celulósica ligeiramente espessada (Fig. 14) e látex de aspecto denso (Fig. 9), sendo mais calibrosos aqueles que se



**Figuras 9 – 17.** Secções transversais do fruto maduro de *Oxypetalum appendiculatum* Mart. **9.** Epicarpo com tricoma e estômato e mesocarpo com fibras e laticíferos (setas). **10.** Feixe vascular da região mediana do mesocarpo. **11.** Aerênquima e endocarpo. **12.** Pormenor da figura 9, evidenciando epicarpo com estômato e cutícula espessa. **13.** Tricoma de cobertura do epicarpo. **14.** Laticíferos da região próxima ao endocarpo. **15.** Fibras em luz polarizada; notar diferença na birrefringência das camadas. **16.** Ilha de floema (seta = placa crivada). **17.** Idioblasto cristalífero (seta) disperso no aerênquima. Ae = aerênquima; Cb = célula basal; Cs = câmara subestomática; Cu = cutícula; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Fb = fibra; Fl = floema; Lt = laticífero; Ms = mesocarpo; Xi = xilema



localizam próximos ao endocarpo (Fig. 14), quando comparados com os próximos ao epicarpo. As fibras estão distribuídas por todo o mesocarpo formando grupos de diversas células (Fig. 15), mas também podem ocorrer em duplas ou até mesmo isoladas (Fig. 9). Estas células estão localizadas próximas ao epicarpo ou então em associação com os feixes vasculares (Fig. 10). São alongadas no sentido longitudinal e possuem parede secundária espessa e com duas camadas de deposição, sendo a camada externa mais birrefringente do que a interna (Fig. 15). Por meio do teste com floroglucina acidificada foi observada ausência de lignina na parede das fibras e confirmada a natureza pecto-celulósica das mesmas. O sistema vascular consiste de diversos feixes vasculares (Fig. 10) e inúmeras ilhas de floema (Fig. 16). Os feixes estão distribuídos em três regiões no mesocarpo: nas proximidades do epicarpo, na região mediana do mesocarpo e nas proximidades do endocarpo, sendo os localizados na região mediana (Fig. 10) maiores que os das demais regiões. Podem ser encontrados feixes colaterais e bicolaterais. As ilhas de floema estão restritas às proximidades do endocarpo, sendo facilmente identificadas entre as células parenquimáticas (Fig. 16).

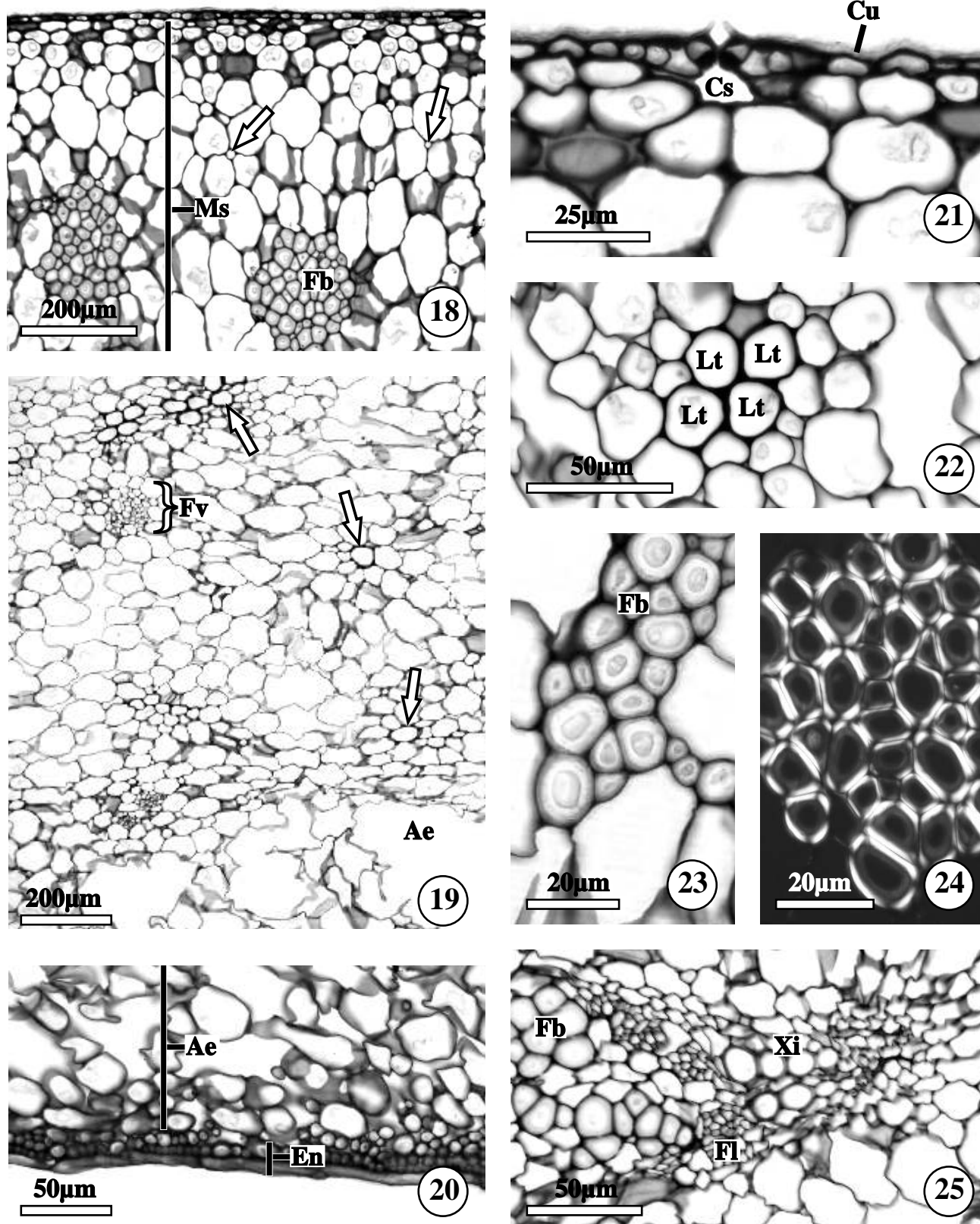
**Endocarpo** – formado por uma, ou raramente duas, camadas de esclerócitos, alongados preferencialmente no sentido transversal do fruto (Fig. 11), de paredes lignificadas e com numerosas pontuações.

**Região de deiscência** – identificada por uma pronunciada reentrância na margem de união do carpelo e pela presença de duas camadas de células parenquimáticas de paredes delgadas e sinuosas, que formam a linha de deiscência. Esta linha, não muito proeminente, se estende a partir da reentrância até a cavidade seminal, sendo circundada por células parenquimáticas e laticíferos.

### ***Oxypetalum balansae* Malme**

**Epicarpo** – formado por uma camada de células epidérmicas achatadas (Fig. 18 e 21), com citoplasma de aspecto pouco denso, núcleo de posição basal e paredes com espessamento pecto-celulósico (Fig. 21), revestidas por cutícula espessa e sem estriações (Fig. 21). Estômatos com pequenas câmaras subestomáticas (Fig. 21) também estão presentes no epicarpo. Tricomas e lenticelas estão ausentes no epicarpo do fruto.

**Mesocarpo** – constituído por parênquima fundamental, aerênquima, laticíferos, fibras, feixes vasculares e ilhas de floema. No mesocarpo podem ser distinguidas 4 regiões: a primeira região, em contato direto com o epicarpo, é formada por células parenquimáticas, sem espaços intercelulares, fibras e laticíferos pouco calibrosos (Fig. 18); a segunda região possui um aerênquima com grandes lacunas, feixes vasculares com fibras associadas (Fig. 25) e laticíferos bem calibrosos; a terceira região é constituída por células parenquimáticas com pequenos espaços intercelulares, feixes vasculares, ilhas



**Figuras 18 – 25.** Seções transversais do fruto maduro de *Oxypetalum balansae* Malme. 18. Vista geral do epicarpo e da região I do mesocarpo. 19. Região III do mesocarpo com feixes vasculares, laticíferos (setas), parênquima fundamental e aerênquima. 20. Aerênquima e endocarpo. 21. Epicarpo com estômato. 22. Laticíferos da região III do mesocarpo. 23. Fibras do mesocarpo; notar as duas camadas de deposição de parede secundária. 24. Fibras do mesocarpo em luz polarizada; notar brilho pronunciado na camada mais externa da parede. 25. Feixe vascular. Ae = aerênquima; Cs = câmara subestomática; Cu = cutícula; En = endocarpo; Fb = fibra; Fl = floema; Fv = feixe vascular; Lt = laticífero; Ms = mesocarpo; Xi = xilema

de floema e laticíferos calibrosos (Fig. 19); já a quarta e última região possui células parenquimáticas ligeiramente colapsadas com grandes espaços intercelulares que formam outro aerênquima (Fig. 20) próximo ao endocarpo. Os laticíferos possuem parede pecto-celulósica ligeiramente espessada (Fig. 22) e látex de aspecto pouco denso. As fibras, raramente isoladas, são arranjadas em grupos de inúmeras células fusiformes e alongadas no sentido longitudinal do fruto (Fig. 23). São encontradas nas regiões I e II do mesocarpo, podendo estar associadas aos feixes vasculares (Fig. 25). Possuem parede pecto-celulósica secundária espessa (Fig. 23 e 24), com birrefringência mais intensa na camada externa, sugerindo a presença de grande quantidade de celulose. A natureza pecto-celulósica da parede das fibras foi confirmada com o teste de floroglucina acidificada, que revelou ausência de lignina. O sistema vascular consiste de diversos feixes vasculares (Fig. 19 e 25), colaterais ou bicolaterais, e inúmeras ilhas de floema, que estão distribuídas por todo mesocarpo do fruto.

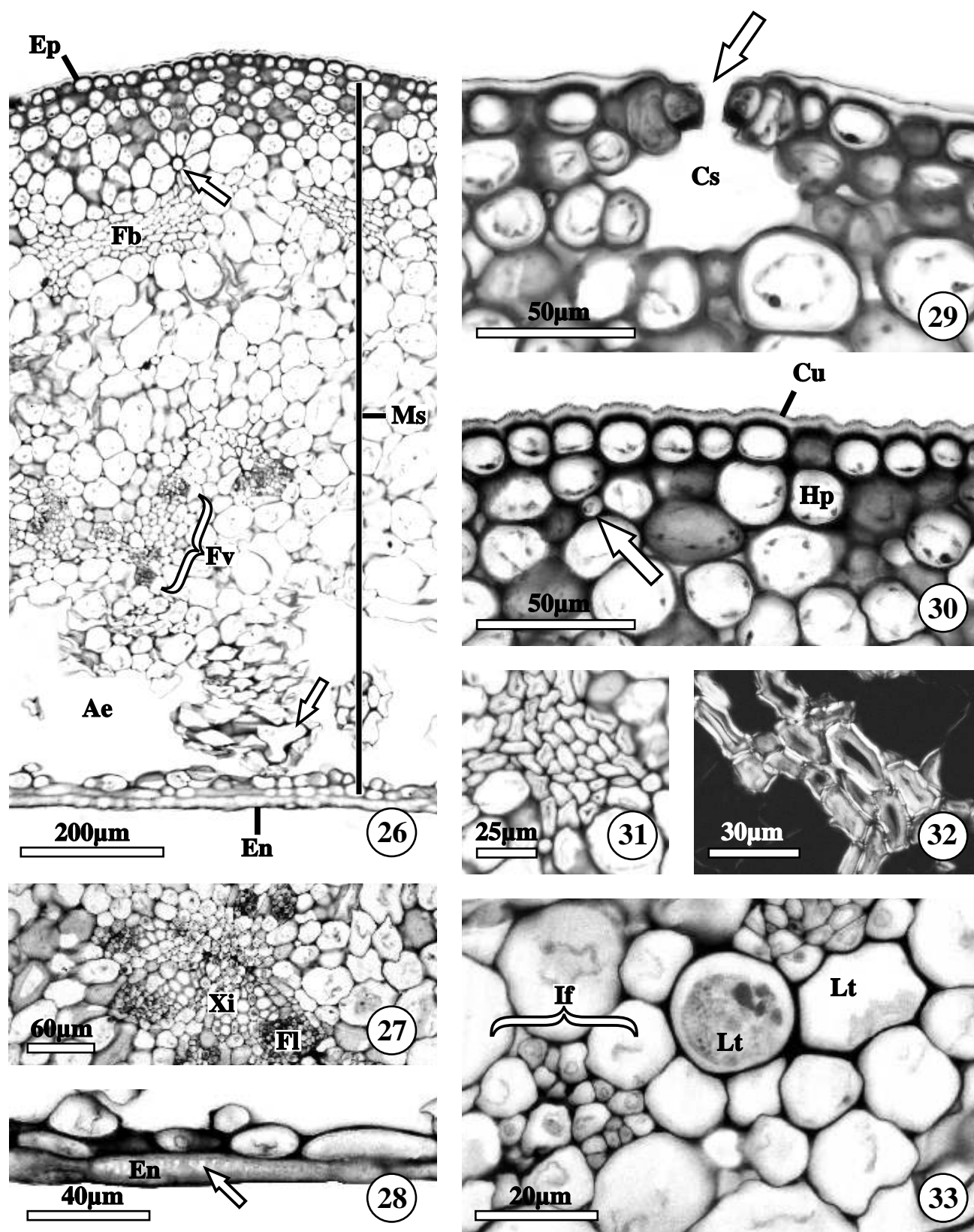
**Endocarpo** – formado predominantemente por uma camada de esclerócitos lignificados e alongados no sentido transversal do fruto. Já na região próxima a linha de deiscência, frequentemente se observa uma camada adicional de esclerócitos alongados no sentido longitudinal do fruto (Fig. 20).

**Região de deiscência** – identificada por uma grande reentrância na margem de união do carpelo e pela presença de 4 a 5 camadas de células parenquimáticas de paredes levemente espessadas, mas com pequenos espaços intercelulares, formando a linha de deiscência. Esta linha não é muito proeminente, pois é circundada por células parenquimáticas com pequenos espaços intercelulares.

### ***Oxypetalum glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquete**

**Epicarpo** – formado por uma camada de células epidérmicas (Fig. 26, 29 e 30), de citoplasma de aspecto pouco denso, núcleo e posição basal e paredes com espessamento pecto-celulósico (Fig. 30), revestidas cutícula espessa e sem estriações (Fig. 29 e 30). Estômatos também estão presentes e podem ser facilmente identificados por apresentarem células-guarda conspícuas (Fig. 29). Tricomas e lenticelas não estão presentes no epicarpo dos frutos.

**Mesocarpo** – constituído por parênquima fundamental, hipoderme colenquimática, laticíferos, fibras, feixes vasculares e ilhas de floema. Logo abaixo ao epicarpo observa-se a hipoderme colenquimática, constituída por células de parede pecto-celulósica levemente espessada (Fig. 26 e 30) e cloroplastos. As células parenquimáticas do mesocarpo possuem paredes delgadas e são maiores do que as células da hipoderme colenquimática (Fig. 26). Próximo ao endocarpo, as células parenquimáticas possuem grandes espaços intercelulares e formam um aerênquima (Fig. 26). Os laticíferos estão distribuídos por todo o mesocarpo e possuem parede pecto-celulósica ligeiramente espessada e látex de aspecto pouco denso (Fig. 33). Apresentam tamanhos variados, pois os que se localizam nas proximidades do



**Figuras 26 – 33.** Secções transversais do fruto maduro de *Oxypetalum glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquete. **26.** Vista geral do pericarpo (setas brancas = laticíferos). **27.** Feixe vascular. **28.** Esclerócito do endocarpo (seta = pontuação simples). **29.** Epicarpo com estômato. **30.** Epicarpo, laticífero e células parenquimáticas. **31.** Fibras do mesocarpo. **32.** Fibras em luz polarizada; notar brilho intenso na camada mais externa da parede. **33.** Laticíferos e da ilha de floema. Ae = aerênquima; Cs = câmara subestomática; Cu = cutícula; En = endocarpo; Ep = epicarpo; Fb = fibra; Fl = floema; Fv = feixe vascular; Hp = hipoderme colenquimática; If = ilha de floema; Lt = laticífero; Ms = mesocarpo; Xi = xilema

endocarpo (Fig. 26 e 33) são mais calibrosos que os localizados próximos ao epicarpo (Fig. 26 e 30). As fibras (Fig. 26), fusiformes e alongadas no sentido longitudinal do fruto, estão distribuídas nas proximidades do epicarpo formando um anel quase contínuo no mesocarpo, mas também podem ser observadas em associação com feixes vasculares. Formam grupos de inúmeras células achatadas em secção transversal (Fig. 31) de parede secundária espessa (Fig. 32) e sem lignina, com baixa quantidade de pontuações. O sistema vascular consiste de diversos feixes vasculares (Fig. 26 e 27), colaterais e bicolaterais e concentrados na região mediana do mesocarpo, além de ilhas de floema (Fig. 33), restritas as proximidades do endocarpo.

**Endocarpo** – formado por uma, ou raramente duas, camadas de esclerócitos de paredes lignificadas e com numerosas pontuações, alongados no sentido transversal do fruto (Fig. 26 e 28).

**Região de deiscência** – identificada por uma pequena reentrância na margem de união do carpelo e pela presença de 2 a 3 camadas de células parenquimáticas de paredes delgadas, que formam a linha de deiscência. Esta linha não é muito proeminente, pois é circundada por células parenquimáticas colapsadas.

## Discussão

Os frutos estudados neste trabalho exibem uma organização dos tecidos internos muito similar e característica, semelhante a outras espécies já estudadas na subfamília. Este fato já havia sido notado por Kuriachen *et al.* (1992) ao estudarem frutos de diferentes espécies de Asclepiadoideae. No entanto, pode-se notar que os frutos estudados exibem algumas características anatômicas particulares que puderam ser utilizadas para a distinção das espécies.

O pericarpo de *B. bicuspidatum*, *O. appendiculatum*, *O. balansae* e *O. glaziovii* é constituído por três regiões estruturalmente distintas: epicarpo, mesocarpo e endocarpo. Epicarpo é a camada mais externa do pericarpo e em muitos frutos representa a principal camada de proteção (Roth 1977). Nas quatro espécies estudadas o epicarpo é unisseriado, sendo constituído exclusivamente pela epiderme externa do fruto. Kuriachen *et al.* (1992) descrevem o epicarpo dos frutos de diferentes espécies da subfamília como multisseriado, e constituído por uma camada de células epidérmicas e por uma hipoderme colenquimatosa. Segundo Souza (2006) é recomendável realizar um estudo ontogenético para saber a verdadeira origem dos tecidos que formam o pericarpo. Ao analisar os resultados obtidos por Kuriachen *et al.* (1992) pôde-se concluir que eles utilizaram o termo epicarpo no *sensu lato*, ou seja, incluindo camadas de origem subepidérmica. Desta forma, se considerarmos a origem ontogenética do epicarpo, as espécies estudadas por Kuriachen *et al.* (1992) também possuem epicarpo *sensu strictu* unisseriado, da mesma forma que as espécies estudadas neste trabalho.

As quatro espécies estudadas neste trabalho possuem estômatos que, segundo Roth (1977), desempenham a função de controle da temperatura e do balanço hídrico através da evaporação.

Estômatos são encontrados em diferentes espécies da subfamília (Mahran *et al.* 1967; Castro 1986; Dave & Kuriachen 1987; Kuriachen & Dave 1989; Kuriachen *et al.* 1990; Kuriachen *et al.* 1991; Kuriachen *et al.* 1992; Souza *et al.* 2004), sendo classificados como paracíticos, anomocíticos ou ciclocíticos. Mas a existência de estômatos no epicarpo de espécies de Asclepiadoideae aparentemente não é uma característica universal, pois Kuriachen *et al.* (1992) estudaram espécies onde estas estruturas não foram observadas.

Tricomas de cobertura estão presentes somente nos frutos de *O. appendiculatum*, sendo um importante caráter diagnóstico dentre as espécies aqui estudadas. A presença destes tricomas é comum em frutos de espécies da subfamília (Mahran *et al.* 1967; Castro 1986; Dave & Kuriachen 1987, Kuriachen & Dave 1989, Kuriachen *et al.* 1992) tendo provável função de contribuir para a redução da transpiração.

A cutícula possui papel fundamental na diminuição da perda de água para o ambiente pelos frutos (Roth 1977). Apesar de todas as espécies aqui estudadas apresentarem cutícula desenvolvida, somente em *B. bicuspidatum* foram observadas estriações cuticulares. Estriações cuticulares em frutos de Asclepiadoideae já foram encontradas em *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. (Mahran *et al.* 1967; Kuriachen *et al.* 1991), em *Araujia hortorum* E. Fourn. (Castro 1986), em *Calotropis gigantea* (L.) R. Br. e *Tylophora indicum* (Burm. f.) Merrill (Kuriachen *et al.* 1992).

Um tecido presente no mesocarpo de todas as espécies estudadas é o aerênquima. Aerênquima é um termo utilizado para tecidos vegetais que apresentam grandes espaços intercelulares (Evans 2003) com a função de auxiliar na flutuabilidade das plantas aquáticas, de frutos dispersos pela água, ou diminuir a densidade de frutos ou sementes dispersos pelo vento (Roth 1977). No caso das espécies estudadas a função mais provável deste tecido é a de auxiliar no mecanismo de deiscência dos frutos, visto que são todos frutos deiscentes e que dispersam suas sementes comos por anemocoria. Este tecido é freqüente em frutos da subfamília, pois já foi descrito em diversas espécies (Castro 1986; Kuriachen *et al.* 1992; Souza 2004), estando ausente somente em *Gymnema sylvestre* R. Br. (Kuriachen *et al.* 1992).

As fibras formam um tecido quase contínuo no mesocarpo de todas as espécies estudadas. Estas fibras apresentam estrutura ligeiramente diferente da usualmente encontrada neste tipo celular, pois possuem parede secundária sem lignina. A presença de lignina não é uma condição indispensável às fibras, pois Esau (1965) afirma que as fibras extra-xilemáticas podem ou não serem lignificadas. Estas células foram reconhecidas como fibras pelo espessamento secundário da parede, pelo formato fusiforme alongado e pela baixa quantidade de pontuações. Kuriachen *et al.* (1990) encontraram estas células no pericarpo de *Tylophora dalzellii* Hook. f. e as denominaram fibras celulósicas. Posteriormente foram encontradas estas células no pericarpo de outras espécies de Asclepiadoideae (Kuriachen *et al.* 1991; Kuriachen *et al.* 1992), em Periplocoideae (Dave & Kuriachen 1991) e até em espécies de Apocynoideae (Thomas & Dave 1994; Gomes 2008; Aguiar *et al.* 2009). A presença de fibras não lignificadas é um fenômeno raro nos vegetais e acredita-se que a presença destas células no

mesocarpo de espécies das subfamílias Asclepiadoideae, Periplocoideae e Secamonoideae seja um caráter que ressalta a proximidade filogenética destas subfamílias e corrobore com a atual circunscrição de Apocynaceae. Além disto, o formato destas células foi um caráter importante neste trabalho para a identificação das espécies, visto que somente em *O. glaziovii* as fibras são achatadas, sendo que nas demais espécies as fibras são arredondadas. A hidrofilia apresentada pela parede faz com que esta célula tenha capacidade e facilidade de perder água rapidamente, auxiliando o mecanismo higroscópico-xerocástico de deiscência do fruto. Em dias quentes estas células perdem água e a parede retrai contribuindo para a contração do pericarpo e conseqüente ruptura na linha de deiscência.

Laticíferos são células (ou fileiras de células) espalhadas por todo o corpo da planta, contendo um fluido chamado látex (Esau 1965; Evert 2006) que possui uma composição química muito variada (Fahn 1979). Sua função é de proteger a planta contra herbivoria, microorganismos e também selar ferimentos (Fahn 1979, 1990; Farrell *et al.* 1991; Hunter 1994; Dussourd & Denno 1991). Nos trabalhos de Mahran *et al.* (1967), Castro (1986), Kuriachen & Dave (1989), Kuriachen *et al.* (1990), Dave & Kuriachen (1991), Kuriachen *et al.* (1991) e Kuriachen *et al.* (1992) os laticíferos dos frutos são descritos como não-articulados. Demarco *et al.* (2006) afirmam que somente através de estudos ontogenéticos pode-se classificar os laticíferos como articulados ou não articulados. Desta forma, como não foram realizados estudos detalhados de desenvolvimento dos frutos, optou-se por não classificar os laticíferos das espécies estudadas.

Outra característica comum no pericarpo das espécies estudadas é a presença de endocarpo lignificado. Segundo (Potgieter & Albert 2001) a presença de endocarpo lignificado seria uma característica primitiva em Apocynaceae. Além disto, a estrutura do endocarpo das espécies aqui estudadas revelou ser semelhante as demais espécies já estudadas na subfamília (Castro 1986; Kuriachen *et al.* 1990; Kuriachen *et al.* 1991; Kuriachen *et al.* 1992). A maioria dos trabalhos de frutos em Asclepiadoideae cita a presença de fibras no endocarpo mas neste trabalho as células do endocarpo foram classificadas como esclerócitos, com base na quantidade de pontuações, no formato variável e na ausência de paredes terminais afiladas. Este termo já havia sido utilizado por Castro (1986) para caracterizar o endocarpo de *Araujia hortorum* E. Fourn., espécie pertencente a mesma subfamília.

Os frutos de *B. bicuspidatum*, *O. appendiculatum*, *O. balansae* e *O. glaziovii* possuem deiscência do tipo higroscópico xerocástica, visto que o pericarpo dos frutos seca à medida que amadurece. Vários fatores auxiliam na abertura dos frutos, como a presença de uma linha de deiscência, formada por células de paredes delgadas, a ocorrência das fibras não lignificadas e aerênquima no mesocarpo, e a presença de endocarpo lignificado. De acordo com Fahn & Zohary (1955), as fibras são células que apresentam grande capacidade de absorção e perda de água (inchaço e encolhimento), criando uma tensão higroscópica muito importante na abertura dos frutos. Desta forma acredita-se que as fibras do mesocarpo das espécies aqui estudadas sejam muito importantes para a abertura dos folículos, corroborando com as observações de Thomas & Dave (1994) e de Aguiar *et al.* (2009), que já haviam sugerido esta mesma função para as fibras encontradas nos frutos das espécies estudadas por eles. As

células lignificadas e de paredes altamente espessadas, presentes no endocarpo, também criam uma tensão higroscópica no fruto, contribuindo para o mecanismo de abertura, assim como o aerênquima, que comprime os frutos na maturidade e esta força de compressão auxilia no processo de deiscência.

A partir dos dados obtidos foi possível elaborar uma chave de identificação (abaixo) para as espécies estudadas no presente trabalho baseada somente em caracteres anatômicos dos frutos.

**Chave para a identificação das espécies estudadas neste trabalho baseada em caracteres anatômicos dos frutos**

1. Cutícula com estriações.....*B. bicuspidatum* E. Fourn.
- 1'. Cutícula sem estriações.....2
  2. Fibras do mesocarpo achatadas.....*O. glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquete
  - 2'. Fibras do mesocarpo arredondadas.....3
    3. Epicarpo com tricomas de cobertura.....*O. appendiculatum* Mart.
    - 3'. Epicarpo sem tricomas de cobertura .....*O. balansae* Malme

## Conclusões

Os frutos da subfamília Asclepiadoideae possuem pericarpo muito similar e característico, constituídos por epicarpo *sensu stricto* unisseriado, fibras não lignificadas, aerênquima, laticíferos de parede pecto-celulósica levemente espessada, endocarpo unisseriado lignificado e linha de deiscência formada por células de parede delgada. Acredita-se que a presença de fibras não lignificadas no mesocarpo de espécies da subfamília Asclepiadoideae seja um caráter importante que ressalta a proximidade filogenética desta subfamília com Apocynoideae e corrobora com a atual circunscrição de Apocynaceae. Além disto, este trabalho demonstrou a importância da utilização de caracteres anatômicos de frutos na distinção das espécies e na aquisição de dados que possam ser utilizados em futuras análises filogenéticas e taxonômicas para a subfamília.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida ao primeiro autor durante a elaboração deste trabalho e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio à pesquisa fornecido (proc. 01/12364-0). Agradecimentos também ao Prof. Dr. Diego Demarco, ao MSc. Leonardo Dias Meireles e à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sueli Maria Gomes por terem coletado e cedido os materiais botânicos utilizados neste trabalho.

## Referências Bibliográficas

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**



- Albers, F. & Meve, U. 2001. A karyological survey of Asclepiadoideae, Periplocoideae and Secamonoideae and evolutionary considerations within Apocynaceae s.l. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **88**: 624–656.
- APG II (The Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update on the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society** **141**: 399–436.
- Bobrov, A.V.F.C.H.; Endres, P.K.; Melikian, A.P.; Romanov, M.S.; Sorokin, A.N. & Bejerano, A.P. 2005. Fruit structure of *Amborella trichopoda* (Amborellaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society** **148**: 265–274.
- Castro, M.A. 1986. Anatomia del fruto de *Araujia horotorum* E. Fourn. (Asclepiadaceae). **Parodiana** **4**: 195–203.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1987. Structure and development of stomata on the fruit wall of *Calotropis procera* (Arr.) R. BR. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences – Plant Sciences** **97**(6): 449–456.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1991. Comparative anatomical characters of *Periplocaceae* follicles and their taxonomic significance. **Feddes Repertorium** **102**(1/2): 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.
- Dussourd, D.E. & Denno, R.F. 1991. Deactivation of plant defense: correspondence between insect behavior and secretory canal architecture. **Ecology** **72**(4): 183–1396.
- Endress, M.E. & Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. **The Botanical Review** **66**(1): 1–56.
- Endress, M.E. & Stevens, W.D. 2001. The renaissance of the Apocynaceae s.l.: Recent advances in systematics, phylogeny, and evolution: Introduction. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **88**: 517–522.
- Endress, P.K. 1998. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Esau, K. 1965. **Plant anatomy**. 2<sup>nd</sup> ed. Tokyo, Toppan Company LTDA.
- Evans, D.E. 2003. Aerenchyma formation. **New Phytologist** **161**: 35–49.
- Evert, R.F. 2006. **Esau's plant anatomy: meristems, cells and tissues of the plant body – their structure, function and development**. New Jersey, John Wiley & Sons, Inc.
- Fahn, A. 1979. **Secretory tissues in plants**. London, Academic Press.
- Fahn, A. 1990. **Plant anatomy**. Oxford, Pergamon Press.
- Fahn, A. Zohary, M. 1955. On the pericarpial structure of legumen, its evolution and relation to dehiscence. **Phytomorphology** **5**: 99–111.
- Farrel, B.D.; Dussourd, D.E. & Mitter, C. 1991. Escalation of plant defense: do latex/resin canals spur plant diversification? **American Naturalist** **138**: 881–900.

- Fontella-Pereira, J. (coord.). 2005. Asclepiadaceae. Pp. 93 – 156. *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.
- 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 e sementes em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. **Acta Botanica Brasilica** **22**: 521 – 534.
- Hunter, J. R. 1994. Reconsidering the functions of latex. **Tree** **9**: 1 – 5.
- Hutchinson, J. 1969. **Evolution and phylogeny of flowering plants**. London, Academic Press.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Company.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A. & Stevens, P.F. 2002. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland, Massachusetts, USA, Sinauer Associates Inc. Publishers.
- Kamath, J.V. & Rana, A.C. 2002. Preliminary study on antifertility activity of *Calotropis procera* roots in female rats. **Fitoterapia** **73**: 111 – 115.
- Kinoshita, L.S. (coord.). 2005. Apocynaceae. Pp. 35 – 91. *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.
- 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**(1): 15 – 20.
- Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1990. Morphohistogenic studies in the follicle of *Tylophora dalzellii* HK. F. **Phytomorphology** **40**(3/4): 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**(2): 107 – 112.
- Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1992. Taxonomic and phylogenetic significance of fruit walls in Asclepiadaceae. **Feeds Repertorium** **103**(3/4): 179 – 193.
- Mahran, G.H.; Saber, A.H. & Rizkallah, M.M. 1967. *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. IV. The fruits, its macro - and micromorphology. **Journal of Pharmacological Sciences of United Arab Republic** **9**: 81 – 100.
- Marquete, N.F. da S. 2003. **O gênero Oxypetalum R. Br. (Asclepiadoideae – Apocynaceae) no estado do Rio de Janeiro, Brasil**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Nowak, R. & Kisiel, W.H. 2000. Hancobinol from *Vincetoxicum officinale*. **Fitoterapia** **71**: 584 – 586.
- O'Brien, T.P.; Feder, N. Mc Cully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** **59**(2): 368 – 373.

- Ollerton, J. & Liede, S. 1997. Pollination systems in the Asclepiadaceae: a survey and preliminary analysis. **Biological Journal of the Linnean Society** **62**: 593 – 610.
- Pearse, A.G.E. 1985. **Histochemistry theoretical and applied**. vol. 2. Edinburgh, C. Livingstone.
- 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.
- Rapini, A.; Mello-Silva, R. de & Kawasaki, M.L. 2001. Asclepiadoideae (Apocynaceae) da cadeia do espinhaço de Minas Gerais, Brasil. **Boletim Botânico da Universidade de São Paulo** **19**: 55 – 169.
- Roth, I. 1977. **Fruits of angiosperms: encyclopedia of plant anatomy**. Berlin, Gebrüder Borntraeger.
- Simpson, M.G. 2007. **Plant systematics**. London, Elsevier Academic Press.
- 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.
- Souza, L.A. 2006. Fruto. Pp. 11 – 163. In: L.A. Souza (org.). **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa, UEPG.
- Souza, L.A.; Iawazaki, M.C. & Oliveira, R.C. 2004. Morfologia do fruto e da semente em desenvolvimento de *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae). **Insula** **33**: 39 – 49.
- 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**. 2<sup>a</sup> ed. Nova Odessa, Plantarum.
- Spjut, R.W. 1994. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden** **70**: 1 – 82.
- Thomas, V. Dave, Y. 1994. Significance of follicle anatomy of Apocynaceae. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae** **63**(1): 9 – 20.

## Capítulo 5

### Anatomia e histoquímica em sementes de Apocynaceae<sup>1</sup>

Shesterson Aguiar<sup>2</sup>, Sandra Maria Carmello-Guereiro<sup>2,4</sup>, Angelo Luiz Cortelazzo<sup>3</sup> e Luiza Sumiko Kinoshita<sup>2</sup>

**Resumo:** O presente trabalho teve por objetivo descrever a anatomia e caracterizar os tipos de substâncias de reserva presentes em sementes maduras de espécies de Apocynaceae, visando contribuir para o conhecimento da família. As espécies contempladas neste trabalho foram: *Allamanda blanchetii* A. DC., *Malouetia arborea* (Vell.) Miers, *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry e *Tabernaemontana arborea* Rose, que possuem ala, pelos ao redor de toda semente, coma e arilo como, respectivos, apêndices. Secções transversais de sementes fixadas em FAA foram submetidas à análise estrutural e histoquímica. Mesmo possuindo morfologia variada estas sementes apresentam diversas características comuns, como envoltório único repleto de compostos fenólicos, endosperma e cotilédones dorsiventrals. Como a camada mecânica localiza-se na exotesta, todas as sementes são exotestais, sendo que somente *M. arborea* possui a exotesta multisseriada. As principais substâncias de reserva encontradas foram proteínas e carboidratos. As proteínas, à exceção de *M. arborea*, ocorrem na forma de corpos protéicos; já os carboidratos, apresentaram-se na forma de polissacarídeos de parede celular, novamente com exceção para *M. arborea* que os reserva na forma de grãos de amido. Finalmente, a única espécie com reserva lipídica significativa foi *T. arborea*, na forma de pequenas gotas presentes no endosperma.

**Palavras - chave:** *Allamanda blanchetii*, *Malouetia arborea*, *Mandevilla pohliana* e *Tabernaemontana arborea*

### Introdução

Cerca de 70% de todo o alimento consumido pelo homem provém de sementes, pois além do consumo direto na dieta, elas também são utilizadas na produção de óleos industriais e bebidas (Harris *et al.* 1993). A semente representa o óvulo fertilizado e desenvolvido (Bell 1991; Souza 2006), funcionando como a unidade reprodutiva das espermatófitas (Johri 1984). O sucesso no estabelecimento de uma nova planta é determinado pelas características anatômicas, fisiológicas e bioquímicas da semente (Carvalho & Nakagawa 1983; Bewley & Black 1994).

A identificação de sementes por meio de características morfológicas e anatômicas é importante na sistemática e taxonomia (Esau 1965), no entendimento da fisiologia, em paleobotânica, arqueologia, fitopatologia, em análises na agricultura e horticultura, bem como no estudo de comunidades vegetais (Silva & Paoli 2000). Esta grande diversidade de características morfológicas e anatômicas tem atraído a atenção de muitos pesquisadores (Nikolaeva 2004). Mesmo assim são poucos os trabalhos, como os de Pearson (1948), Khan (1970), Corner (1976), Aguiar (2003) e Souza *et al.* (2004), que tratam da anatomia de sementes em Apocynaceae. Segundo Potgieter & Albert (2001) faltam estudos de características dos propágulos na família como um todo. Além disto, a maioria dos estudos sobre a composição química das sementes são realizados em espécies cultivadas, pois elas são utilizadas para nossa alimentação e também como matéria-prima em indústrias (Bewley & Black 1994), sendo raros os

<sup>1</sup> Parte da tese de doutorado do primeiro autor, vinculado ao programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas

<sup>2</sup> Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Caixa Postal n° 6109, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 13083 – 970, Campinas, SP, Brasil

<sup>3</sup> Departamento de Biologia Celular, Instituto de Biologia, Caixa Postal n° 6109, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 13083 – 970, Campinas, SP, Brasil

<sup>4</sup> Autor para correspondência: [smcg@unicamp.br](mailto:smcg@unicamp.br)

trabalhos com espécies selvagens.

Apocynaceae é uma das maiores e mais representativas famílias de Angiospermas, contendo em seus limites atuais cerca de 400 – 480 gêneros e 4.300 – 4.800 espécies com distribuição pantropical e em climas temperados (Albers & Meve 2001; Potgieter & Albert 2001; APG 2003), incluindo espécies de diversos hábitos, como árvores, arbustos, subarbustos, lianas e ervas (Judd *et al.* 2002; Kinoshita 2005; Simpson 2007). Dentro da família as sementes possuem uma diversidade morfológica, podendo se apresentar nuas, como as de *Hancornia speciosa* Gomes (Simões & Kinoshita 2002), ariladas, como as de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Aguiar 2003), aladas, como as de *Aspidosperma* spp. (Marcondes-Ferreira 2005) ou comosas, como as presentes em todas as espécies de Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (Endress & Bruyns 2000).

Tendo em vista a escassez de estudos e a diversidade morfológica das sementes dos representantes da família, o objetivo deste trabalho foi descrever a anatomia e caracterizar os tipos de substâncias de reserva presente em sementes maduras de *Allamanda blanchetii* A. DC., *Malouetia arborea* (Vell.) Miers, *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry e *Tabernaemontana arborea* Rose, como uma contribuição ao conhecimento de Apocynaceae. Estas espécies foram escolhidas por serem representantes da flora brasileira, apresentarem morfologia variada e possuírem diferentes tipos de apêndices: ala, pelos ao redor de toda semente, coma e arilo, respectivamente.

## Materiais e métodos

### Material Botânico

O material botânico utilizado para este trabalho constou de sementes maduras de 4 espécies da família Apocynaceae: *Allamanda blanchetii* A. DC. (Fig. A), *Malouetia arborea* (Vell.) Miers (Fig. D e E), *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry (Fig. C) e *Tabernaemontana arborea* Rose (Fig. B).

As coletas foram realizadas em áreas de Mata Atlântica (Cananéia – Fazenda Folha Larga), fragmentos de Cerrado (Campinas – Fazenda Santa Eliza – IAC), no *Campus* da Universidade Estadual de Campinas e de indivíduos ornamentais cultivados no CEASA de Campinas, SP.

As espécies foram identificadas pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luiza Sumiko Kinoshita (especialista na família) e os materiais testemunha herborizados e incorporados ao Herbário UEC (Tabela 1).

**Tabela 1** – Dados referentes ao material testemunha das espécies estudadas

<b>Espécie</b>	<b>Localidade</b>	<b>Nome e nº do coletor</b>	<b>Data da coleta</b>	<b>Registro UEC</b>
<i>A. blanchetii</i>	Campinas (SP) “Unicamp”	S. M. Gomes 487	28/XI/2002	142021
<i>M. arborea</i>	Cananéia (SP) “Fazenda Folha Larga”	C. Urbanetz 221	20/XI/2003	133528
<i>M. pohliana</i>	Campinas (SP) “Ceasa – indivíduo cultivado”	S. Aguiar 18	18/III/2007	144567
<i>T. arborea</i>	Campinas (SP) “Fazenda S <sup>ta</sup> Eliza”	S. M. Gomes 568	28/II/2003	142140

## Metodologia

As sementes coletadas foram fixadas em FAA (Johansen 1940) e conservadas em álcool etílico 70%. Posteriormente estas sementes foram incluídas em resina plástica (Gerrits & Smid 1983), seccionadas em micrótomo rotativo e as secções, de 10 µm aproximadamente, foram coradas com azul de toluidina (O' Brien *et al.* 1964), para análise estrutural, ou submetidas aos testes histoquímicos listados na tabela 2. Algumas secções foram submetidas à luz polarizada a fim de evidenciar constituintes celulares birrefringentes, como cristais, amido e celulose (Evert 2006).

**Tabela 2** – Testes histoquímicos utilizados na caracterização do tipo de substância de reserva presente nas sementes

Grupo de Compostos		Testes histoquímicos (Referência Bibliográfica)
Lipídios	Lipídios totais	Preto de Sudão B “Sudan Black B” (Pearse 1985) CI. 26150
	Lipídios totais	Sudão IV (Pearse 1985) CI. 26105
	Lipídios ácidos e neutros	Sulfato azul do Nilo (Cain 1947) CI. 51180
	Ácidos graxos	Acetato de cobre/ácido Rubeânico (Ganter & Jollés 1969)
Carboidratos	Amido	Reagente de Lugol (Johansen 1940)
	Mucilagem	Ácido tânico/cloreto férrico (Pizzolato 1977)
	Mucilagens ácidas	Vermelho de rutênio (Gregory & Baas 1989)
	Polissacarídeos totais	Reação PAS (Jensen 1962) CI. 42500
Proteínas	Proteínas totais	Preto de amido B “Aniline Blue Black” (Fisher 1968) CI. 20470
	Proteínas totais	Xylidine Ponceau (Cortelazzo & Vidal 1991) CI. 16150
Compostos fenólicos	Compostos fenólicos totais	Cloreto férrico (Johansen 1940)

As ilustrações consistiram de esquemas, fotografias e fotomicrografias. Os esquemas das sementes foram obtidos em câmara clara acoplada a estereomicroscópio. As fotomicrografias foram realizadas em microscópio Olympus BX 51 utilizando-se filme Kodak ProImage ASA 100, cujo negativo foi posteriormente escaneado para a produção de imagens digitais de alta resolução. As escalas das ilustrações foram calculadas através de lâmina micrométrica fotografada nas mesmas condições ópticas das demais ilustrações. As ilustrações foram utilizadas na confecção das pranchas, montadas no programa CorelDraw X3.

## Resultados

Abaixo segue a descrição anatômica de cada uma das sementes estudadas neste trabalho e dos principais resultados obtidos nos testes histoquímicos, que estão sumarizados na tabela 3.

### *Allamanda blanchetii* A. DC.

A semente madura é constituída por um envoltório (testa), endosperma e embrião (Fig. 1 e 4). A testa é formada pela exotesta unisseriada, constituída de células de paredes anticlinais e periclinal interna delgadas e periclinal externa espessas (Fig. 4), repletas de compostos fenólicos (Fig. 3). Além

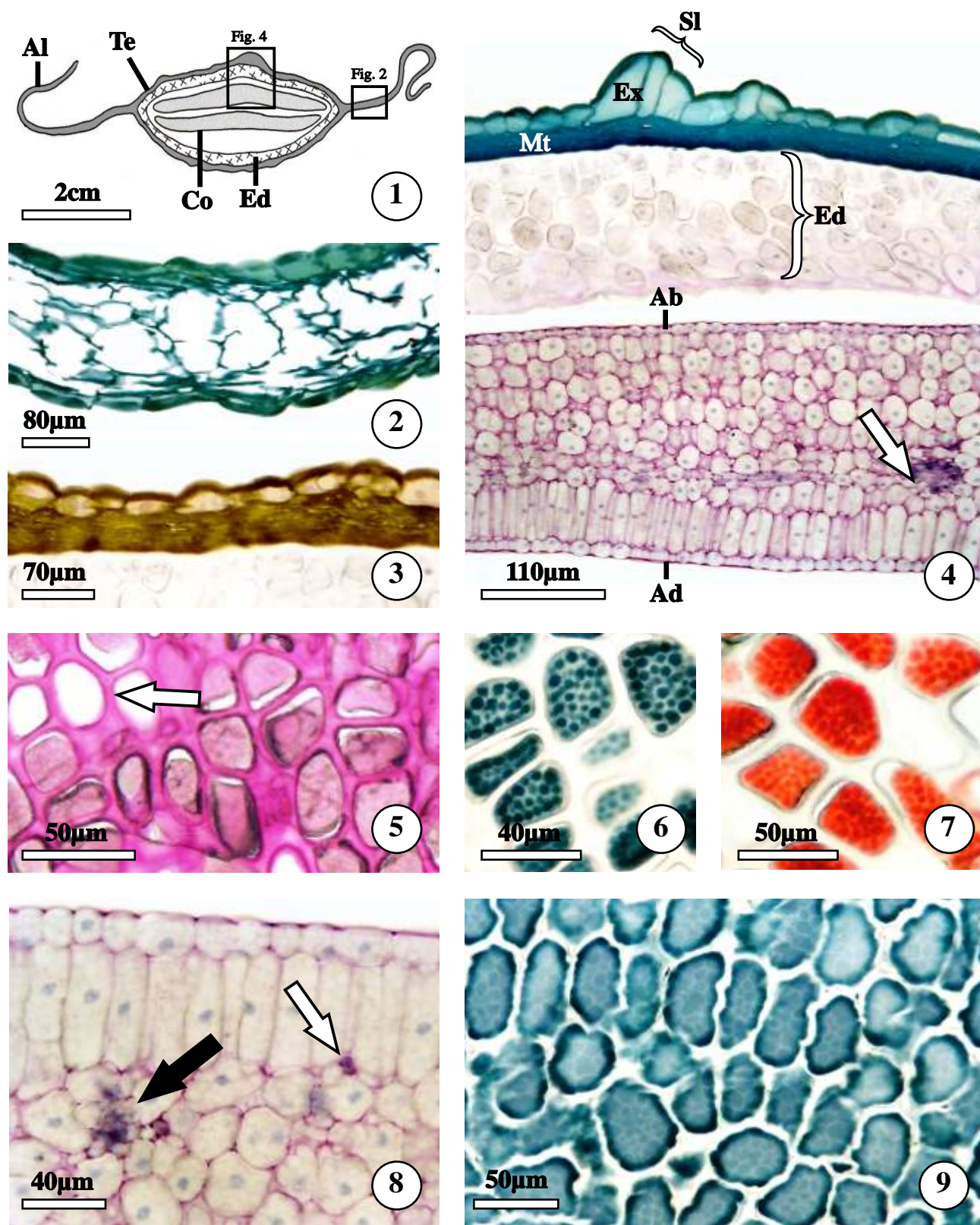


**Figuras A – E.** Sementes maduras. **A.** *Allamanda blanchetii* A. DC. **B.** *Tabernaemontana arborea* Rose (seta = arilo). **C.** *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry. **D e E.** *Malouetia arborea* (Vell.) Miers.

desta camada, a testa também possui várias camadas de células colapsadas (Fig. 4), pertencentes à mesotesta e endotesta, cujas paredes também possuem compostos fenólicos evidenciados pelo cloreto férrico (Fig. 3) e corados em verde intenso pelo azul de toluidina (Fig. 4). Em algumas regiões observam-se saliências na testa, resultantes do alongamento de células da exotesta (Fig. 4) ou de células da exotesta acrescidas de células da mesotesta. O prolongamento da testa da semente forma a ala (Fig. 1), que é constituída pela exotesta e por diversas camadas de células colapsadas da mesotesta (Fig. 2).

O endosperma (Fig. 4) possui células de paredes espessas, núcleos pouco evidentes e citoplasma com numerosos grânulos de reserva. As paredes das células são ricas em polissacarídeos de reserva, pois tiveram resultado positivo para reação PAS (Fig. 5). Já os grânulos de reserva, que preenchem todo o citoplasma das células, são corpos protéicos, pois tiveram resultado positivo somente para os testes com aniline blue black (Fig. 6) e xylydine ponceau (Fig. 7).

Os cotilédones são revestidos pela epiderme que é constituída por células de paredes delgadas, núcleos evidentes (Fig. 4 e 8) e citoplasma repleto de grânulos de reserva, maiores na face adaxial do que na abaxial (Fig. 4). A epiderme envolve o mesofilo que é constituído por 10 a 12 camadas de células parenquimáticas entre as quais estão dispersos feixes vasculares e laticíferos (Fig. 4 e 8). Junto à epiderme da face adaxial observa-se uma camada de células parenquimáticas colunares, diferente das demais camadas que possuem formato variado (Fig. 4 e 8), caracterizando o mesofilo como



**Figuras 1 – 9.** Semente madura de *Allamanda blanchetii* A. DC. 1. Esquema da secção transversal da semente. 2 - 9. Secções transversais. 2, 4 e 8. Teste com azul de toluidina. 3. Teste com cloreto férrico. 5. Reação PAS. 6 e 9. Teste com aniline blue black. 7. Teste com Xylidine ponceau. 2. Ala da semente. 3. Detalhe da testa com compostos fenólicos. 4. Vista geral da testa, do endosperma e de um cotilédone (seta = feixe vascular). 5. Detalhe das células do endosperma, evidenciando as paredes espessadas com polissacarídeos (seta). 6 e 7. Corpos protéicos das células do endosperma. 8. Detalhe do cotilédone (seta branca = laticífero; seta preta = feixe vascular). 9. Cotilédone repleto de corpos protéicos corados em azul escuro. Ab = face abaxial; Ad = face adaxial; Al = ala; Co = cotilédone; Ed = endosperma; Ex = exotesta; Mt = mesotesta; Sl = saliência; Te = testa



dorsiventral. A parede das células parenquimáticas é delgada e rica em substâncias pécnicas, apresentando forte metacromasia após a coloração com azul de toluidina e o citoplasma é repleto de grânulos de reserva (Fig. 8). Os feixes vasculares são pouco diferenciados e estão distribuídos na região mediana do cotilédone (Fig. 4 e 8); já os laticíferos são diferenciados e se distribuem por todo mesofilo, sendo distinguidos das células parenquimáticas pelo formato cilíndrico, pelas paredes celulares espessas, pelo conteúdo citoplasmático de aspecto mais denso e por serem pouco calibrosos (Fig. 8). Os grânulos de reserva das células epidérmicas e parenquimáticas do embrião, da mesma forma que os encontrados no endosperma, são corpos protéicos, pois tiveram resultado positivo somente para os testes com aniline blue black (Fig. 9) e xyloidine ponceau.

#### *Malouetia arborea* (Vell.) Miers

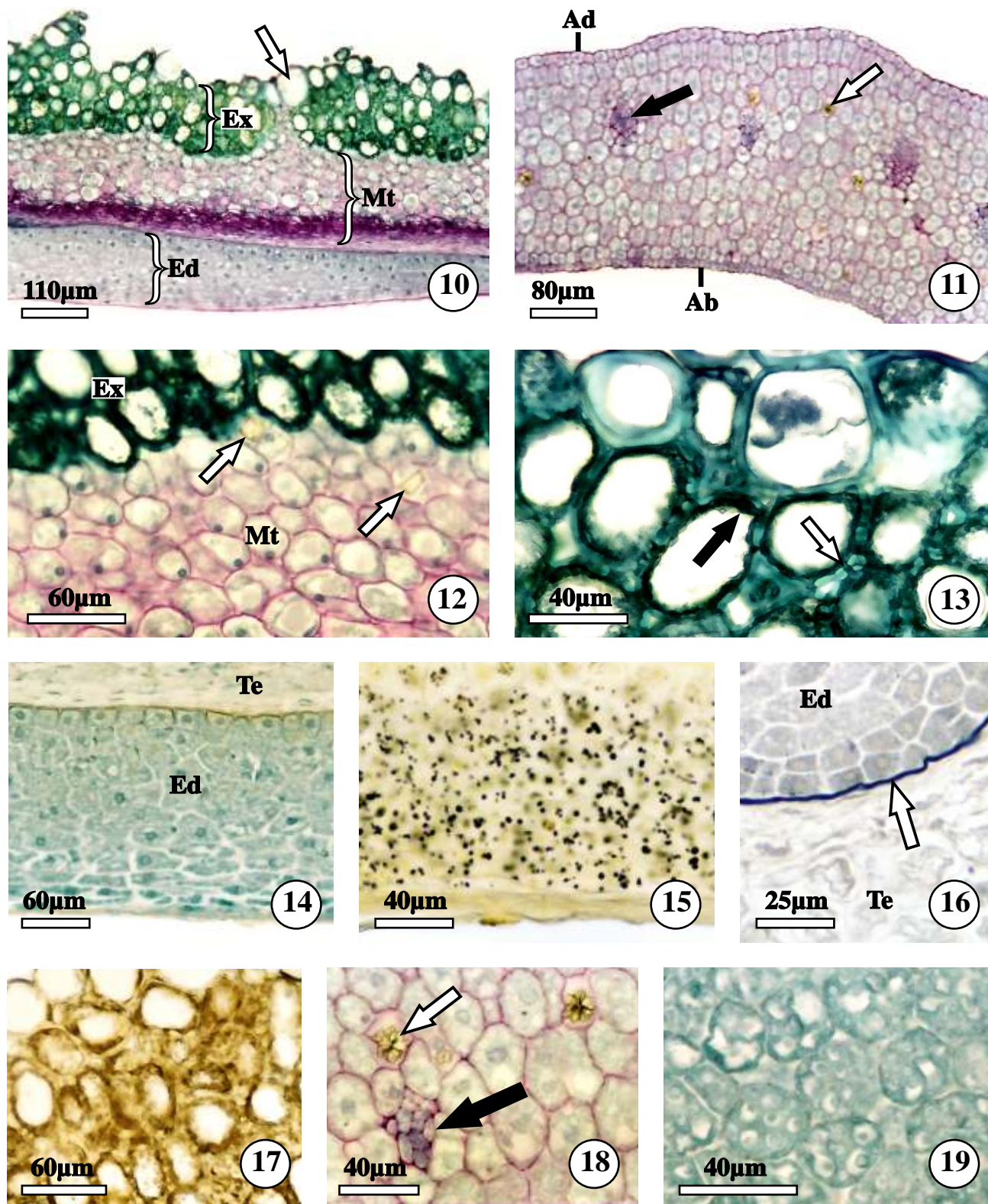
A semente madura é totalmente envolvida por tricomas lignificados (pêlos) originados a partir do prolongamento das células da testa (Fig. 10) que também apresenta várias camadas de esclerócitos lignificados (Fig. 10), repletos de pontuações (Fig. 13) e compostos fenólicos, fortemente corados em verde pelo AT (Fig. 13) e com reação positiva para o cloreto férrico (Fig. 17). Os tricomas lignificados e os esclerócitos formam a exotesta. Logo abaixo, observa-se a mesotesta (Fig. 10), constituída por várias camadas de células parenquimáticas de paredes delgadas, ricas em pectinas, com núcleos e nucléolos evidentes (Fig. 12), entre as quais estão dispersos diversos idioblastos cristalíferos (Fig. 12). A endotesta e uma parte da mesotesta são formadas por células colapsadas (Fig. 10).

O endosperma possui células de parede delgada (Fig. 10) e citoplasma de aspecto pouco denso, cuja reserva ocorre somente na forma de pequenos grãos de amido (Fig. 15), pois os testes para proteínas tiveram resultado negativo (Fig. 14). As células do endosperma que estão em contato direto com a testa são revestidas por camada lipídica levemente espessa, revelada em teste com Sudan black B (Fig. 16).

Os cotilédones possuem mesofilo constituído por células parenquimáticas, feixes vasculares, laticíferos e idioblastos cristalíferos (Fig. 11), envolto pela epiderme. As células da epiderme possuem parede delgada, citoplasma de aspecto denso com grãos de amido e proteínas de reserva e núcleo visível. O mesofilo é dorsiventral, pois se observa uma leve diferenciação no formato das células parenquimáticas que o constituem: as que estão em contato direto com a epiderme da face adaxial possuem formato levemente colunar (Fig. 11); já nas demais camadas o formato das células é variado (Fig. 11 e 18). As células parenquimáticas possuem paredes delgadas, núcleo proeminente (Fig. 18) e citoplasma com proteínas de reserva (Fig. 19), não organizadas em corpos protéicos, além de pequenos grãos de amido.

#### *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry

A semente comosa de *M. pohliana* é envolvida pela testa, constituída por uma exotesta de células com paredes anticlinais levemente espessadas e conteúdo fenólico (Fig. 20, 21 e 22), e por várias camadas de células colapsadas e impregnadas de conteúdo fenólico coradas em verde intenso pelo azul



**Figuras 10 – 19.** Secções transversais da semente madura de *Malouetia arborea* (Vell.) Miers. **10 – 13 e 18.** Teste com azul de toluidina. **14 e 19.** Teste com Aniline blue black. **15.** Reação com reagente de lugol. **16.** Teste com Sudan Black B. **17.** Teste com cloreto férrico. **10.** Vista geral da testa e do endosperma (seta = tricoma). **11.** Cotilédone (seta branca = drusa; seta preta = feixe vascular). **12.** Detalhe da exotesta e da mesotesta (setas = cristais prismáticos). **13.** Detalhe dos esclerócitos da exotesta (seta branca = pontuação simples; seta preta = compostos fenólicos). **14.** Testa e endosperma. **15.** Grão de amido, corados em preto, nas células do endosperma. **16.** Camada lipídica (seta) nas células do endosperma. **17.** Detalhe dos esclerócitos da exotesta evidenciando compostos fenólicos na parede. **18.** Feixe vascular (seta preta), idioblastos cristalíferos com drusas (seta branca) e células parenquimáticas do cotilédone. **19.** Proteínas de reserva, coradas em azul, no citoplasma das células do cotilédone. Ab = face abaxial; Ad = face adaxial; Ed = endosperma; Ex = exotesta; Mt = mesotesta; Te = testa

de toluidina (Fig. 21), pertencentes à mesotesta e endotesta, entre as quais estão dispersos idioblastos com cristais prismáticos (Fig. 21).

As células do endosperma possuem parede espessa (Fig. 20 e 21) e rica em polissacarídeos de reserva, evidenciados pela reação PAS (Fig. 23). O citoplasma das células é granuloso e o núcleo evidente (Fig. 20 e 21). Os grânulos de reserva do citoplasma são corpos protéicos, pois tiveram resultado positivo somente para os testes com xylidine ponceau (Fig. 24) e aniline blue black (Fig. 25).

Os cotilédones do embrião são constituídos por uma epiderme unisseriada, que reveste o mesofilo (fig. 20 e 26). As células epidérmicas, de paredes delgadas e citoplasma repleto de corpos protéicos (Fig. 27 e 28), são maiores na face adaxial do que na abaxial (Fig. 20 e 26). O mesofilo é constituído por células parenquimáticas, feixes vasculares e laticíferos (Fig. 20 e 26). As células parenquimáticas, de paredes delgadas e citoplasma repleto de corpos protéicos (Fig. 27 e 28), possuem formato levemente colunar, quando localizadas junto à epiderme da face adaxial, ou variado, no restante do mesofilo (Fig. 20 e 26). Os feixes vasculares são pouco diferenciados e estão distribuídos na região mediana do mesofilo (Fig. 20 e 26); já os laticíferos possuem formato cilíndrico e conteúdo de aspecto denso (Fig. 20 e 26), sendo facilmente reconhecidos.

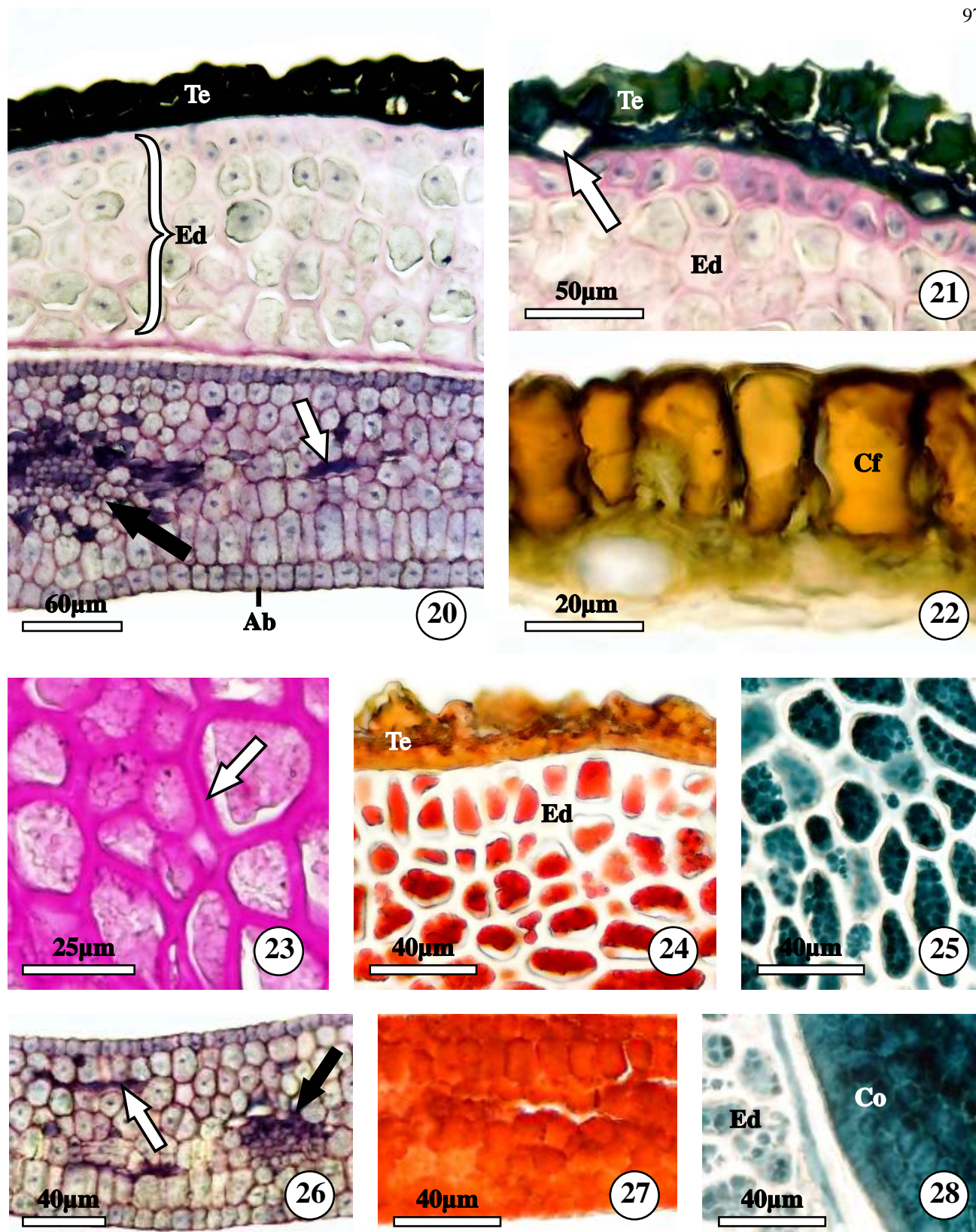
#### *Tabernaemontana arborea* Rose

A semente madura é envolvida, quase que totalmente, pelo arilo, constituído de células parenquimáticas de paredes delgadas e conteúdo de aspecto pouco denso e por feixes vasculares (Fig. 33). O tipo de substância de reserva presente em algumas células é o amido, evidenciado pelo reagente de Lugol (Fig. 34).

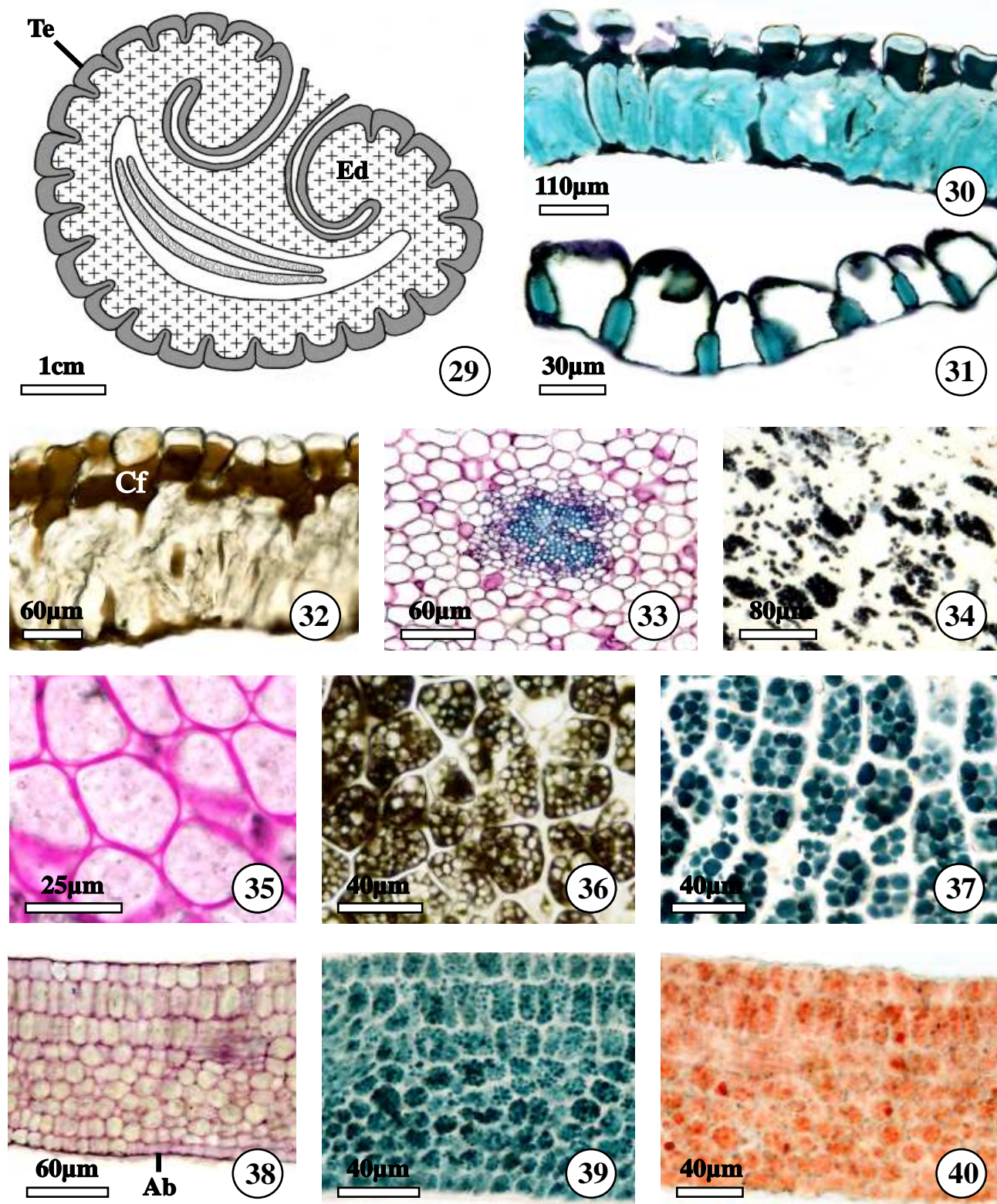
Logo abaixo do arilo observa-se o envoltório (testa) que é constituído exclusivamente pela exotesta (Fig. 30 e 31), que se apresenta repleta de saliências e reentrâncias (Fig. 29). A exotesta é formada por uma camada de esclerócitos de paredes lignificadas (Fig. 30 e 31) e conteúdo fenólico (Fig. 32). Na região das reentrâncias, os esclerócitos possuem somente as paredes anticlinais basais espessadas (Fig. 31); já na região das saliências os esclerócitos da exotesta possuem tanto as paredes anticlinais basais, como as periclinais externas espessadas (Fig. 30), deixando um lume pouco desenvolvido, mas repleto de compostos fenólicos (Fig. 32). As células da mesotesta e da endotesta são totalmente consumidas durante o desenvolvimento da semente, estando ausentes na semente madura.

O endosperma é ruminado (Fig. 29) e constituído por células de parede espessa (Fig. 35) e citoplasma repleto de grânulos de reserva. Através dos testes histoquímicos, pode-se constatar que os grânulos de reserva, presentes no citoplasma, são corpos protéicos (Fig. 37) e que a parede espessa possui polissacarídeos de reserva (Fig. 35). Além dos corpos protéicos também foram detectadas, através do teste com Sudan Black B (Fig. 36), pequenas gotas de lipídios ao redor dos corpos protéicos.

Os cotilédones possuem um mesofilo, constituído por células parenquimáticas, feixes vasculares e laticíferos, envolto pela epiderme, que possui células de parede delgada (Fig. 38) e citoplasma repleto de grânulos de reserva. O mesofilo é dorsiventral, pois se observa uma leve



**Figuras 20 – 28.** Secções transversais da semente madura de *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry. **20, 21 e 26.** Teste com azul de toluidina. **22.** Teste com cloreto férrico. **23.** Reação PAS. **24 e 27.** Teste com xylydine ponceau. **25 e 28.** Teste com aniline blue black. **20.** Vista geral da testa, do endosperma e do cotilédone (seta branca = laticífero; seta preta = feixe vascular). **21.** Testa com cristais prismáticos (seta) e endosperma. **22.** Compostos fenólicos nas células da testa. **23.** Detalhe das células do endosperma com resultado positivo para polissacarídeos totais nas paredes espessadas (seta). **24.** Testa e endosperma. Notar corpos protéicos corados em vermelho no endosperma. **25.** Corpos protéicos, corados em azul escuro, nas células do endosperma. **26.** Cotilédone (seta branca = laticífero; seta preta = feixe vascular). **27.** Corpos protéicos, corados em vermelho, das células do cotilédone. **28.** Corpos protéicos, corados em azul escuro, das células do cotilédone. Ab = face abaxial; Cf = compostos fenólicos; Co = cotilédone; Ed = endosperma; Ex = exotesta; Te = testa



**Figuras 29 – 40.** Semente madura de *Tabernaemontana arborea* Rose. 29. Esquema da secção transversal da semente. 30 – 40. Secções transversais. 30, 31, 33 e 38. Teste com azul de toluidina. 32. Teste com cloreto férrico. 34. Reação com reagente de lugol. 35. Reação PAS. 36. Teste com Sudan black B. 37 e 39. Teste com aniline blue black. 40. Teste com xylydine ponceau. 30. Exotesta lignificada e repleta de compostos fenólicos da região das saliências. 31. Exotesta localizada na região das reentrâncias. 32. Compostos fenólicos na exotesta. 33. Feixe vascular e células parenquimáticas do arilo. 34. Grãos de amido, corados em preto, presente nas células do arilo. 35. Detalhe das células do endosperma, evidenciando as paredes espessadas com polissacarídeos. 36. Corpos lipídicos, corados em preto, no endosperma. 37. Corpos protéicos, corados em azul escuro, nas células do endosperma. 38. Cotilédone. 39. Corpos protéicos, corados em azul escuro, nas células do cotilédone. 40. Corpos protéicos, corados em vermelho, nas células do endosperma. Ab = face abaxial; Cf = compostos fenólicos; Ed = endosperma; Te = testa

diferenciação no formato das células parenquimáticas que o constitui: as duas camadas que estão em contato direto com a epiderme da face adaxial possuem formato levemente colunar; já as demais camadas possuem formato variado (Fig. 38). As substâncias de reserva das células epidérmicas e parenquimáticas são corpos protéicos, evidenciados pelos testes com aniline blue black (Fig. 39) e xyloidineponceau (Fig. 40).

**Tabela 2** – Resultados dos tratamentos aplicados em sementes maduras de *Allamanda blanchetii* A. DC., *Malouetia arborea* (Vell.) Miers, *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry e *Tabernaemontana arborea* Rose.

+ = reação positiva; - = reação negativa; Ar = arilo; Co = cotilédone; Ed = endosperma

Grupo de Compostos		<i>Allamanda blanchetii</i>		<i>Malouetia arborea</i>		<i>Mandevilla pohliana</i>		<i>Tabernaemontana arborea</i>		
		Ed	Co	Ed	Co	Ed	Co	Ed	Co	Ar
Lipídios totais	Sudan black B	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	Sudan IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lipídios ácidos e neutros	Nile Blue	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Ácidos graxos									
	Acetato de cobre/Ácido rubiânico	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amido	Reagente de Lugol	-	-	+	+	-	-	-	-	+
Mucilagem	Ácido tânico/Cloreto férrico	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pectina									
	Vermelho de rutênio	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polissacarídeos Totais	Reação PAS	+	-	+	+	+	-	+	-	+
		(parede)		(amido)	(amido)	(parede)		(parede)		(amido)
Proteínas totais	Aniline blue black	+	+	-	+	+	+	+	+	-
	Xyloidine Ponceau	+	+	-	+	+	+	+	+	-

## Discussão

### Desenvolvimento da semente

Sementes maduras de *A. blanchetii*, *M. arborea*, *M. pohliana* e *T. arborea* são revestidas por um envoltório único, denominado testa, cuja camada mecânica ocorre na exotesta. Quando a camada de células protetora e lignificada se localiza na epiderme da testa, a semente é chamada de exotestal (Corner 1976; Souza 2006). Desta forma, todas estas sementes, aqui estudadas, são exotestais, da mesma maneira que 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 todas as espécies da família Apocynaceae descritas por Corner (1976). Além disto, o número de camadas da exotesta revelou ser um caráter potencialmente distintivo, pois somente *M. arborea* possui exotesta multisseriada.

O tipo celular presente na exotesta de *M. arborea* e *T. arborea* é o esclerócito. Segundo Werker (1997), esclerócitos são muito comuns nos tegumentos, variando em relação à espessura da parede e quanto ao número de camadas nas quais estão dispostos. No caso de *P. riedelii*, o espessamento é do tipo escalariforme-reticulado e restrito às paredes basais (Aguiar 2003), diferente de *M. arborea* que possui

espessamento homogêneo de parede. O padrão de espessamento dos esclerócitos de *T. arborea* revelou ser muito semelhante ao encontrado em *T. catharinensis* (Aguiar 2003), sugerindo ser uma característica conservada no gênero.

Compostos fenólicos foram detectados na testa de todas as espécies estudadas através do teste com cloreto férrico (Johansen 1940). Segundo Swain (1979), os compostos fenólicos são encontrados em todas as plantas vasculares atuando na defesa das plantas contra herbívoros. Werker (1977) reforçou esta afirmativa e indicou que os compostos fenólicos nas sementes aparentemente atuam na proteção contra herbívoros, fungos e bactérias tendo ainda possível efeito contra vírus. Também ajudam os tegumentos a se tornarem mais rígidos e impermeáveis, funcionam como inibidores da germinação (Mayer & Poljakoff-Maber, 1975), conferem a coloração amarronzada de muitas sementes (Werker 1979) e também servem para a proteção contra luz (Boesewinkel & Bouman 1984). Outras espécies da família, como *Holarrhena antydisenterica* Wall (Lattoo 1974) e *T. catharinensis* (Aguiar 2003) também possuem estas substâncias na testa de suas sementes.

Outras estruturas presentes no tegumento de *M. arborea* e *M. pohliana* são os cristais prismáticos. Cristais têm sido freqüentemente encontrados no tegumento de muitas sementes, cuja função tem sido atribuída a proteção contra invasão de microorganismos, estoque de cálcio e síntese de proteínas de reserva (Webb & Arnott 1982; Ilarslan *et al.* 1997) e foram encontrados em outros membros da família, como *Asclepias curassavica* (Souza *et al.* 2004). Além dos cristais na testa, também foram encontrados cristais do tipo drusa no cotilédone de *M. arborea*.

Ruminação no tegumento pode ou não envolver ruminação no endosperma (Werker 1997). No caso de *T. arborea*, a única espécie a apresentar endosperma ruminado, a exotesta é uma das responsáveis pela ruminação do endosperma, visto que possui saliências e reentrâncias cujas células apresentam diferentes graus de desenvolvimento e espessamento de parede. Este fato já havia sido descrito por Periasamy (1963) para sementes de *Voacanga grandifolia* Rolfe, *Ervatamia heyneana* Cooke e *Tabernaemontana* sp. que, da mesma forma que *T. arborea*, possuem endosperma ruminado. Segundo o autor, o endosperma de *Tabernaemontana* sp. só se torna ruminado por crescer acompanhando as ondulações da exotesta e comprimir as células da mesotesta. Os dados encontrados neste trabalho corroboram com as observações de Periasamy (1963) e enfatizam a participação da testa no processo de ruminação do endosperma de *T. arborea*.

O endosperma funciona como um tecido intermediário, pois absorve nutrientes de outros tecidos, como envoltório e nucelo, e os acumula no interior de suas células (Werker 1997) com a função de repassar esta reserva para o embrião. Apesar de todas as espécies serem albuminosas, somente em *M. arborea* foi observada uma camada lipídica, revelada em teste com Sudan Black B, revestindo as células do endosperma em contato com a testa da semente. A presença desta camada no endosperma é um fenômeno raro nunca retratado para Apocynaceae, sendo observado em espécies de outras famílias como *Sapium sebiferum* Roxb. (Euphorbiaceae), *Sterculia foetida* L. (Sterculiaceae) e em *Datura stramonium* L. (Solanaceae) (Vaughan 1970; Maldonado & Lott 1991), onde esta camada lipídica foi

denominada cutícula. Neste trabalho adotou-se o termo camada lipídica, pois o termo cutícula tem sido sempre empregado para células epidérmicas e, com exceção dos trabalhos mencionados acima, não é referido em outros tecidos do vegetal. Como se trata de uma estrutura raramente encontrada nas sementes, sua função permanece desconhecida.

### Substâncias de reserva

Os principais materiais de reserva em sementes maduras são proteínas, usualmente na forma de corpos protéicos, 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). As substâncias de reserva são mobilizadas durante o desenvolvimento da semente e seus produtos são usados para vários propósitos, como geração de energia e produção de compostos orgânicos (proteínas, carboidratos, lipídios, ácidos nucleicos) para construção de células e tecidos (Mayer & Poljakoff-Mayber 1975).

Todas as espécies estudadas armazenam substâncias de reserva no endosperma e no embrião. Segundo Werker (1997), os materiais de reserva podem ser acumulados praticamente em todos os tecidos da semente, temporariamente ou permanentemente, para posterior germinação. No caso de *T. arborea*, além das reservas presentes no endosperma e embrião, também existem substâncias de reserva, no caso amido, no arilo que envolve boa parte das sementes.

Segundo Carvalho & Nakagawa (1983), dentre os componentes químicos das sementes, as proteínas se apresentam em menor proporção que os carboidratos e lipídios, exceção feita à soja. Nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se observar resultado diferente do sugerido pelos autores, pois em todas as espécies estudadas, as principais substâncias de reserva encontradas nos cotilédones e endosperma, são as proteínas. Em sementes secas, as reservas protéicas aparecem de duas formas: como discretos corpos protéicos ou grãos de aleurona, envolvidos por uma membrana única; ou como uma matriz amorfa dispersa no citoplasma (Werker 1997). Com exceção de *M. arborea*, as espécies estudadas neste trabalho armazenam proteínas na forma de corpos protéicos, tanto nos cotilédones quanto no endosperma. Estes dados corroboram com o trabalho de Aguiar (2003) que também observou material de reserva de origem protéica, na matriz celular e em corpos protéicos, nos cotilédones e endosperma de *P. riedelii* e *T. catharinensis*. A principal função destas proteínas é a de fornecer aminoácidos e nitrogênio para plântulas em desenvolvimento (Amaral *et al.* 2001) e também auxiliar no processo de embebição das sementes (Mayer & Poljakoff-Maber 1975). No caso de *M. arborea* foi detectada reserva de proteínas somente nos cotilédones, mas não na forma de corpos protéicos, como nas demais espécies, mas sim de forma dispersa na matriz celular.

Arilo é uma excrescência carnosa que se forma na superfície das sementes (Corner 1976; Kapil *et al.* 1980) tendo importante papel na dispersão das mesmas (Pijl 1969). Ele pode se originar de diferentes partes das sementes (Werker 1997). Usualmente, os arilos possuem amido e óleos, variavelmente localizados, mas também podem apresentar células mucilaginosas (Corner 1976). Os



pigmentos podem ser localizados em cromoplastos (Raju 1956) ou vacúolos (Werker 1997). Algumas vezes, os pigmentos de óleos funcionam também como reserva (Vaughan 1970; Corner 1976), estando presentes em grandes gotas no interior da célula (Werker 1997). Apesar de *T. arborea* apresentar arilo de cor laranja nenhuma gota de lipídio foi evidenciada nos tratamentos para substâncias lipofílicas. O único tipo de substância de reserva encontrado no arilo foi o amido, corroborando com os resultados obtidos por Aguiar (2003) que também observou esta substância no arilo de *T. catharinensis*.

A forma mais comum de reserva de carboidrato nas sementes é o amido (Werker 1997), seguido por frutanos e polissacarídeos de parede celular (Buckeridge *et al.* 2000). O amido é constituído de diferentes proporções de amilose e amilopectina, ambos polímeros de glicose (Bewley & Black 1994). Das espécies estudadas neste trabalho somente *M. arborea* armazena amido no endosperma e cotilédone. Aguiar (2003) também observou presença de amido na testa, endosperma e cotilédones de *P. riedelii* e no endosperma e cotilédones de *T. catharinensis*. O amido é depositado em organelas denominadas amiloplastos (Duffus 1992), cujos grãos semicristalinos exibem birrefringência em forma de cruz de malta (Banks & Muir 1980). Os grãos de amido variam quanto à morfologia entre espécies, com relação ao tamanho, forma, estrutura de anéis, localização e forma do hilo, podendo algumas vezes auxiliar na taxonomia (Werker 1997). A forma do grão é determinada pela quantidade de amilose, pois quanto maior for a quantidade deste composto no grão mais arredondado ele será (Bewley & Black 1994). Amaral *et al.* (2001) analisaram a presença de amido nas células do endosperma de *Bixa orellana* L. e verificaram a presença de grãos pequenos e de forma elíptica nos primeiros estádios de desenvolvimento, sendo que com o decorrer do tempo, estes grãos tornaram-se maiores e mais arredondados.

De acordo com Buckeridge *et al.* (2000), os polissacarídeos de parede são classificados em três grupos: mananos (mananos puros, glucomananos e galactomananos), xiloglucanos e galactanos. Eles podem estar presentes no endosperma, perisperma e cotilédones (Werker 1997). Dentre as espécies estudadas, somente *M. arborea* possui endosperma com células de paredes delgadas; nas demais espécies as células do endosperma possuem parede espessa, com acúmulo de polissacarídeos de reserva. Desta forma, além dos corpos protéicos, a parede celular do endosperma destas espécies também atua na reserva de substâncias para a germinação.

A única espécie que possui reserva lipídica é *T. arborea*, na forma de pequenas gotas localizadas ao redor dos corpos protéicos. Reserva lipofílica aparece como gotas de óleos (esferossomos), envolvidos por meia unidade de membrana e apresentando material eletrôn denso (Adams *et al.* 1983). Aguiar (2003) também verificou presença de corpos lipídicos nos cotilédones e endosperma de *T. catharinensis*. Quando ocorre junto com corpos protéicos, os corpos lipídicos são localizados na periferia da célula e dos corpos protéicos (Werker 1997), fato também observado em *T. arborea*.

## Conclusões

As sementes estudadas neste trabalho são morfológicamente distintas e possuem diferentes tipos de apêndices: ala, em *A. blanchetii*, pelos ao redor de toda a semente, em *M. arborea*, coma, em *M. pohliana* e arilo, em *T. arborea*. Mesmo assim estas sementes apresentam diversas características comuns, como envoltório único repleto de compostos fenólicos, endosperma e cotilédones dorsiventrais. Como a camada mecânica localiza-se na exotesta, todas as sementes são exotestais, sendo que somente *M. arborea* possui a exotesta multisseriada. As principais substâncias de reserva encontradas foram as proteínas e os carboidratos. As proteínas, à exceção de *M. arborea*, ocorrem na forma de corpos protéicos; já os carboidratos, apresentaram-se na forma de polissacarídeos de parede celular, novamente com exceção para *M. arborea* que os reserva na forma de grãos de amido. Finalmente, a única espécie com reserva lipídica significativa foi *T. arborea*, na forma de pequenas gotas presentes no endosperma.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa concedida ao primeiro autor durante a elaboração deste trabalho e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio à pesquisa fornecido (proc. 01/12364-0). Agradecimentos especiais a MSc. Cátia Urbanetz por ceder parte do material botânico utilizado na elaboração deste trabalho.

## Referências Bibliográficas

- Adams, C.A.; Norby, S.W. & Rinne, R.W. 1983. Ontogeny of lipid bodies in developing soybean seeds. **Crop Science** **23**: 757 – 759.
- 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.
- Albers, F. & Meve, U. 2001. A karyological survey of Asclepiadoideae, Periplocoideae and Secamonoideae and evolutionary considerations within Apocynaceae *s.l.* **Annals of the Missouri Botanical Garden** **88**: 624 – 656.
- Amaral, L.I.V.; Pereira, M.F.D.A. & Cortelazzo, A.L. 2001. Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento embrionário de urucum (*Bixa orellana* L. – Bixaceae). **Acta Botanica Brasílica** **15** (1):125 – 132.
- APG II (The Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update oh the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society** **141**: 399 – 436.
- Banks, W. & Muir, D.D. 1980. Structure and chemistry of the starch granule. Pp. 321 – 329. In: P.R. Stumpf & E.E. Conn (eds.). **The biochemistry of plants**. London, Academic Press.

- Bell, A.D. 1991. **Plant form: an illustrated guide to flowering plant morphology**. New York, Oxford University Press.
- Bewley, J.D. & Black, M. 1994. **Seeds: physiology of development and germination**. 2<sup>nd</sup> ed. New York, Plenum Press.
- Boesewinkel, F.D. & Bouman, F. 1984. The seed: structure. Pp. 567 – 610. In: B.M. Johri (ed.). **Embryology of Angiosperms**. New York, Springer – Verlag
- Buckeridge, M.S.; Santos, H.P. & Tiné, M.A.S. 2000. Mobilization of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology and Biochemistry** **38** (1/2): 141 – 156.
- Cain, A.J. 1947. The use of Nile Blue in the examination of lipoids. **Quarterly Journal of Microscopical Science** **88**: 383 – 392.
- Carvalho, N.M. & Nakagawa, J. 1983. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas, Fundação Cargill.
- Corner, E.J. 1976. **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.
- Duffus, C.M. 1992. Control of grain growth and development. Pp. 125 – 149. In: C. Marshall & J. Grace (eds.). **Fruit and seed production: aspects of development, environmental physiology and ecology**. Cambridge, University Press.
- Endress, M.E. & Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. **The Botanical Review** **66**(1): 1 – 56.
- Esau, K. 1965. **Plant anatomy**. 2<sup>nd</sup> ed. Tokyo, Toppan Company LTDA.
- Fisher, D.B. 1968. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie** **16**: 92 – 96.
- Ganter, P. & Jollés, G. 1969, 1970. **Histologie normale et pathologique**. vols. 1 e 2. Paris, Gauthier – Villars.
- 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.
- Gregory, M. & Bass, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. **Israel Journal of Botany** **38**: 125 – 174.
- Harris, N.; Henderson, J.; Abbot, S.J.; Mulchrone, J. & Davies, J.T. 1993. Seed developmental and structure. Pp. 3 – 21. In: P.R. Shewry & K. Stobart (eds.). **Seed storage compounds – biosynthesis, interactions and manipulation**. Oxford, Clarendon Press.
- Ilarslan, H.; Palmer, R.G.; Imsande, J. & Horner, H.T. 1997. Quantitative demonstration of calcium oxalate and oxalate in seeds of soybean (Leguminosae). **American Journal of Botany** **84**: 1042 – 1046.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Company.

- Johry, B.M. 1984. **Embryology of angiosperms**. New York, Springer – Verlag.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A. & Stevens, P.F. 2002. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland, Massachusetts, USA, Sinauer Associates Inc. Publishers.
- Kapil, R.N.; Bor, J. & Bouman, F. 1980. Seed appendages in Angiosperms. **Botanische Jahrbücher fuer Systematik Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie** **101**(4): 555 – 573.
- 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.
- Kinoshita, L.S. (coord.). 2005. Apocynaceae. Pp. 35 – 91. 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.
- Lattoo, C.S. 1974. Morphology and embryology of *Holarrhena antidysenterica* Wall. **Botanical Gazette** **135**: 173 – 180.
- Maldonado, S. & Lott, J.N.A. 1991. Protein bodies in *Datura stramonium* seeds: structure and mineral nutrient composition. **Canadian Journal of Botany** **69**: 2545 – 2554.
- 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.
- Mayer, A.M. & Poljakoff-Maber, A. 1975. **The germination of seeds**. Exeter, Pergamon Press.
- Nikolaeva, M.G. 2004. On criteria to use in studies of seed evolution. **Seed Science Research** **14**: 315 – 320.
- O'Brien, T.P.; Feder, N. & McCully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** **59**(2): 368 – 373.
- Pearse, A.G.E. 1985. **Histochemistry theoretical and applied**. vol. 2. Edinburgh, C. Livingstone.
- Pearson, N.L. 1948. Observations on seed and seed hair growth in *Asclepias syriaca* L. **American Journal of Botany** **35**: 27 – 36.
- Periasany, K. 1963. Studies on seeds with ruminant endosperm. 3. Development of rumination in certain members of Apocynaceae. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Plant Sciences)** **58**: 325 – 332.
- Pijl, L. Van der. 1969. **Principles of dispersal in higher plants**. Berlin, Heidelberg & New York.
- Pizzolato, T.D. 1977. Staining of *Tilia* mucilages with Mayer's tannic acid-ferric chloride. **Bulletin of the Torrey Botanical Club** **104**: 277 – 279.
- 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.
- Raju, M.S.V. 1956. Embryology of Passifloraceae – I. Gametogenesis and seed development of *Passiflora calcarata* Mast. **Journal of the Indian Botanical Society** **35**: 126 – 138.

- Silva, L.L. & Paoli, A.A.S. 2000. Caracterização morfoanatômica da semente de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. – Rutaceae. **Revista Brasileira de Sementes** **22**: 250–256.
- Simões, A.O. & Kinoshita, L.S. 2002. The Apocynaceae s. str. of the Carrancas region, Minas Gerais, Brazil. **Darwiniana** **40**(1/4): 127–169.
- Simpson, M.G. 2007. **Plant systematics**. London, Elsevier Academic Press.
- Souza, L.A. 2006. Fruto. Pp. 11 – 163. In: L.A. Souza (org.). **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa, UEPG.
- Souza, L.A.; Iawazaki, 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. Tannins and lignins. Pp. 657 – 682. In: G.A. Rosenthal & D.H. Janzen (eds.). **Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites**. New York, Academic Press.
- Vaughan, J.G. 1970. **The structure and utilization of oil seeds**. London, Chapman & Hall.
- Webb, M.A. & Arnott, H.J. 1982. A survey of calcium oxalate crystals and other mineral inclusions in seeds. **Scanning Electron Microscopy** **3**: 1109–1131.
- Werker, E. 1997. **Seed anatomy**. Berlin, Gebrüder Borntraeger.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de existirem diversos trabalhos com frutos e sementes em Apocynaceae, eles são poucos frente à riqueza e variedade apresentada pelos representantes da família. Desta forma este trabalho trouxe dados inéditos para 13 espécies da família ocorrentes no Brasil, além de contribuir para o conhecimento da família como um todo. O levantamento de caracteres anatômicos dos frutos e das sementes, a descoberta dos tipos de reserva presentes nas sementes e a revisão da classificação morfológica de alguns frutos foram os principais objetivos do presente trabalho, explorados nos cinco capítulos.

Frutos de *Aspidosperma* são muitos semelhantes quanto à morfologia, sendo assim no primeiro capítulo foram estudados frutos maduros de *A. australe*, *A. olivaceum* e *A. pyrifolium* e levantados caracteres anatômicos do pericarpo que puderam ser utilizados na distinção das espécies. Um exemplo de um caráter utilizado foram os tricomas de cobertura e endocarpo lignificado, encontrados somente em *A. australe*. Outros caracteres levantados foram os laticíferos com bainha parenquimática, presentes somente em *A. olivaceum*, e os esclerócitos arranjados em grupos de diversas células, presente somente no mesocarpo de *A. pyrifolium*. Apesar de possuírem características particulares, pode-se observar também uma similaridade quanto às características do pericarpo destas espécies quando comparadas entre si e quando comparadas com outras espécies já estudadas, como *A. polyneuron* Müll. Arg. (Souza & Moscheta 1992) e *A. parvifolium* A. DC. (Gomes 2008).

No segundo capítulo também pôde se comprovar a importância de estudos anatômicos e ontogenéticos nos fornecimento de dados úteis para distinguir espécies de *Allamanda*. Além do mais os estudos ontogenéticos foram primordiais no fornecimento de subsídios para nova proposta de classificação dos frutos. Os frutos, anteriormente descritos na literatura como cápsulas loculicidas (Barroso et al. 1999), são na realidade cápsulas septicidas, pois as valvas são originadas, cada uma, de um único carpelo, e não de metades de carpelos adjacentes, como ocorre nas cápsulas loculicidas. O pericarpo de *A. blanchetii* e *A. schottii*, espécies estudadas neste capítulo, são muito similares, pois ambos possuem epicarpo com células de paredes espessas, estômatos e cutícula delgada; no mesocarpo observa-se hipoderme colenquimática, anel esclerenquimático, aerênquima e feixes vasculares; e o endocarpo é constituído por esclerócitos alongados no sentido longitudinal do fruto. Estas características anatomias são muito diferentes das encontradas na cápsula de *P. coalita* (capítulo 3), que pertence a uma subfamília mais derivada dentro de Apocynaceae. A única característica distintiva entre as espécies está relacionada ao aerênquima, que é mais desenvolvido em *A. blanchetii*.

Trabalhos taxonômicos anteriores (Woodson 1936; Simões & Kinoshita 2002; Rio & Kinoshita 2005) consideraram os frutos de *Prestonia* em geral como folículos, mas Gomes (2008) sugere que em *P. coalita* estes frutos são, na realidade, cápsulas septicidas bicarpelares. Desta forma, no capítulo 3, um estudo ontogenético nos frutos de *P. coalita* comprovou que os frutos desta espécie são na realidade cápsulas septicidas bicarpelares, assim como proposto por Gomes (2008). Além disto, foram levantados diversos caracteres anatômicos do pericarpo, que, em conjunto com o trabalho de Aguiar et al. (2009),

ressaltam a importância do estudo de anatomia de frutos para uma correta caracterização morfológica dos frutos, além de fornecer dados que possam ser utilizados em futuras análises filogenéticas para o gênero.

No quarto capítulo foram estudadas quatro espécies de Asclepiadoideae e verificados caracteres homólogos e caracteres que puderam ser utilizados na distinção das espécies, visto que todas as espécies possuem frutos semelhantes quanto à morfologia. A presença de estriações cuticulares foi um caráter distintivo no epicarpo de *B. bicuspidatum*. Em secção transversal, somente as fibras de *O. glaziovii* possuem formato achatado, sendo este um outro caráter considerado distintivo para as espécies. Além disto, a presença de tricomas de cobertura no epicarpo de *O. appendiculatum* é um caráter importante para distinguir esta espécie de *O. balansae*. A presença de fibras não lignificadas no mesocarpo de todas as espécies é um dado de extrema importância corrobora com a atual circunscrição de Apocynaceae, pois estas células, consideradas raras, também foram encontradas em espécies das subfamílias Periplocoideae (Dave & Kuriachen 1991) e Apocynoideae (Thomas & Dave 1994; Gomes 2008; Aguiar *et al.* 2009), Além de estarem presentes em outras espécies de Asclepiadoideae (Kuriachen *et al.* 1991; Kuriachen *et al.* 1992).

A partir dos dados obtidos nos 4 primeiros capítulos foi elaborado a tabela 2, comparativa entre todas as espécies estudadas, onde nota-se a existência de caracteres comuns e particulares para cada uma das espécies.

No quinto e último capítulo, foi possível verificar que todas as sementes estudadas, apesar de possuírem morfologia variada e diferentes tipos de apêndices, apresentam similaridades quanto à estrutura do tegumento, pois todas são exotestais e possuem compostos fenólicos. Além disto, *Allamanda blanchetii*, *Mandevilla pohliana* e *Tabernaemontana arborea* possuem corpos protéicos como principal substância de reserva, ao passo que em *Malouetia arborea* as substâncias de reserva aparecem na forma de grãos de amido e proteínas de matriz. Corpos lipídicos estão presentes somente em *Tabernaemontana arborea*, passando quase que despercebidos nos testes histoquímicos, devido à abundância e tamanho dos corpos protéicos. Foi observada, em *M. arborea*, uma camada lipídica no endosperma, envolvendo as células mais externas. Este é um dado muito incomum na literatura, ocorrendo somente em algumas espécies, e inédito para a família Apocynaceae.

## PERSPECTIVAS FUTURAS

A partir do trabalho de Aguiar (2003) iniciou-se, no laboratório de Anatomia Vegetal da UNICAMP, uma linha de estudo cujo propósito é investigar caracteres morfoanatômicos de frutos e sementes de espécies brasileiras de Apocynaceae. Com a realização do presente trabalho novas espécies foram contempladas nos estudos e diversos dados foram obtidos. Diante do volume de dados várias dúvidas e diversas propostas de futuros trabalhos são sugeridos. A seguir serão expostas as principais propostas de trabalhos futuros, baseando-se nas perguntas e questionamentos que foram surgindo na elaboração de cada um dos capítulos escritos:

- coletar frutos deiscentes de *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg. e *A. pyriformium* Mart. para confirmar se ocorre lignificação tardia do endocarpo
- estudar frutos de outras espécies de *Aspidosperma* Mart & Zucc. com o objetivo de fornecer dados anatômicos que possam ser utilizados em possíveis análises filogenéticas
- verificar, por meio de estudos químicos, a natureza das reservas das sementes de *Allamanda blanchetii* A. DC., *Malouetia arborea* (Vell.) Miers, *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry e *Tabernaemontana arborea* para confrontar com os dados obtidos nos tratamentos obtidos no presente trabalho
- estudar frutos de outras espécies de *Allamanda* L. com o objetivo de fornecer dados anatômicos que possam ser utilizados em possíveis análises filogenéticas
- realizar um estudo ultraestrutural das fibras dos frutos de representantes de Asclepiadoideae e Apocynoideae com o objetivo de comparar o padrão deste tipo celular nas diferentes subfamílias
- confirmar, através de estudos ontogenéticos, se os folículos fusionados de *Nerium oleander* L., *Parsonia spiralis* Wall., *Vallaris solanaceae* O. Ktze. e *Wrightia tomentosa* são cápsulas septicidas bicarpelares, da mesma forma que os de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson
- estudar frutos e sementes de representantes da subfamília Secamonoideae, visto que é a única que não foi contemplada em estudos do gênero
- realizar um estudo de revisão sobre anatomia de frutos em Apocynaceae, visto que já existem vários trabalhos com diferentes espécies na família
- realizar um estudo ontogenético nas sementes de *Allamanda blanchetii* A. DC., *Malouetia arborea* (Vell.) Miers, *Mandevilla pohliana* (Stadelm.) A. H. Gentry e *Tabernaemontana arborea* Rose com o objetivo de verificar a origem da ala, dos pelos, da coma e do arilo, respectivamente
- estudar a formação da camada lipídica no endosperma de *Malouetia arborea* (Vell.) Miers e verificar se esta característica é comum em outras espécies da família
- abordar novas espécies da família em estudos de substância de reserva de sementes, visto que são escassos em Apocynaceae

O estudo de frutos e sementes em Apocynaceae está no início, tendo em vista o grande número de espécies e a grande variedade morfológica apresentada pelos órgãos na família. Acredita-se que a continuação deste trabalho irá repercutir em trabalhos relevantes que serão de grande importância para o entendimento da família como um todo, através da utilização dos dados em futuros estudos taxonômicos, filogenéticos ou até mesmo de dispersão.



**Tabela 2** – Resumo das principais características morfoanômicas dos frutos de *Aspidosperma australe* Müll. Arg., *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg., *Aspidosperma pyriforme* Mart., *Allamanda blanchetii* A. DC., *Allamanda schottii* Pohl, *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson, *Blepharodon bicuspidatum* E. Fourn., *Oxyptalum appendiculatum* Mart., *O. balansae* Malme e *O. glaziovii* (E. Fourn.) Fontella & Marquete estudados nos 4 primeiros capítulos do presente trabalho. + = presente e - = ausente

Características morfoanômicas	<i>A. australe</i> (capítulo 1)	<i>A. olivaceum</i> (capítulo 1)	<i>A. pyriforme</i> (capítulo 1)	<i>A. blanchetii</i> (capítulo 2)	<i>A. schottii</i> (capítulo 2)	<i>P. coalita</i> (capítulo 3)	<i>B. bicuspidatum</i> (capítulo 4)	<i>O. appendiculatum</i> (capítulo 4)	<i>O. balansae</i> (capítulo 4)	<i>O. glaziovii</i> (capítulo 4)
Tipo de fruto	foliáceo	foliáceo	foliáceo	capsula septicida bicarpelar	capsula septicida bicarpelar	capsula septicida bicarpelar	foliáceo	foliáceo	foliáceo	foliáceo
Consistência do fruto	lenhosa	lenhosa	lenhosa	lenhosa	lenhosa	coriácea	esponjosa	esponjosa	esponjosa	esponjosa
Epicarpo	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
n <sup>o</sup> camadas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
cutícula	...	...	...	+	+	+	(com estriações)	+	+	+
estômatos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
lenticelas	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
tricomos	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
peridérme	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
Mesocarpo	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
hipoderme colenquimática	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
anel esclerenquimático	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
parênquima fundamental	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
parênquima clorofiliano	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
aerênquima	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
(muito desenvolvido)					(pouco desenvolvido)					(pouco desenvolvido)
idoblastos cristalíferos	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
esclerócitos	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
fibras não lignificadas	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
laticíferos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(com bainha parenquimática)										
tipo de feixe vascular	colateral, bicolateral e concêntrico	colateral, bicolateral e concêntrico	colateral, bicolateral e concêntrico	colateral, bicolateral e concêntrico	colateral, bicolateral e concêntrico	bicolateral	colaterais e bicolaterais	colaterais e bicolaterais	colaterais e bicolaterais	colaterais e bicolaterais
ilhas de floema	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
linha de deiscência	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
n <sup>o</sup> camadas	15 a 20	10 a 15	5 a 10	4 a 8	3 a 4	1	1	1	1	1
orientação das células	cruzada	cruzada	cruzada	longitudinal (raro cruzada)	longitudinal	transversal	transversal	transversal	transversal	transversal
lignificação	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adanson, M. 1768. **Families des plantes**. 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.; Carmello-Guerreiro, S.M. & Kinoshita, L.S. 2009. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr. (Apocynaceae). **Acta Botanica Brasilica**
- Albers, F. & Meve, U. 2001. A karyological survey of Asclepiadoideae, Periplocoideae and Secamonoideae and evolutionary considerations within Apocynaceae *s.l.* **Annals of the Missouri Botanical Garden** **88**: 624–656.
- Almeida, S.P. de; Proença, C.E.B.; Sano, S.M. & Ribeiro, J.F. 1988. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina, Embrapa/CPAC.
- APG II (The Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update on the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society** **141**: 399–436.
- 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).
- Batina, M.F.C.; Cintra, A.C.A.; Veronese, E.L.G.; Lavrador, M.A.S.; Giglio, J.R.; Pereira, P.S.; Dias, D.A.; França, S.C. & Sampaio, S.V. 1999. Inhibition of the lethal and myotoxic activities of *Crotalus durissus terrificus* venom by *Tabernaemontana catharinensis*: identification of one of the active components. **Planta Medica** **66**: 424–428.
- Bobrov, A.V.F.CH.; Endres, P.K.; Melikian, A.P.; Romanov, M.S.; Sorokin, A.N. & Bejerano, A.P. 2005. Fruit structure of *Amborella trichopoda* (Amborellaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society** **148**: 265–274.
- 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.
- Calixto, J. B.; Nicolau, M. & Yunes, R. A. 1985. The selective antagonism of bradikinin actino on rat isolated uterus by crude *Mandevilla velutina* extract. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** **85**: 729-731.
- Calixto, J. B. & Yunes, R. A. 1986. Effect of a crude extract of *Mandevilla velutina* on contractions induced by bradikinin and [des-Arg<sup>9</sup>] – bradikinin in isolated vessels of the rabbit. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** **88**: 937-941.
- Carmello-Guerreiro, S.M. & Paoli, A.A.S. 2005. Anatomy of the pericarp and the seed-coat of *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. with taxonomic notes. **Brazilian Archives of Biology and Technology** **48**(4): 599–610.
- Castro, M.A. 1986. Anatomia del fruto de *Araujia horotorum* E. Fourn. (Asclepiadaceae). **Parodiana** **4**: 195–203.

- Cavalcante, P. B. 1991. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 5<sup>a</sup> ed. Belém, CEJUP.
- Chase, M.W.; Soltis, D.E. & Olmstead, R.G. 1993. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **80**: 528–580.
- Clausing, G.; Meyer, K. & Renner, S.S. 2000. Correlations among fruit traits and evolution of different fruits within Melastomataceae. **Botanical Journal of the Linnean Society** **133**: 303–326.
- Corner, E.J. 1976. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Costa, C.M.; Cavalcante, U.M.T.; Goto, B.T.; Santos, V.F. dos & Maia, L.C. 2005. Fungos micorrízicos arbusculares e adubação fosfatada em mudas de mangabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **40**: 225–232.
- Cronquist, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York, Columbia University Press.
- Dave, Y. & Kuriachen, P.M. 1991. Comparative anatomical characters of *Periplocaceae* follicles and their taxonomic significance. **Feddes Repertorium** **102**(1/2): 63–68.
- Demarco, D. 2005. **Estruturas secretoras florais e coléteres foliares em espécies de cerrado de *Aspidosperma* Mart. e *Blepharodon* Decne. (Apocynaceae s.l.)**. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Demarco, D. 2008. **Glândulas de órgãos vegetativos aéreos e florais de espécies de Asclepiadeae (R. Br.) Duby (Asclepiadoideae, Apocynaceae) de mata atlântica do estado de São Paulo**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Demarco, D.; Kinoshita, L. S. & Castro, M. de M. 2006. Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae. **Revista Brasileira de Botânica** **29**: 133-144.
- Doyle, J.A.; Donoghue, M.J. & Zimmer, E.A. 1994. Integration of morphological and ribosomal RNA data on the origin of angiosperms. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **81**: 419–450.
- Doweld, A.B. & Shevyryova, N.A. 1998. Carpology, seed anatomy and taxonomic relationships of *Glabulimia* (Himantandraceae). **Annals of Botany** **81**: 337–347.
- Endress, P.K. 1998. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Endress, M.E. & Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae s.l. **The Botanical Review** **66**(1): 1–56.
- 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.
- Falcão, M. de A. & Lleras, E. 1981. Aspectos fenológicos, ecológicos e de produtividade da sorva (*Couma utilis* (Mart.) Muell. Arg.). **Acta Amazônica** **11** (4): 729–741.
- Falcão, M. de A.; Clement, C. R. & Gomes, J. B. M. 2003. Fenologia e produtividade de sorva (*Couma utilis* (Mart.) Muell. Arg.) na Amazônia Central. **Acta Botânica Brasileira** **17** (4): 541–547.

- Gomes, S.M. 2006. **Ontogênese floral com ênfase no estudo do gineceu em Apocynaceae s.l.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Gomes, S.M. 2008. Morfo-anatomia de frutos e sementes em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. **Acta Botanica Brasilica** 22: 521 – 534.
- Gupta, V. & Lamba, L.C. 1981. Sclereids in the endocarp of *Rauvolfia serpentina* (L) Benth ex Kurz. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences – Plant Sciences** 90(1): 79 – 84.
- Hassan, N.M.S.; Meve, U. & Liede-Schumann, S. 2005. Seed coat morphology of Aizoaceae-Sesuvioideae, Gisekiaceae and Molluginaceae and its systematic significance. **Botanical Journal of the Linnean Society** 148: 189 – 206.
- Hoene, F. C. 1946. **Frutos Indígenas**. São Paulo, Instituto de Botânica (Publ. Av. – Série D).
- Hutchinson, J. 1969. **Evolution and phylogeny of flowering plants**. London, Academic Press.
- Juan, R.; Pastor, J. & Fernández, I. 2000. SEM and light microscope observations on fruit and seeds in Scrophulariaceae from Southwest Spain and their systematic significance. **Annals of Botany** 86: 323 – 338.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A. & Stevens, P.F. 2002. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland, Massachusetts, USA, Sinauer Associates Inc. Publishers.
- 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.
- Kamath, J.V. & Rana, A.C. 2002. Preliminary study on antifertility activity of *Calotropis procera* roots in female rats. **Fitoterapia** 73: 111 – 115.
- 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.
- Kinoshita, L.S. (coord.). 2005. Apocynaceae. Pp. 35 – 91. 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.
- Kinoshita, L.S. & Simões, A.O. 2005. *Hancornia* Gomes. Pp. 54. 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.
- Koch, I. 2002. **Estudos das espécies neotropicais do gênero Rauvolfia L. (Apocynaceae)**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Koch, I. 2005. *Rauvolfia* L. Pp. 78. 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.
- Koch, I. & Kinoshita, L.S. 1999. As Apocynaceae s. str. da região de Bauru, São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 13: 61 – 86.
- 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(2): 107 – 112.

- Kuriachen, P.M.; Thomas, V. & Dave, Y. 1992. Taxonomic and phylogenetic significance of fruit walls in Asclepiadaceae. **Feeds Repertorium** 103(3/4): 179 – 193.
- Marasca, R.M. 2008. **Estruturas secretoras em *Raulvolfia sellowii* Müll. Arg. (Apocynaceae, Raulvolfoideae, Vinceae)**. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- 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.
- Marquete, N.F. da S. 2003. **O gênero *Oxypetalum* R. Br. (Asclepiadoideae – Apocynaceae) no estado do Rio de Janeiro, Brasil**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Martins, F.M. 2008. **Glândulas foliares e florais em espécies de Apocynaceae de cerrado**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1965. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**. London, Oxford.
- Metcalf, C.R. & Chalk, L. 1983. **Anatomy of the dicotyledons: wood structure and conclusion of the general introduction**. London, Oxford.
- Monachino, J. 1945. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). **Lilloa** 11: 19 – 48.
- Mourão, K.S.M. & Beltrati, C.M. 2000. Morphology and anatomy of developing fruits and seeds of *Mammea americana* L. (Clusiaceae). **Revista Brasileira de Biologia** 60(4): 701 – 711.
- Nogueira, R.J.M.C.; Albuquerque, M.B. de & Silva Junior, J.F. 2003. Effect of the substrate on the emergence, growth and stomatal behavior in mangaba seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura** 25: 15 – 18.
- Nowak, R. & Kisiel, W.H. 2000. Hancobinol from *Vincetoxicum officinale*. **Fitoterapia** 71: 584 – 586.
- Ollerton, J. & Liede, S. 1997. Pollination systems in the Asclepiadaceae: a survey and preliminary analysis. **Biological Journal of the Linnean Society** 62: 593 – 610.
- Pak, J.H.; Park, J.K. & Whang, S.S. 2001. Systematic implications of fruit wall anatomy and surface sculpturing of *Microseris* (Asteraceae, Lactuceae) and relatives. **International Journal of Plant Science** 162: 209 – 220.
- Pearson, N.L. 1948. Observations on seed and seed hair growth in *Asclepias syriaca* L. **American Journal of Botany** 35: 27 – 36.
- 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.
- Prance, G. T. & Silva, M. F. 1975. **Árvores de Manaus**. Manaus, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

- Ribeiro, J.E.L.; Hopkins, M.; Vicentini, A.; Sothers, C.A.; Costa, M.A. da S.; Brito, J.M.; Souza, M.A.D. de; Martins, L.H.P.; Lohmann, L.G.; Assunção, P.A.C.L.; Pereira, E. da C.; Silva, C.F. da; Mesquita, M.R. & Procópio, L.C. 1999. **Flora da reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia central**. Manaus, INPA/DFID.
- Rio, M.C.S. do. 2001. **Estudos taxonômicos e anatômicos do gênero *Prestonia* R. Br. nom. cons. (Apocynaceae)**. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Rio, M.C.S. do. 2006. **Estudos anatômicos em espécies de *Forsteronia* G.Mey. (Apocynaceae) de cerrado**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Rio, M.C.S. do & Kinoshita, L.S. 2005. *Prestonia* (Apocynaceae) do Sul e Sudeste do Brasil. **Hoehnea** 32(2): 233 – 258.
- Rio, M.C.S. do; Castro, M. de M. & Kinoshita, L.S. 2002. Coléteres foliares em *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 25: 339 – 349.
- Rizzini, C.T. & Mors, W.B. 1976. **Botânica Econômica Brasileira**. São Paulo, EPU USP.
- Sakane, M. & Shepherd, G.J. 1986. Uma revisão do gênero *Allamanda* L. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 9: 125 – 149.
- Sanso, A.M. & Xifreda, C.C. 2001. Generic delimitation between *Alstroemeria* and *Bomarea* (Alstroemeridaceae). **Annals of Botany** 88: 1057 – 1069.
- Schultz, A.R.H. 1990. **Introdução à Botânica Sistemática**. vol. 2. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- 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.
- Shepherd, K.A.; Macfarlane, T.D. & Colmer, T.D. 2005. Morphology, anatomy and histochemistry of Salicornioideae (Chenopodiaceae) fruits and seeds. **Annals of Botany** 95: 917 – 933.
- Simões, A.O. 2004. **Estudos filogenéticos e anatômicos da tribo *Mesechiteae* Miers (Apocynaceae, Apocynoideae)**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- 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.; Castro, M. de M. & Kinoshita, L.S. 2006. Calicine colletes of seven species of Apocynaceae (Apocynoideae) from Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society** 152: 387 – 398.
- Simões, A.O.; Rio, M.C.S. do; Castro, M. de M. & Kinoshita, L.S. 2007. Gynostegium morphology of Mesechitae Miers (Apocynaceae, Apocynoideae) as it pertains to the classification of the tribe. **International Journal of Plant Sciences** 94: 268 – 297.
- Simpson, M.G. 1993. Septal nectary anatomy and phylogeny of the Haemodoraceae. **Systematic Botany** 18: 593 – 613.
- Simpson, M.G. 2007. **Plant systematics**. London, Elsevier Academic Press.

- Souza, L.A.; Iawazaki, 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. & Moscheta, I.S. 1992. Morfo-anatomia do fruto e da plântula de *Aspidosperma polyneuron* M. Arg. (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Biologia** **52**(3): 439–447.
- 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.
- 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**(1): 9–20.
- Tournefort, P. 1694. *Éléments de Botanique ou méthode pour connoitre Les Plantes*. **Tome Première – Les Campaniformes**: 161–170.
- Von Teichman, I. & Van Wyk, A.E. 1991. Trends in the evolution of dicotyledonous seeds based on character associations, with special reference to pachycalazy and recalcitrance. **Botanical Journal of the Linnean Society** **105**: 211–237.
- Weckerle, C.S. & Rutishauser, R. 2005. Gynoecium, fruit and seed structure of Paullinieae (Sapindaceae). **Botanical journal of the Linnean Society** **147**: 159–189.
- Woodson Jr., R.E. 1936. Studies in the Apocynaceae IV – the American genera of Echitoideae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **23**: 341–611.