

KARINA LUCAS BARBOSA LOPES MATTOS

ANATOMIA FOLIAR APLICADA À TAXONOMIA EM RUBIACEAE JUSS.

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2011**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M444a
2011

Mattos, Karina Lucas Barbosa Lopes, 1980-
Anatomia foliar aplicada à taxonomia em Rubiaceae Juss. /
Karina Lucas Barbosa Lopes Mattos. – Viçosa, MG, 2011.
x, 90f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Renata Maria Strozi Alves Meira.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 85-89

1. Análise foliar. 2. Botânica - Classificação.
3. Rubioideae - Anatomia. 4. Cinchonoideae - Anatomia.
5. Mata do Paraíso (MG). I. Universidade Federal de Viçosa.
II. Título.

CDD 22. ed. 583.93

KARINA LUCAS BARBOSA LOPES MATTOS

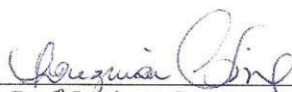
ANATOMIA FOLIAR APLICADA À TAXONOMIA EM RUBIACEAE JUSS.

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 27 de maio de 2011.



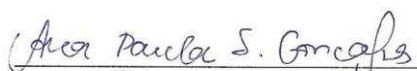
Prof.^a Aristéa Alves Azevedo
(Coorientadora)



Prof.^a Luzimar Campos da Silva



Prof. Élder A. Sousa e Paiva



Prof.^a Ana Paula S. Gonçalves



Prof.^a Renata Maria Strozi Alves Meira
(Orientadora)

Aos meus dois amores, Luiz Carlos e Alice.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao programa de Pós-graduação em Botânica pela oportunidade de concretizar um objetivo.

À FAPEMIG, pelo apoio financeiro concedido através da bolsa de estudo.

À Reserva Florestal Mata do Paraíso, pela licença das coletas.

À minha orientadora querida Renata Maria Strozi Alves Meira, que durante esses 6 anos de convivência sempre foi um exemplo de profissional e pesquisadora. Muito obrigada por todos os ensinamentos, cobranças e entusiasmos. Que seu sorriso, sua honestidade e sua paixão pela pesquisa continue estimulando milhares de estudantes da graduação e pós-graduação.

À professora Aristéa Alves Azevedo, pelas valiosas sugestões na correção da tese. E como em várias teses que tenho visto, vou confirmar escrevendo que suas aulas de anatomia vegetal são contagiantes e brilhantes.

À professora Luzimar Campos da Silva, exemplo de professora e pesquisadora. Nossas conversas sempre me estimularam a continuar seguindo.

À professora Zefa Valdivina Pereira, pelas sugestões na correção da tese e principalmente pela identificação do material botânico.

Aos professores Edgard e Marília, pela agradável convivência no laboratório. Muito obrigada pelas inúmeras sugestões em diversos assuntos.

Aos membros da banca examinadora, Luzimar Campos da Silva, Élder A. de Sousa Paiva, Ana Paula Santos Gonçalves, Aristéa Alves Azevedo e Renata Maria Strozi Alves Meira, pelas valiosas sugestões.

Ao Gilmar Valente, por todo apoio nas coletas e por ser fundamental na localização e identificação de várias espécies em campo.

Ao Reinaldo Pinto, pelas ilustrações.

Ao Ângelo, secretário da pós-graduação em Botânica, sempre cordial e disposto a resolver nossos problemas burocráticos.

A Sara Otuki, Daniela e Elaine, pela enorme e fundamental ajuda no laboratório. Muito abrigada pelas inúmeras manhãs e tardes em que vocês me ajudaram a cortar, corar e montar material.

AGRADECIMENTOS

Ao núcleo de microscopia e microanálise da UFV, pelo suporte dado para a realização da microscopia eletrônica de varredura.

A todos os colegas do laboratório de anatomia vegetal que durante esses 6 anos passaram por aqui: Marcela, Jaqueline, Lourdes, Victor, Clébio, Josiane, Pedro Paulo, Advanio, Vinícius, Lucimara, Marina, Dayana, Alice, Cléber, Guilherme, Letícia, Cristina, Vanessa, Bruno, Kellen, Sara, Sarah, Tica, Tiago, Diego, Diogo, Welington, Rafaela, Deborah, Laísa, Juliana, Lucas, Ítalo, Narah, Patrícia, Naiara.

À Josiane Silva Araújo, pela ajuda na montagem da chave dicotômica, à Dya Dalvi, pela ajuda nos programas analíticos e à Nívea, técnica do laboratório, pela presteza e amizade.

Aos meus amigos nordestinos: Josiane, Clébio e Victor.

As minhas amigas Michella e Jaqueline, por todos os momentos compartilhados.

A todos meus amigos da turma da Biologia de 1999.2.

Aos meus pais queridos, Sandra e José Carlos, meu refúgio e fortaleza. Não há palavras para agradecer tudo o que vocês fizeram por mim até hoje. Amo vocês!!!!

Aos meus irmãos e cunhados, por todo incentivo e apoio.

À minha sobrinha querida Larinha.

Ao meu tio Steves, companheiro de profissão, por todo entusiasmo e incentivo.

Aos meus sogros, por toda ajuda e pelas várias tardes em que ficaram com a Alice para que eu pudesse escrever minha tese.

Ao meu esposo e companheiro Luiz Carlos, por todos os momentos felizes, pela compreensão, pelo incentivo e pela ajuda na tese. Sem você eu não chegaria até o fim.

A minha maior titulação obtida para a vida toda: mãe da Alice.

Enfim, agradeço a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Karina Lucas Barbosa Lopes Mattos, filha de José Carlos Lopes da Silva e Sandra Lucas Barbosa Lopes, nasceu em Fortaleza, Ceará, em 03 de Julho de 1980.

Ingressou no curso de Ciências Biológicas em julho de 1999, na Universidade Federal do Ceará (UFC), graduando-se em julho de 2004.

Em 2005 iniciou o Mestrado em Botânica, pelo Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais, trabalhando com anatomia vegetal. Em 2007 obteve o título de Magister Scientiae.

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
3. ORGANIZAÇÃO DA TESE.....	6
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	7
CAPÍTULO I: ANATOMIA FOLIAR DE ESPÉCIES DE RUBIACEAE JUSS. OCORRENTE EM FLORESTA ATLÂNTICA COMO FERRAMENTA ADICIONAL À TAXONOMIA.....	12
Resumo.....	13
Abstract.....	14
Introdução.....	15
Material e Métodos.....	18
Resultados.....	21
Tabelas.....	31
Figuras.....	39
Discussão.....	51
Referências Bibliográficas.....	58
CAPÍTULO II: COLÉTERES ESTIPULARES EM ESPÉCIES DE RUBIACEAE: MORFOANATOMIA E HISTOQUÍMICA.....	63
Resumo.....	64
Abstract.....	65
Introdução.....	66
Material e Métodos.....	68
Resultados.....	71
Figuras.....	74
Discussão.....	80
Referências Bibliográficas.....	85
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	90

RESUMO

MATTOS, Karina Lucas Barbosa Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2011. **Anatomia foliar aplicada à taxonomia em Rubiaceae Juss.** Orientadora: Renata Maria Strozi Alves Meira. Coorientadores: Aristéa Alves Azevedo e Zefa Valdivina Pereira.

As Rubiaceae incluem cerca de 660 gêneros e 11.150 espécies, incluídas nas subfamílias Cinchonoideae e Rubioideae. No Brasil, é representada por 18 tribos, 101 gêneros e aproximadamente 1000 espécies, distribuídas por diversas formações vegetacionais, com expressiva ocorrência na Mata Atlântica. Dada a riqueza de espécies de Rubiaceae listada na Reserva Florestal Mata do Paraíso (RFMP), aos problemas taxonômicos relacionados a delimitação de gêneros, tribos e subfamília e a importância da anatomia como ferramenta para a taxonomia, o presente trabalho tem por objetivos gerais identificar caracteres anatômicos foliares que possam auxiliar na taxonomia e no reconhecimento das relações filogenéticas de Rubiaceae, incluindo a caracterização anatômica e micromorfológica dos coléteres foliares de alguns representantes. Foram analisadas folhas, incluindo a região mediana da lâmina foliar (nervura mediana e margem) totalmente expandida e do pecíolo (região mediana), de 30 espécies de Rubiaceae, distribuídas em 7 tribos e 12 gêneros, coletadas na RFMP. Procedeu-se também à caracterização morfoanatômica e histoquímica dos coléteres de 10 espécies incluídas em 4 gêneros de Rubiaceae. As amostras foram submetidas às técnicas usuais de anatomia vegetal e os dados anatômicos obtidos foram submetidos às análises numéricas multivariadas. Os caracteres anatômicos considerados importantes taxonomicamente foram: presença de epiderme bisseriada, papilas, presença de tricomas unicelulares e multicelulares, estômatos paracíticos e paralelocíticos, presença de coléteres, domácias e variações no padrão de areolação da folha e na conformação do sistema vascular do pecíolo. Diversas características apresentaram valor diagnóstico úteis na diferenciação e reconhecimento das espécies na RFMP. As análises fenéticas confirmam a formação de pequenos grupos no nível de tribo (Spermacoceae, Cinchoneae, Cossareae, Coccocypseleae, Psychotrieae) e de gênero (Borreria, Diodella, Coccocypselum). A análise de componentes principais reuniu as espécies em 3 supertribos: Psychotriidinae, Rubiidinae e Cinchonidinae. Os coléteres se encontram distribuídos na superfície adaxial das estípulas, ocorrendo também nos primórdios foliares de *Palicourea marcgravii* e no ápice da estípula de *Chiococca alba*. Foram observados 3 tipos de coléteres: padrão, padrão bifurcado e padrão curto. A estrutura geral dos coléteres consiste de um eixo central parenquimático multicelular

e uma epiderme secretora em paliçada, sendo estas alongadas ou cubóides em toda extensão do coléter. As células epidérmicas possuem cutícula e paredes delgadas, núcleos conspícuos, deslocados para a região equatorial ou basal e citoplasma abundante. Espaços intercelulares ocorrem com frequência entre as células epidérmicas de *C. alba*, *Coussarea triflora*, *C. verticillata* e *Psychotria sessilis*. Idioblastos cristalíferos contendo ráfides ocorrem no eixo central parenquimático dos coléteres de todas as espécies de Rubioideae. Areia cristalina ocorre apenas em *C. alba* (Cinchonoideae). Traços vasculares foram observados no eixo central parenquimático de *P. longepedunculata* e de *P. marcgravii*. Nas amostras analisadas, a reação positiva aos testes histoquímicos demonstrou que a secreção é de natureza mucilagínosa e protéica. A posição, a variação tipológica, a presença de vascularização, a presença e o tipo de cristal de oxalato de cálcio são características importantes para os estudos de taxonomia e filogenia em Rubiaceae. Os estudos anatômicos realizados nas espécies de Rubiaceae reforçam a importância dos caracteres anatômicos como ferramenta adicional para subsidiar estudos taxonômicos e filogenéticos na família, bem como ampliam os conhecimentos anatômicos em nível genérico e específico.

ABSTRACT

MATTOS, Karina Lucas Barbosa Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, may, 2011. **Leaf anatomy applied to the taxonomy of Rubiaceae Juss.** Adviser: Renata Maria Strozi Alves Meira. Co-advisers: Aristéa Alves Azevedo and Zefa Valdivina Pereira.

Rubiaceae comprise about 660 genera and 11,150 species, within the subfamilies Cinchonoideae and Rubioideae. In Brazil, it is represented by 18 tribes, 101 genera and approximately 1000 species, distributed among different vegetation formations, with a large occurrence in the Atlantic Forest. Because of the high species richness of Rubiaceae in Mata do Paraíso Forest Reserve (RFMP), the problems related to taxonomic delimitation of genera, tribes and subfamilies and the importance of anatomy as a tool for taxonomy, this study aimed to identify anatomical leaf characters to aid in taxonomy and phylogeny of Rubiaceae. Anatomical and micromorphological characteristics of leaf collectors were also recorded from a number of representatives. Leaves were examined, including the middle region of fully expanded leaf blades (midrib and margin) and petiole (middle third) of 30 Rubiaceae species, distributed in 7 tribes and 12 genera collected in the RFMP. Studies on morphology, anatomy and histochemistry of collectors were also carried out in 10 species belonging to four genera of Rubiaceae. The samples were processed by usual plant anatomy techniques and anatomical data was analyzed by multivariate numerical techniques. Taxonomically important anatomical characters considered were: presence of biseriate epidermis, papillae, presence of unicellular and multicellular trichomes, paracytic and parallelocytic stomata, presence of collectors, domatia and variations in the pattern of leaf areolation and conformation of the petiole vascular system. Several useful characteristics had diagnostic value in the differentiation and recognition of the species in RFMP. Phenetic analysis confirmed the formation of small groups at the tribe level (Spermacoceae, Cinchoneae, Cossareae, Coccocypseleae, Psychotrieae) and genus (*Borreria*, *Diodella*, *Coccocypselum*). The principal component analysis grouped the species into three supertribes: Psychotriidinae, Rubiidinae and Cinchonidinae. Collectors occur on the adaxial surface of stipules, on leaf primordia of *Palicourea maracgravii* and also at stipule apices of *Chiococca alba*. Three types of collectors were identified: standard, bifurcated standard and reduced standard. The general structure of collectors consists of a central axis and a parenchymatous multicellular palisade secretory epidermis, which are cuboidal or elongated to the full extent of the collector. The cuticle and epidermal cells have thin walls, conspicuous nuclei displaced to the equatorial or basal region and abundant cytoplasm. Intercellular spaces often occur between

the epidermal cells of *C. alba*, *Coussarea triflora*, *C. verticillata* and *Psychotria sessilis*. Crystals idioblasts containing raphides occur in the parenchyma of the central axis of colleters in all Rubioideae species. Crystalline sand is present only in *C. alba* (Cinchonoideae). Vascular traces were present in the parenchymatous central axis of *P. longepedunculata* and *P. maracgravii*. The positive reaction to histochemical tests showed that the secretion consists of mucilaginous and protein substances in the samples analyzed. The position, the typological variation, vascularity, the presence and type of calcium oxalate crystals are important characteristics for the study of taxonomy and phylogeny of Rubiaceae. The anatomical studies in Rubiaceae species here performed reinforce the importance of anatomical characters as an additional tool to support taxonomic and phylogenetic studies in the family, as well as extend the anatomic knowledge at generic and specific levels.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Rubiaceae é a maior família dentre as Gentianales, com cerca de 660 gêneros e aproximadamente 11.150 espécies, incluídas nas subfamílias Cinchonoideae e Rubioideae (Robbrecht & Manen 2006).

As Rubiaceae são biologicamente e morfologicamente diversas, com diferentes formas de vida e de sistemas reprodutivos (Bremer 1996). As formas de vida incluem ervas perenes ou anuais, lianas, arbustos, subarbustos, árvores de grande, médio ou pequeno porte (Barroso et al. 1991; Bremer 1996), entretanto, predomina o hábito arbóreo, em cerca de 80% dos gêneros (Robbrecht 1988). Ocorrem principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, atingindo também as regiões temperadas e frias da Europa e norte do Canadá (Judd et al. 1999). No Brasil, está representado por 18 tribos, 101 gêneros e aproximadamente 1010 espécies, de ocorrência comum na Mata Atlântica (Barroso et al. 1991; Lombardi & Gonçalves 2000; Martin-Gajardo & Morellato 2003).

A família Rubiaceae é conhecida pela importância econômica (*Coffea*), ornamental (*Gardenia*, *Hamelia*, *Randia*, *Rondeletia*, *Ixora*) (Simões et al. 2001) e pela presença de alcalóides com atividade tóxica para diversos animais (ex. *Palicourea marcgravii* e *P. juruana*) e de importância farmacológica, tais como a emetina, isolada de *Psychotria ipecacuanha*, com a atividade emética e amebicida; quinidina (*Cinchona*), usada como antiarrítmico e quinina (*Cinchona*), utilizada no tratamento da malária (Fronhne & Pfänder 2005).

Rubiaceae é considerada por muitos sistematas como um grupo natural e monofilético, facilmente circunscrita (Verdcourt 1958; Bremekamp 1966; Bremer & Jansen 1991). Entretanto, existem ainda muitos problemas de classificação intrafamiliar, especialmente quanto à delimitação em nível de subfamília (Robbrecht & Manen 2006), de

tribo (Bremekamp 1966; Robbrechet 1988; Bremer & Jansen 1991; Robbrecht & Manen 2006) e de gênero (Bacigalupo & Cabral 1996). Tais problemas de delimitação são dificultados principalmente devido a necessidade de amostras férteis para se ter certeza da identidade taxonômica das plantas coletadas em campo. Como exemplo, *Palicourea* e *Psychotria*, quando em fase vegetativa, são morfologicamente difíceis de serem distinguidos, não existindo consenso quanto às características mais adequadas para separação destes dois gêneros (Taylor 1989, 1996). Em *Palicourea*, as espécies apresentam ramos vegetativos e frutos muito semelhantes, sendo necessário a análise de flores em antese para o reconhecimento seguro da identidade das espécies (Taylor 1997).

Os estudos de morfologia e anatomia foliar aplicados à taxonomia têm demonstrado o valor dos caracteres foliares como ferramenta para a taxonomia, sendo utilizados para elucidar problemas taxonômicos em diversas famílias de plantas (Andrés-Hernández & Terrazas 2006; Araújo et al. 2010; Dianne et al. 2003; Mentink & Bass 1992). Os dados anatômicos também podem ser utilizados para indicar tendências evolutivas e relações filogenéticas entre os táxons (Metcalf & Chalk 1979). Em Rubiaceae, caracteres anatômicos e micromorfológicos da lâmina foliar com significados taxonômicos têm sido estudados em *Coussarea* (Tavares & Vieira 1994), *Psychotria* (Da Cunha & Vieira 1997; Gomes et al. 1995), *Bathysa* (Nascimento et al. 1996), *Rudgea* (Mantovani & Vieira 1997; Leo et al. 1997), *Rondeletia* (Kocsis et al. 2004), *Simira* (Moraes et al. 2009) e Hamelieae (Martínez-Cabrera et al. 2009).

As espécies de Rubiaceae são caracterizadas por folhas simples e opostas com estípulas interpeciolares. As folhas apresentam estômatos do tipo paracítico ou paralelocítico, cristais de oxalato de cálcio, mesofilo geralmente dorsiventral, sendo freqüente a ocorrência de domácias e de estruturas secretoras denominadas coléteres (Solereder 1908; Lersten 1974b; Davis & Rakotonasolo 2003; Kocsis et al. 2004; Martínez-Cabrera et al. 2009).

Coléteres foram descritos originalmente como “glandular shaggy hairs” (Solereder 1908) e são glândulas encontradas na superfície adaxial de órgãos reprodutivos e/ou vegetativos jovens de um grande número de famílias de angiospermas (Thomas 1991). São frequentemente citados para as Gentianales, que inclui as famílias Rubiaceae, Apocynaceae, Gentianaceae e Loganiaceae de acordo com o sistema APG III (2009). Tais estruturas secretam mucilagem (Fahn 1979; Thomas 1991) ou uma mistura de mucilagem e substâncias lipofílicas (Fahn 1979) e, desta forma, estão relacionadas com a proteção de meristemas e órgãos em desenvolvimento, lubrificando e protegendo contra a dessecação e/ou contra o ataque de herbívoros e patógenos (Fahn 1979; Thomas 1991).

Na família Rubiaceae, os coléteres estão presentes na superfície ou na margem das estípulas (Lersten 1974a; Thomas 1991), no cálice (Robbrecht 1987; Dave et al. 1988), brácteas, bractéolas e corola (Thomas & Dave 1989). Tais estruturas têm relevante importância taxonômica e filogenética para as Gentianales, em função das variações na sua morfologia, distribuição e número (Lersten 1974 a, b; Scatolin Rio et al. 2002; Schwarz & Furlan 2002; Simões et al. 2006).

Como os coléteres são encontrados em partes vegetativas, estes podem ser confundidos com nectários extraflorais, pois exibem semelhanças quanto à estrutura e distribuição. Entretanto, os coléteres secretam mucilagem que são polissacarídeos complexos enquanto os nectários secretam néctar que corresponde a uma solução de glicose, frutose e sacarose (Fahn 1979). Assim, os principais componentes do material secretado devem ser identificados, por meio de análises químicas e/ou histoquímicas, para se caracterizar com segurança o tipo de estrutura secretora.

A Reserva Florestal Mata do Paraíso é uma área de preservação ambiental administrada pelo departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa, no município de Viçosa, Zona da Mata do estado de Minas Gerais. A floresta primária

existente na reserva foi substituída, sucessivamente, pelo cultivo de café e pastagem (Volpato 1994). A partir da década de 50, com o abandono das culturas, iniciou-se o processo de regeneração, encontrando-se hoje em diversos estádios sucessionais de desenvolvimento (Leal-Filho 1992). Nesta unidade de conservação têm sido desenvolvidos diversos trabalhos de pesquisa, dentre eles, os de levantamento florístico (Ferreira et al. 2009) e de biologia reprodutiva (Lelis 2008; Fonseca 2009; Bessa et al. 2010; Duarte-Silva et al. 2010). A riqueza de espécies de Rubiaceae foi registrada em um levantamento florístico, onde foi elaborada uma listagem de espécies ocorrentes na RFMP (Pereira et al. 2006). Tal fato demonstra a importância deste táxon nesta unidade de conservação ambiental.

2. OBJETIVOS

Geral

Identificar caracteres anatômicos foliares que possam auxiliar na taxonomia, incluindo a caracterização anatômica e micromorfológica dos coléteres foliares de alguns representantes da família.

Específicos

1. Caracterizar anatomicamente as folhas de 30 espécies incluídas nos gêneros *Borreria*, *Chiococca*, *Coccocypselum*, *Coussarea*, *Coutarea*, *Diodella*, *Faramea*, *Galium*, *Mitracarpus*, *Palicourea*, *Psychotria*, *Richardia* e *Rudgea* ocorrentes na Reserva Florestal Mata do Paraíso (RFMP), identificando caracteres anatômicos úteis para a taxonomia e subsídios para a filogenia da família.

2. Elaborar uma chave dicotômica de caracteres anatômicos que possa servir para o reconhecimento de exemplares vegetativos de Rubiaceae da RFMP

3. Comparar as espécies estudadas por meio de análises numéricas multivariadas tomando por base a listagem de características anatômicas observadas.

4. Caracterizar morfoanatomicamente e histoquimicamente coléteres de 10 espécies, incluídos em 4 gêneros de Rubiaceae ocorrentes na RFMP.

3. ORGANIZAÇÃO DA TESE

O presente trabalho encontra-se organizado em capítulos, como disposto nas normas de redação de teses da Universidade Federal de Viçosa.

O primeiro capítulo é referente à anatomia foliar de espécies de Rubiaceae como ferramenta adicional à taxonomia. O segundo capítulo é referente aos coléteres estipulares de espécies de Rubiaceae.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrés-Hernández, R.; Terrazas, T. Anatomía foliar y del pecíolo de espécies del gênero *Rhus* s. str. (Anacardiaceae). **Boletín de la Sociedad Botánica de Mexico**, v. 78, p. 95-106, 2006.

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

Araújo, S. A.; Azevedo, A. A.; Silva L. C.; Meira R. M. S.A. Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 16 species of Malpighiaceae found in Cerrado area (Brasil). **Plant Systematics and Evolution**, v. 286, p.117-131, 2010.

Bacigalupo, N. M.; Cabral, E. L. Infrageneric classification of *Borreria* (Rubiaceae-Spermacoceae) on the basis of American species. **Opera Botanica Belgica**, v.7, p. 297-308, 1996.

Bessa, J.; Cruz, K. C.; Vieira, M. F. Location of the stigmatic áreas in *Mutisia speciosa* Aiton ex Hook. a new floral in Asteraceae. **Sexual Plant Reproduction**, v. 23, p. 207-209, 2010.

Barroso, G. M.; Peixoto, A. L.; Costa, C. G.; Ichaso, C. L. F.; Guimarães, F.; Lima, H. C. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 326p.

Bremekamp, C. E. B. Remarks on the position, the delimitation and the subdivision of the Rubiaceae. **Acta Botanica Neerlandica**, v.15, p. 1-33, 1966.

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

Bremer, B. Combined and separate analyses of morphological and molecular data in the plant family Rubiaceae. **Cladistics**, v.12, p. 21-40, 1996.

Da Cunha, M.; Vieira, R. C. Anatomia foliar *Psychotria vellosiana* Benth. (Rubiaceae). **Rodriguésia**, v. 45-49, p. 39-50, 1997.

Dave, Y.; Kuriachen, P. M.; Thomas, V. Development, structure and senescence of colleters in *Gardenia lucida* Roxb. (Rubiaceae). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 57, p. 3-7, 1988.

Davis, A. P.; Rakotonasolo, F. New species of *Coffea* L. (Rubiaceae) from Madagascar. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 142, p. 111-118, 2003.

Dianne, N.; Jacob, C.; Hilger, H. H. Leaf anatomy and foliar trichomes in Heliotropiaceae and their systematic relevance. **Flora**, v. 198, p. 468-485, 2003.

Duarte-Silva, E.; Vieira, M. F.; Bittencourt Jr, N. S.; Garcia, F. C. P. Polimorfismo floral em *Valeriana scandens* L. (Valerianaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, p. 871-876, 2010.

Fahn, A. **Secretory tissues in plants**. New York: Academic Press, 1979. 302p.

Ferreira, C. S.; Carvalho-Okano, R. M.; Nakajima, J. A família Asteraceae em um fragmento florestal, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 60, p. 903-942, 2009.

Fonseca, R. S. **Biologia reprodutiva de *Tilesia baccata* (L.) Pruski (Heliantheae, Asteraceae): fenologia, polinização e dispersão**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Dissertação de Mestrado, 2009. 120p.

Frohne, D.; Pfänder, H. J. **Poisonous Plants**. London: Timber Press Inc., 2005. 469p.

Gomes, D. M. S.; Mantovani, A.; Vieira, R. C. Anatomia foliar de *Psychotria ternuinnervis* Müll. Arg. e *Psychotria sternocalix* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Arquivos de Biologia e tecnologia**, v.38, p. 15-33, 1995.

Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Steves, P. S. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer Associates, 1999. 464p.

Kocsis, M.; Darók, J.; Borhidi, A. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (Rubiaceae) species. **Plant Systematics and Evolution**, v. 248, p. 205-218, 2004.

Leal-Filho, N. **Caracterização do banco de sementes de três estádios de uma sucessão vegetal na Zona da Mata de Minas Gerais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Dissertação de Mestrado, 1992. 116p.

Lelis, S. M. **Biologia reprodutiva de *Bidens segetum* Mart. Ex Colla (Heliantheae, Asteraceae)**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Dissertação de Mestrado, 2008. 95p.

Leo, R. R. T.; Mantovani, A.; Vieira, R. C. Anatomia foliar de *Rudgea ovalis* Müll. Arg. e *R. tinguana* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Leandra**, v. 12, p. 33-44, 1997.

Lersten, N. R. Colleter morphology in *Pavetta*, *Neorosea* and *Tricalysia* (Rubiaceae) and its relationship to the bacterial leaf nodule symbiosis. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 69, p.125–136, 1974a.

Lersten, N. R. Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, v. 61, p. 973–981, 1974b.

Lombardi, J. A.; Gonçalves, M. Composição florística de dois remanescentes de Mata Atlântica do sudeste de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, p. 255-282, 2000.

Mantovani, A.; Vieira, R. C. Leaf surface of two understorey shrubs *Rudgea decipiens* Arg. and *Rudgea macrophylla* Benth. (Rubiaceae). **Rodriguésia**, v. 45-49, p. 7-13, 1997.

Martin-Gajardo, I. S.; Morellato, L. P. C. Fenologia de Rubiaceae do sub-bosque em floresta Atlântica no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 299-309, 2003.

Martínez-Cabrera, D.; Terrazas, T.; Ochotorena, H. Foliar and petiole anatomy of tribe Hamelieae and other Rubiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 96, p. 133-145, 2009.

Mentink, H.; Baas, P. Leaf anatomy of the Melastomataceae, Memecylaceae, and Cryptoniaceae. **Blumea**, v. 37, p. 189-225, 1992.

Metcalf C.R, Chalk, L. **Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of leaf and stem with a brief history of the subject**. v.1. Oxford: Clarendon Press, 1979. 276p.

Moraes, T, M. S.; Barros, C. F.; Silva Neto, S. J.; Gomes, V.; Da Cunha, M. Leaf blade anatomy and ultrastructure of six *Simira* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rain Forest, Brazil. **Biocell**, v. 33, p. 155-165, 2009.

Nascimento, M.V. O.; Gomes, D. M. S.; Vieira, R. C. Anatomia foliar de *Bathysa stipulata* (Vell.) Presl. (Rubiaceae). **Revista Unimar**, v. 18, p. 347-401, 1996.

Pereira, Z.V.; Carvalho-Okano, R. M.; Garcia, F. C. P. Rubiaceae Juss. da Reserva Florestal Mata do Paraíso, Viçosa, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 207-224, 2006.

Robbrecht, E. The African genus *Tricalysia* A. Rich. (Rubiaceae). 4. A revision of the species of section *Tricalysia* and section *Rosea*. **Bulletin van Nationale Plantentuin van Belgie**, v. 57, p. 39-208, 1987.

Robbrecht, E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Belgica**, v. 1, p.1-171, 1988.

Robbrecht, E.; Manen, J.-F. The major evolutionary lineages of the coffee family (Rubiaceae, angiosperms). Combined analysis (nDNA and cpDNA) to infer the position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and supertree construction based on *rbcl*, *rps16*, *trnL-trnF* and *atpB-rbcl* data. A new classification in two subfamilies, *Cinchonoideae* and *Rubioideae*. **Systematics and Geography of Plants**, v. 76, p. 85-146, 2006.

Scatolin Rio, M. C.; Castro, M. M.; Kinoshita, L. S. Distribuição e caracterização anatômica dos coléteres foliares de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, p. 339-349, 2002.

Schwarz, E. A.; Furlan, A. Coléteres foliares de *Oxypetalum* R. Br. (Asclepiadoideae, Apocynaceae)-Aspectos ultraestruturais e anatômicos úteis à taxonomia das espécies do Paraná (Brasil). **Acta Biológica Paranaense**, v. 31, p. 79-97, 2002.

Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovik, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Santa Catarina: Editora da UFSC, 2001. 833p.

Simões, A. O.; Castro, M. M.; Kinoshita, L. S. Calycine colleters of seven species of Apocynaceae (Apocynoideae) from Brasil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 152, p. 387-398, 2006.

Solereder H. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 1908. 643p.

Tavares, E. S.; Vieira, R. C. Anatomia foliar de *Coussarea meridionalis* (Vell). Muel. Arg. e *Coussarea graciliflora* Benth. & Hook (Rubiaceae). **Bradea**, v. 39, p. 320-330, 1994.

Taylor, C. M. Revision of *Palicourea* (Rubiaceae) in Mexico and Central America. **Systematic Botany Monographs**, v. 26, p.1-102, 1989.

Taylor, C. M. Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. **Opera Botanica Belgica**, v. 7, p. 261-270, 1996.

Taylor, C. M. Conspectus of the genus *Palicourea* (Rubiaceae: Psychotriace) with the description of some new species from Ecuador and Colombia. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 24, p.224-262, 1997.

Thomas, V.; Dave, Y. The colleters of *Alstonia scholaris* L. (Apocynaceae). **Indian Botanical Contactor**, v. 6, p.25-29, 1989.

Thomas, V. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. **Annals of Botany**, v. 68, p. 287-305, 1991.

Verdcourt, B. Remarks on the classification of the Rubiaceae. **Bulletin du Jardin Botanique de L'Etat à Bruxelles**, v. 28, p. 209-281, 1958.

Volpato, M. M. L. **Regeneração natural em uma floresta secundária no domínio de Mata Atlântica: Uma análise fitossociológica**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Dissertação de Mestrado, 1994. 123p.

CAPÍTULO I

ANATOMIA FOLIAR DE ESPÉCIES DE RUBIACEAE JUSS. OCORRENTES EM FLORESTA ATLÂNTICA COMO FERRAMENTA ADICIONAL À TAXONOMIA

RESUMO

MATTOS, Karina Lucas Barbosa Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2011. **Anatomia foliar de espécies de Rubiaceae Juss. ocorrente em Floresta Atlântica como ferramenta adicional à taxonomia.** Orientadora: Renata Maria Strozi Alves Meira. Coorientadores: Aristéa Alves Azevedo e Zefa Valdivina Pereira.

As Rubiaceae estão representadas por cerca de 660 gêneros e aproximadamente 11.150 espécies, incluídas nas subfamílias Cinchonoideae e Rubioideae. O presente trabalho teve como objetivos caracterizar a anatomia foliar de 30 espécies de Rubiaceae, distribuídas em 7 tribos e 13 gêneros, coletadas na Reserva Florestal Mata do Paraíso – MG (RFMP); indicar caracteres anatômicos de utilidade para a taxonomia do grupo e elaborar uma chave para identificação dos táxons utilizando caracteres anatômicos. Para a caracterização estrutural, as amostras coletadas em campo e provenientes de material herborizado foram processadas conforme metodologia usual em anatomia vegetal. Métodos estatísticos multivariados, como análises de componentes principais (PCA) e de agrupamento (UPGMA), foram conduzidos com base nos caracteres anatômicos aplicados. Os caracteres anatômicos considerados importantes taxonomicamente foram: presença de epiderme bisseriada, papilas, presença de tricomas unicelulares e multicelulares, estômatos paracíticos e paralelocíticos, presença de coléteres, domácias e variações no padrão de areolação da folha e na conformação do sistema vascular do pecíolo. Diversas características apresentaram valor diagnóstico úteis na diferenciação e reconhecimento das espécies na RFMP. As análises fenéticas confirmam a formação de pequenos grupos no nível de tribo (Spermacoceae, Cinchoneae, Cossareae, Coccocypseleae, Psychotrieae) e de gênero (Borreria, Diodella, Coccocypselum). A análise de componentes principais reuniu as espécies em 3 supertribos: Psychotriidinae, Rubiidinae e Cinchonidinae. Estes resultados reforçam a importância dos caracteres anatômicos como ferramenta útil para subsidiar estudos taxonômicos e filogenéticos em Rubiaceae, bem como ampliam os conhecimentos anatômicos em nível genérico e específico.

ABSTRACT

MATTOS, Karina Lucas Barbosa Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, may, 2011. **Leaf anatomy as an additional tool to the taxonomy of Rubiaceae Juss. species occurring in the Atlantic Forest.** Adviser: Renata Maria Strozi Alves Meira. Co-advisers: Aristéa Alves Azevedo and Zefa Valdivina Pereira.

The Rubiaceae family is represented by about 660 genera and approximately 11,150 species, including the subfamilies Cinchonoideae and Rubioideae. This study aimed to characterize the leaf anatomy of 30 species of Rubiaceae, distributed in 7 tribes and 13 genera collected in the Reserva Florestal Mata do Paraíso - MG (RFMP); indicate anatomical characters useful for taxonomy of the group and provide a key for the identification of taxa using anatomical characters. For the structural characterization, samples collected in the field and from herbarium specimens were processed by usual plant anatomy techniques. Multivariate statistical methods such as principal component analysis (PCA) and cluster analysis (UPGMA) were performed based on the anatomical characters measured. Taxonomically important anatomical characters considered were: presence of biseriate epidermis, papillae, presence of unicellular and multicellular trichomes, paracytic and parallelocytic stomata, presence of colleters, domatia and variations in the pattern of leaf areolation and conformation of the petiole vascular system. Several useful characteristics had diagnostic value in the differentiation and recognition of the species in RFMP. Phenetic analysis confirmed the formation of small groups at the tribe level (Spermacoceae, Cinchoneae, Cossareae, Coccocypseleae, Psychotrieae) and genus (Borreria, Diodella, Coccocypselum). The principal component analysis grouped the species into three supertribes: Psychotriidinae, Rubiidinae and Cinchonidinae. These results emphasize the importance of anatomical characters as a useful tool to provide support to taxonomic and phylogenetic studies in Rubiaceae, as well as deepen the anatomical knowledge at the generic and specific level.

1. INTRODUÇÃO

Rubiaceae é a maior família dentre as Gentianales, com cerca de 660 gêneros e aproximadamente 11.150 espécies (Robbrecht & Manen 2006). Embora Rubiaceae seja considerada como um grupo natural e monofilético, facilmente circunscrita (Verdcourt 1958; Bremekamp 1966; Bremer & Jansen 1991), ainda existem muitos problemas de delimitação em nível de subfamília, de tribo e de gênero (Bremekamp 1966; Robbrecht 1988; Bremer & Jansen 1991; Bacigalupo & Cabral 1996; Robbrecht & Manen 2006). Tais problemas de delimitação são dificultados principalmente devido à necessidade de amostras férteis para se ter certeza da identidade taxonômica das plantas coletas em campo. Muitos gêneros de Rubiaceae, tais como *Palicourea* e *Psychotria*, são morfologicamente difíceis de serem distinguidos, não existindo consenso quanto às características mais adequadas para separação destes gêneros (Taylor 1989, 1996). As espécies de *Palicourea* apresentam ramos vegetativos e frutos muito semelhantes, sendo necessária a análise de flores em antese para o reconhecimento seguro da identidade destas (Taylor 1997).

A partir do sistema de classificação de Robbrecht (1988) que propôs quatro subfamílias (Antirheoideae, Cinchonoideae, Ixoroideae e Rubioideae) para Rubiaceae, vários sistemas de classificações baseados em dados morfológicos e/ou moleculares tem abordado a classificação dos níveis hierárquicos inferiores de Rubiaceae, como subfamília (Bremer 1996, Robbrecht & Manen 2006), tribo (Rova et al. 2002) e gênero (Nepokroeff et. al. 1999). De acordo com estudos recentes de filogenia, baseados em dados moleculares, morfológicos e caracteres anatômicos, foram reconhecidas apenas duas subfamílias: Cinchonoideae e Rubioideae (Robbrecht & Manen 2006), e quatro supertribos (Ixoridinae, Cinchonidinae, Psychotriidinae e Rubiidinae).

Os estudos de morfologia e anatomia foliar aplicados à taxonomia têm demonstrado o valor dos caracteres foliares como ferramenta para a taxonomia, sendo utilizados para elucidar problemas taxonômicos em diversas famílias de plantas (Mentink & Bass 1992; Dianne et al. 2003; Andrés-Hernández & Terrazas 2006; Araújo et al. 2010). Os dados anatômicos também podem ser utilizados para indicar tendências evolutivas e relações filogenéticas entre os táxons (Metcalf & Chalk 1979). Em Rubiaceae, caracteres anatômicos e micromorfológicos da lâmina foliar com significados taxonômicos têm sido estudados em *Coussarea* (Tavares & Vieira 1994), *Psychotria* (Da Cunha & Vieira 1997; Gomes et al. 1995, Moraes et al. 2011), *Bathysa* (Nascimento et al. 1996), *Rudgea* (Mantovani & Vieira 1997; Leo et al. 1997), *Rondeletia* (Kocsis et al. 2004), *Simira* (Moraes et al. 2009) e em representantes da tribo Hamelieae (Martínez-Cabrera et al. 2009).

As Rubiaceae são biologicamente e morfologicamente diversas, com diferentes formas de vida e de sistemas reprodutivos (Bremer 1996). No Brasil, está representada por 18 tribos, 101 gêneros e aproximadamente 1010 espécies, sendo comum sua ocorrência na Mata Atlântica (Barroso et al. 1991; Lombardi & Gonçalves 2000; Martin-Gajardo & Morellato 2003; Pereira et al. 2006). Na Reserva Florestal Mata do paraíso, uma unidade de conservação que faz parte dos domínios da floresta Atlântica, administrada pela Universidade Federal de Viçosa-MG, foram amostrados 13 gêneros compreendendo 30 espécies de Rubiaceae (Pereira et al. 2006). Tal fato reforça a importância deste táxon nesta unidade de conservação ambiental.

O presente estudo tem como objetivos: (1) caracterizar anatomicamente as folhas de 30 espécies incluídas nos gêneros *Borreria*, *Chiococca*, *Coccocypselum*, *Coussarea*, *Coutarea*, *Diodella*, *Faramea*, *Galium*, *Mitracarpus*, *Palicourea*, *Psychotria*, *Richardia* e *Rudgea* ocorrentes na Reserva Florestal Mata do Paraíso (RFMP), identificando caracteres anatômicos úteis para a taxonomia e subsídios para a filogenia da família. (2) elaborar uma

chave dicotômica de caracteres anatômicos que possa servir para o reconhecimento de exemplares vegetativos de Rubiaceae da RFMP e (3) comparar as espécies estudadas por meio de análises numéricas multivariadas tomando por base a listagem de características anatômicas observadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo e amostras coletadas

A Reserva Florestal Mata do Paraíso (RFMP) abrange uma área de 194,36ha, tendo como coordenadas 20°45' S, 42°55' W e altitude média de 690m (Leal-Filho 1992). A vegetação natural da Reserva faz parte dos domínios da floresta Atlântica (Rizzini 1992) e trata-se de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual Submontana (Veloso et al. 1991).

A partir da listagem das espécies amostradas no levantamento florístico de Rubiaceae ocorrentes na RFMP (Pereira et al. 2006), a maioria delas foi selecionada para o estudo, totalizando 30 espécies incluídas em sete tribos e 13 gêneros. Foram realizadas cinco expedições ao campo com o objetivo de recoletar as espécies visando a fixação de amostras para os estudos anatômicos. Para as análises anatômicas, foram amostradas folhas de pelo menos três indivíduos de cada espécie. Das exsicatas depositadas no Herbário VIC da Universidade Federal de Viçosa, foram retiradas amostras de folhas totalmente expandidas das espécies que não foram localizadas para recoleta em campo. A listagem das espécies, as informações sobre o hábito e sobre o local de coleta encontram-se organizados na Tabela 1.

2.2. Processamento das amostras

As folhas provenientes de exsicatas foram submetidas ao processo de reversão de herborização (Smith & Smith 1942) e estocadas em etanol 70%. Das espécies coletadas em campo foram retirados fragmentos de folhas totalmente expandidas e fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético glacial, etanol 50%, 1:1: 18, v/v), por 48 horas e estocadas em etanol 70% (Johansen 1940). Tanto das plantas herborizadas quanto das fixadas foram retiradas amostras da região mediana da lâmina foliar (nervura mediana e margem) e do

pecíolo (região mediana).

As amostras foram desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilato (Historesin, Leica Instruments). Secções transversais foram obtidas em micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc.), com utilização de navalhas de vidro descartáveis. Os cortes (5-7µm de espessura) foram corados com Azul de Toluidina pH 4,0 (O'Brien & McCully 1981) e as lâminas montadas com resina sintética (Permout).

Para descrever os caracteres de superfície (tipo e posição de estômato, tipo de tricoma), de acordo com Metcalfe & Chalk (1979), fragmentos foliares foram dissociados utilizando-se ácido nítrico e ácido crômico (Jensen 1962). Para a análise dos padrões de venação, de acordo com Ellis et al. (2009), as folhas foram diafanizadas utilizando-se solução de hidróxido de sódio 10% e hipoclorito de sódio 20% por 2 a 24 horas, intercaladas por sucessivas lavagens em água destilada (Johansen 1940, modificado). Todos os materiais dissociados e diafanizados foram desidratados em série etílica e corados com safranina (1% solução alcoólica) (Johansen 1940, modificado) ou fucsina (0,1% solução alcoólica) (Johansen 1940, modificado) e as lâminas montadas com resina sintética (Permout).

As observações e a documentação fotográfica do laminário permanente e semipermanente foram realizadas em microscópio de luz (modelo AX70TRF, Olympus Optical) equipado com sistema U-Photo e com câmara digital acoplada (modelo Spot Insightcolour 3.2.0, Diagnostic instruments inc., New York, USA), do laboratório de anatomia Vegetal da UFV.

2.3. Análises fenéticas

As 30 espécies de Rubiaceae foram comparadas entre si, de acordo com as características estruturais foliares analisadas (65 características), mediante uma matriz de presença/ausência (Tabela 2). A matriz foi inicialmente digitada no programa Microsoft Excel

e posteriormente exportada para o programa PC-ORD versão 5.10. Métodos estatísticos multivariados como análises de componentes principais (PCA) e de agrupamento (cluster análises) foram conduzidas para a série de dados. O fenograma foi construído através do algoritmo de agrupamento UPGMA utilizando o índice de Sorensen's, de Jacardi e de distância Euclidiana.

3. RESULTADOS

3.1 Caracterização Anatômica

3.1.1 Lâmina Foliar

Em vista frontal, o contorno da parede anticlinal das células epidérmicas é reto a levemente ondulado em ambas as faces (Fig. 1A-B) na maioria das espécies (Tabela 3), já, contorno sinuoso em ambas as faces, foi verificado apenas em *Borreria verticillata*, *Coutarea hexandra*, *Coussarea triflora* (Figs. 1C-D), *Faramea multiflora*, *Galium hipocarpium* (Figs. 1E-F) e *Mitracarpus frigidus*.

A epiderme é unisseriada em todas as espécies (Figs. 2A, 2C-E), com exceção de *Psychotria conjugens*, *P. hastisepala* e *P. vellosiana* (Fig. 2C), que apresentam epiderme bisseriada não contínua. As células epidérmicas são volumosas na maioria das espécies (Figs 2A-D, 3A-F) e apresentam em secções transversal formato quadrangular (Fig. 2A-C) ou retangular (3D). Foram observadas diferenças na altura das células epidérmicas entre as faces adaxial e abaxial (Tabela 3). As células da superfície adaxial geralmente são duas vezes mais altas que as da abaxial (Figs. 2A-D), excetuando-se *Coccocypselum krauseanum*, *Faramea multiflora*, *P. cephalantha*, *P. conjugens*, *P. hastisepala* (Fig. 5A) e *Richardia brasiliensis* que apresentaram epiderme de ambas as faces da folha com tamanhos semelhantes. Em *Borreria* (Fig. 3A, 3B), *C. lanceolatum*, *Palicourea marcgravii* (Fig. 3C) e *P. tenerior* a epiderme da face adaxial é papilosa.

A cutícula é ornamentada, tanto na face adaxial como na abaxial, em 14 das 30 espécies estudadas (Tabela 3), como em *Palicourea longepedunculata* (Fig. 3D), sendo lisa nas demais espécies (Tabela 1), como registrado para *Chiococca alba* (Fig. 3E) e *Psychotria myriantha* (Fig. 3F).

Tricomas tectores unicelulares (Fig. 4A) e\ou multicelulares (Figs. 4B-E) de tamanhos variados e paredes espessadas ocorrem na lâmina e no pecíolo das espécies estudadas (Tabela 4). Tricomas com a extremidade curvada formando um gancho foi verificado apenas em *Coccocypselum lanceolatum* (Figs. 4B e 4C). De modo geral, os tricomas estão localizados tanto na superfície adaxial quanto abaxial da folha, muitas vezes, em número maior na região da nervura mediana. Visualmente, *Psychotria vellosiana* e *C. lanceolatum* (Fig. 4B) foram as espécies mais pilosas. Folhas glabras ocorrem nas seguintes espécies: *Chiococca alba*, *Coussarea triflora*, *Coussarea verticillata*, *Coccocypselum krauseanum*, *Faramea multiflora*, *Palicourea marcgravii*, *P. longipedunculata*, *P. cephalantha*, *P. hastisepala*, *P. myriantha*, *P. nuda*, *P. subspathulata*, *P. sessilis* e *Rudgea lanceolata*.

Os estômatos, de um modo geral, estão restritos a superfície abaxial folha (Figs. 2D). Estômatos em ambas as faces foi verificado em Rubieae e Spermacoceae (exceto em *Mitracarpus frigidus*) (Fig. 2D), sendo que na face adaxial a quantidade de estômatos é menor quando comparada com a face abaxial. O tipo de estômato mais freqüente entre os gêneros é o paracítico (Fig. 1D e 1F). Estômatos paracíticos e paralelocíticos (Fig. 1B) foram verificados em *Psychotria cephalantha*, *P. nuda*, *P. tenerior*, *P. vellosiana*, sendo o paracítico sempre predominante.

Hipoderme foi verificada apenas em *Coussarea verticillata* (Fig. 5C), cujas células apresentam paredes anticlinais e periclinais espessadas, são aclorofiladas e com dimensões maiores que aquelas das células epidérmicas.

As espécies estudadas apresentam mesofilo dorsiventral (Figs. 5A-E), exceto em *Diodella teres*, que é isobilateral (Fig. 5F). Variações foram observadas quanto a proporção do parênquima paliçádico em relação ao mesofilo (Tabela 4). O parênquima paliçádico é formado por células alongadas (3 a 4 vezes mais alta que larga) (Figs. 5A, 5B e 5F), por células curtas (até duas vezes mais alta que larga) (Figs. 5C e 5D) ou por células curtas e

com formato cônico. (Figs. 5E). Pode ser contínuo (Fig. 6A) ou não (Fig. 6B) na região da nervura mediana. Presença de parênquima paliádico com células coletoras ocorre em *Borreria eryngioides*, *Galium hipocarpium*, *Psychotria conjugens*, *P. hastisepala*, *P. myriantha*, *P. nuda*, *P. subspathulata* e *P. tenerior* (Fig. 5B). No parênquima lacunoso foram observados três tipos de arranjos celulares (Tabela 5): arranjo frouxo com abundantes espaços intercelulares (Fig. 5A), arranjo compacto (Fig. 2E) e arranjo compacto cujas células apresentam formato alongado e se orientam paralelamente a superfície foliar (Figs. 5C e 5D).

Cristais de oxalato do cálcio ocorrem nos tecidos parenquimáticos da lâmina foliar (Figs. 5E, 7A-E) e do pecíolo (Fig. 7F), sendo um caráter comum a todas as espécies analisadas (Tabela 4). As ráfides foram observadas no mesofilo da maioria das espécies (Fig. 7A), sendo que em sete espécies de *Psychotria* e em *Palicourea marcgravii*, além das ráfides, ocorrem estilóides (Fig. 7B). A ocorrência de estilóides atravessando o mesofilo de *P. marcgravii* é uma das características anatômicas que a distingue de *P. longepedunculata*. Drusas e ráfides ocorrem em idioblastos das três espécies de *Borreria* (Figs. 7C e 7D). Areia cristalina ocorre em idioblastos de *Chiococca alba* (Fig. 7E) e *Coutarea hexandra*.

Nas proximidades dos feixes vasculares da nervura mediana foram observadas células esclerificadas em várias espécies (Tabela 5), como em *Psychotria conjugens* (Fig. 6C) e *P. vellosiana* (Fig. 6D). Nas camadas subepidérmicas da nervura mediana ocorre colênquima como um caráter constante em todas as espécies analisadas.

Nervura mediana pronunciada em ambas as faces ocorre em 19 espécies (Tabela 5) enquanto em oito espécies esta se apresentou pronunciada apenas na face abaxial (Tabela 5). A nervura mediana é pouco proeminente apenas em *Galium hipocarpium*, *Richardia brasiliensis* e *R. grandiflora*.

As nervuras laterais são envoltas por bainha parenquimática aclorofilada (Fig. 6E) (Tabela 6), exceto em *Coccocypselum hasslerianum* cujas células da bainha contêm

cloroplastos (Fig. 6F), ou por células esclerificadas, observada apenas em *Rudgea lanceolata* (Fig. 6G). Extensões de bainha foram observadas nas nervuras laterais de maior calibre apenas em *Coutarea hexandra* (Fig. 6H).

A margem foliar apresenta epiderme unisseriada recoberta por cutícula lisa ou ornamentada. Margem foliar com células de parede espessada (Fig. 8A) ocorre na maioria das espécies (Tabela 5). O parênquima paliçádico atinge a margem foliar em *Coutarea hexandra* e *Diodella teres* (Fig. 8B) e idioblastos cristalíferos ocorrem com frequência na margem de *Borreria capitata* e *Palicourea marcgravii*.

Domácias são encontradas na face abaxial da lâmina foliar posicionadas nas axilas da nervura mediana e das nervuras laterais, sendo do tipo “tufo de tricomas” em *Psychotria vellosiana* (Fig. 8C) e do “tipo saco” em *Coussarea triflora*, *Faramea multiflora* e *P. subspatulata* (Fig. 8D) e “em fenda” em *Rudgea lanceolata*.

Coléteres estipulares ocorrem em todas as espécies analisadas (Tabela 6), já, coléteres distribuídos na inserção da estípula e no ápice das estípulas foi verificado em *Chiococca alba* e distribuídos na face adaxial das estípulas e nos primórdios foliares em *Palicourea marcgravii*.

Para todas as 30 espécies analisadas, o padrão de venação é do tipo Camptódromo-Broquidódromo, onde as nervuras de segunda ordem se anastomosam e formam uma série de arcos próximos ao bordo. Aréolas moderadamente desenvolvidas com ramificações dicotômicas ocorrem apenas em *Rudgea lanceolata* (tipo I) (Fig. 9A) e aréolas moderadamente desenvolvidas com traqueídes terminais alargados apenas em *Chiococca alba* (tipo II) (Fig. 9B). Aréolas pobremente desenvolvidas com ramificações dicotômicas (tipo III) (Fig. 9C) e aréolas pobremente desenvolvidas com traqueídes terminais alargados (tipo IV) (Fig. 9D) foram observadas na maioria das espécies estudadas (Tabela 6).

3.1.2 Sistema vascular do pecíolo

Em secção transversal, os pecíolos das espécies estudadas são cilíndricos ou semicilíndricos, exceto nas espécies de *Borreria*, *Diodella* *teres*, *Galium* *hipocarpium*, *Mitracarpus* *frigidus* e nas espécies de *Richargia*, que apresentam folhas subsésseis ou sésseis.

O sistema vascular do pecíolo é colateral e apresenta câmbio vascular na maioria das espécies. A organização do sistema vascular foi a característica que mais variou (Tabela 6), sendo possível reconhecer 6 tipos (Fig. 10): **1:** Arco aberto observado em *Coccocypseleae*, *Psychotria* *tenerior* e *P. vellosiana*. **2.** Arco aberto com 2 a 4 feixes acessórios em *Chiococca* *alba*, *Palicourea* *marcgravii*, *P. sessilis*, *P. subspathulata*, *P. hygrophiloides*, *P. myriantha* e *Rudgea* *lanceolata*. **3:** Arco aberto com extremidades invaginadas, 2 a 4 feixes acessórios em *Cossareae*; *Cinchoneae*, *P. hastisepala*. **4.** Arco em “V” com extremidades invaginadas e 2 feixes acessórios apenas em *P. nuda*. **5.** Arco em “U” com 2 feixes acessórios em *P. longepedunculata* e *P. conjugens*. **6.** Arco fechado apenas em *P. cephalantha*.

3.2 Chave de identificação das espécies de Rubiaceae da Reserva Florestal Mata do Paraíso, MG, baseada em caracteres morfoanatômicos foliares

1. Folhas subsésseis ou sésseis, idioblastos com ráfides e/ou drusas no mesofilo2
- 1'. Folhas pecioladas, idioblastos com areia cristalina, ráfides e /ou estilóides no mesofilo ...22
2. Cristais do tipo areia cristalina exclusivamente3
- 2'. Cristais do tipo ráfide e /ou estilóide4
3. Coléteres distribuídos somente na base das estípulas; parênquima paliçádico estendido até a margem foliar; células epidérmicas da face adaxial até 2 vezes mais volumosas que as da abaxial **Coutarea hexandra**

3'. Coléteres distribuídos na base e no ápice das estípulas; parênquima paliçádico não estendido até a margem foliar, células epidérmicas da face adaxial e abaxial com volumes semelhantes	Chiococca alba
4. Epiderme bisseriada não contínua	5
4'. Epiderme unisseriada	7
5. Presença de domácias tipo “tufo de tricomas”	Psychotria vellosiana
5'. Ausência de domácias tipo “tufo de tricomas”	6
6. Sistema vascular do pecíolo em arco com extremidades invaginadas com 2 a 4 feixes acessórios; parênquima lacunoso com células de arranjo frouxo	Psychotria hastisepala
6'. Sistema vascular do pecíolo em “U” com 2 a 4 feixes acessórios; parênquima lacunoso com células de arranjo compacto e dispostas paralelamente a superfície Psychotria conjugens	
7. Estômatos paracíticos e paralelocíticos	8
7'. Estômatos exclusivamente paracíticos	10
8. Células epidérmicas da face adaxial papilosas; cutícula ornamentada.....	Psychotria tenerior
8'. Células epidérmicas da face adaxial não papilosas; cutícula lisa	9
9. Células epidérmicas da face adaxial e abaxial com volumes semelhantes; células da epiderme com contorno reto a levemente ondulado em ambas as faces em vista frontal.....	Psychotria cephalantha
9'. Células epidérmicas da face adaxial até 2 vezes mais volumosas que as da abaxial; células da epiderme com contorno reto a levemente ondulado na face adaxial e sinuoso na face abaxial.....	Psychotria nuda
10. Sistema vascular do pecíolo em arco aberto com 2 a 4 feixes acessórios.....	11
10' Sistema vascular do pecíolo em arco aberto, sem feixes acessórios ou em “V” ou em “U”	16
11. Aréolas moderadamente desenvolvidas com ramificações dicotômicas, presença de domácias “em fenda”	Rudgea lanceolata
11'. Aréolas pobremente desenvolvidas, ausência de domácias “em fenda”	12
12. Coléteres distribuídos na base das estípulas e nos primórdios foliares; parênquima paliçádico formado por células alongadas (3 a 4 vezes mais alta que larga).....	Palicourea marcgravi
12'. Coléteres distribuídos somente na base das estípulas; parênquima paliçádico formado por células curtas (até duas vezes mais alta que larga).....	13

13. Células da epiderme com contorno reto a levemente ondulado em ambas as faces em vista frontal; parênquima paliçádico contínuo na nervura mediana.....	14
13'. Células da epiderme com contorno reto a levemente ondulado na face adaxial e sinuoso na face abaxial; parênquima paliçádico não contínuo na nervura mediana.....	Psychotria sessilis
14. Parênquima paliçádico alcança 1/3 do mesofilo; cutícula lisa.....	Psychotria myriantha
14'. Parênquima paliçádico alcança 2/3 do mesofilo; cutícula ornamentada.....	15
15. Tricomas tectores ausentes; presença de coléteres tipo padrão bifurcado, células coletoras no paliçádico.....	Psychotria hygrophiloides
15'. Tricomas tectores unicelulares, presença de coléteres tipo padrão não bifurcado, ausência células coletoras no paliçádico.....	Psychotria subspathulata
16. Sistema vascular do pecíolo em arco aberto ou em "V", parênquima lacunoso com células de arranjo compacto e paralelas a superfície; parênquima paliçádico formado por células curtas.....	17
16'. Sistema vascular do pecíolo em "U", parênquima lacunoso com arranjo frouxo; parênquima paliçádico formado por células alongadas (3 a 4 vezes mais alta que larga), coléteres persistentes na superfície da estípula e visíveis a vista desarmada.....	Palicourea longepedunculata
17. Sistema vascular do pecíolo em arco aberto, sem feixes acessórios.....	18
17'. Sistema vascular do pecíolo em "V" com extremidades invaginadas com 2 a 4 feixes acessórios.....	20
18. Nervuras laterais envoltas por bainha parenquimática com cloroplastos	Coccocypselum hasslerianum
18'. Nervuras laterais envoltas por bainha parenquimática sem cloroplastos.....	19
19. Tricomas tectores multicelulares em gancho; parênquima paliçádico formado por células alongadas (3 a 4 vezes mais alta que larga); presença das células epidérmicas da face adaxial papilosas.....	Coccocypselum lanceolatum
19'. Tricomas tectores ausentes; parênquima paliçádico formado apenas por células curtas e com formato piramidal; ausência das células epidérmicas da face adaxial papilosas.....	Coccocypselum krauseanum
20. Presença de hipoderme	Coussarea verticillata
20'. Ausência de hipoderme	21
21. Parênquima paliçádico alcança 1/4 do mesofilo; presença de domácias tipo "sacos"	Faramea multiflora

21'. Parênquima paliçádico alcança 1/3 do mesofilo; ausência de domácias tipo "sacos".....	Coussarea triflora
22. Mesofilo dorsiventral.....	23
22'. Mesofilo isobilateral.....	Diodella teres
23. Folhas hipoestomáticas.....	Mitracarpus frigidus
23'. Folhas anfiestomáticas.....	24
24. Nervura mediana pronunciada apenas na face abaxial, células epidérmicas da face adaxial papilosas.....	25
24'. Nervura mediana pouco proeminente, células epidérmicas da face adaxial não papilosas.....	28
25. Parênquima paliçádico alcança 1/3 do mesofilo.....	26
25'. Parênquima paliçádico alcança 2/3 do mesofilo.....	27
26. Células com contorno sinuoso em ambas as faces da epiderme.....	Borreria verticillata
26'. Células da epiderme com contorno reto a levemente ondulado na face adaxial e sinuoso na face abaxial.....	Borreria latifolia
27. Cutícula ornamentada; paliçádico com células coletoras.....	Borreria eryngioides
27'. Cutícula lisa; parênquima paravenal.....	Borreria capitata
28. Células da epiderme com contorno reto a levemente ondulado em ambas as faces em vista frontal.....	29
28'. Células com contorno sinuoso em ambas as faces da epiderme em vista frontal.....	Galium hypocarpium
29. Células da epiderme da face adaxial até 2 vezes mais volumosas que as da abaxial; cutícula ornamentada.....	Richardia grandiflora
29'. Células epidérmicas da face adaxial e abaxial com volumes semelhantes, cutícula lisa.....	Richardia brasiliensis

3.3 Análise Fenética

A análise fenética entre as espécies resultou em um dendograma (Fig. 11) onde grupos e subgrupos podem ser reconhecidos. O grupo A é formado por espécies da tribo Rubieae e Spermacoceae, o grupo B é formado pela espécie da tribo Cinchoneae e o grupo C por espécies das tribos Chiococceae, Cossareae, Coccocypseleae e Psychotrieae. As características que sustentam a formação desses grandes grupos são: A – folhas sésseis ou subsésseis, tricomas tectores multicelulares, parênquima paliçádico formado por células alongadas, aréolas moderadamente desenvolvidas com traqueídes terminais alargados; B – nervuras laterais de maior porte com extensão de bainha, idioblastos com areia cristalina; C – folhas pecioladas, mesofilo dorsiventral, nervura proeminente em ambas as faces, folhas hipoestomáticas.

No agrupamento A, dois subgrupos principais, D e E podem ser reconhecidos. O subgrupo D é formado por espécies com idioblastos com drusas e ráfides, nervura mediana pronunciada apenas na face abaxial e parênquima paliçádico não contínuo na nervura mediana. O subgrupo E é definido por espécies com idioblastos com ráfides, nervuras laterais envoltas por bainha parenquimática e parênquima paliçádico alcançando $\frac{1}{2}$ do mesofilo. Dois agrupamentos menores são formados a partir de D. O agrupamento F é formado apenas por espécies de *Borreria*, reunidas por células epidérmicas da face adaxial papilosas e folhas anfiestomáticas. O agrupamento G é formado apenas por *Diodella* *teres*, caracterizada pela presença de mesofilo isobilateral.

No agrupamento C, três subgrupos principais, H, K e M podem ser reconhecidos. O subgrupo H compreende 11 espécies reunidas pelas seguintes características: parênquima lacunoso com células alongadas de arranjo compacto e paralelo à superfície, estômatos paracíticos, idioblastos com ráfides, exceto *Chiococca alba*, margem foliar com células de

parede espessada. O subgrupo K compreende oito espécies da tribo Psychotrieae com idioblastos com ráfides e estilóides no mesofilo, parênquima lacunoso com células alongadas de arranjo compacto e paralelas à superfície, nervuras laterais envoltas por bainha parenquimática e o subgrupo M reúne 2 espécies com parênquima lacunoso com células de arranjo frouxo.

Dentro do subgrupo H, podem ser reconhecidos dois subgrupos menores, I e J. O subgrupo I reúne espécies da tribo Cossareae, sustentadas pelas seguintes características: parênquima paliádico formado por células curtas, parênquima paliádico não contínuo na nervura mediana e sistema vascular do pecíolo em arco aberto com extremidades invaginadas com 2 a 4 feixes acessórios. O subgrupo J reúne espécies da tribo Coccocypseleae por apresentarem cutícula lisa, sistema vascular do pecíolo em arco aberto, aréolas pobremente desenvolvidas com ramificações dicotômicas, parênquima paliádico não contínuo na nervura mediana, característica compartilhada com o subgrupo I. Dentro do subgrupo K pode ser reconhecido um subgrupo L que reúne espécies por células epidérmicas da face adaxial até 2 vezes mais volumosas que as da abaxial.

A análise de componentes principais (PCA) resultou em quatro grupos (Fig. 12): um grupo formado por espécies de Rubioideae basais (Cossareae e Coccocypseleae) e por espécies da supertribo Psychotriidinae (Psychotrieae), um grupo formado pela espécie da supertribo Rubiidinae I (Rubieae), um grupo formado por espécies da supertribo Rubiidinae II (Spermacoceae) e outro grupo formado por espécies da supertribo Cinchonidinae II.

Tabela 1. Lista das espécies de Rubiaceae estudadas com os números de registro do herbário VIC da Universidade Federal de Viçosa, o hábito e o local de coleta

Subfamília	Tribo	Espécie	Nº de registro	Hábito	Local de coleta
Cinchonoideae	Cinchoneae	<i>Coutarea hexandra</i> (Jacq.) K. Schum	31.858	Arvore	Trilha do aceiro
	Chiococceae	<i>Chiococca alba</i> (L.) Hitchc	31.856	Arbusto	Trilha principal
Rubioidae	Cossareae	<i>Coussarea triflora</i> Mull.Arg	32.648	Arbusto	Interior da mata
		<i>Coussarea verticillata</i> Mull.Arg	31.946	Arvore	Trilha principal
		<i>Famea multiflora</i> A. Rich	32.635	Arbusto	Interior da mata
		<i>Coccocypselum hasslerianum</i> Chodat	31.857	Erva perene	Trilha principal
	Coccocypseae	<i>Coccocypselum krauseanum</i> Standl	32.649	Erva prostada	Trilha principal
		<i>Coccocypselum lanceolatum</i> (Ruiz & Pav.) Pers	32.637	Erva perene	Interior da mata
	Psychotrieae	<i>Palicourea longepedunculata</i> Gardner	31.859	Arbusto	Trilha principal
		<i>Palicourea marcegravi</i> A. St.-Hill	32.634	Arbusto	Na parte mais úmida do aceiro
		<i>Psychotria cephalantha</i> (Mull.Arg.) Standl	26.962*	Arbusto	Interior da mata
		<i>Psychotria conjugens</i> Mull.Arg	31.863	Arbusto	Interior da mata
		<i>Psychotria hastisepala</i> Mull. Arg	32.644	Arbusto	Interior da mata
		<i>Psychotria hygrophiloides</i> Benth	32.651	Erva perene	Trilha principal
		<i>Psychotria myriantha</i> Mull. Arg	32.645	Arbusto	Interior da mata
		<i>Psychotria nuda</i> (Cham. & Schltdl.) Wawra	31.861	Arbusto	Interior da mata
		<i>Psychotria sessilis</i> Vell	32.643	Arbusto	Trilha principal e interior da mata
		<i>Psychotria subspathulata</i> (Mull.Arg) C.M. Taylor	32.650	Arbusto	Interior da mata
		<i>Psychotria tenerior</i> (Charm.) Mull. Arg	32.633	Arbusto	Interior da mata
		<i>Psychotria vellosiana</i> Benth	32.653	Arbusto	Interior da mata
		<i>Rudgea lanceolata</i> (Schltdl. & Cham.) Benth	26.960*	Arbusto	Interior da mata
	Rubiaceae	<i>Galium hypocarpium</i> (L.) Endl. Ex Griseb	32.642	Erva perene	Trilha do aceiro
		<i>Borreria capitata</i> (Ruiz & Pav.) DC	26.610*	Erva anual	Trilha do aceiro
	Spermacoceae	<i>Borreria eryngioides</i> Cham. Et Schltdl	26.611*	Erva perene	Trilha do aceiro
		<i>Borreria latifolia</i> (Aubl.) K. Schum	26.612*	Erva anual	Trilha do aceiro
		<i>Borreria verticillata</i> (L.) G.Mey	26.615*	Erva perene	Interior da mata e trilha do aceiro
		<i>Diodella teres</i> (Walter) Small	32.636	Erva anual	Trilha do aceiro
		<i>Richardia brasiliensis</i> Gomes	32.632	Erva anual	Trilha do aceiro
		<i>Richardia grandiflora</i> (Cham. & Schltdl.) Steud	32.631	Erva anual	Trilha do aceiro
		<i>Mitracarpus frigidus</i> (Willd ex roelm. & Schltdl.)	26.794*	Erva perene	Trilha do aceiro

*Material herborizado

Tabela 2. Matriz de presença (1) e ausência dos caracteres anatômicos em 30 espécies de Rubiaceae da Reserva Florestal Mata do Paraíso

Características avaliadas	Boc	Boe	Bol	Bov	Cha	Cot	Cov	Cch	Cck	Ccl	Coh	Dit	Fam	Gah	Mif	Pal	Pam	Pce	Pco	Pha	Phy	Pmy	Pnu	Pse	Psu	Pte	Pve	Rib	Rig	Rul	
Epiderme unisseriada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	
Epiderme bisseriada não continua	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
Células da epiderme com contorno reto a levemente ondulado em ambas as faces em vista frontal	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	
Células da epiderme com contorno reto a levemente ondulado na face adaxial e sinuoso na face abaxial	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	
Células com contorno sinuoso em ambas as faces da epiderme em vista frontal	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Paredes anticlinais das células epidérmicas da face adaxial com numerosas dobras	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	
Cutícula lisa	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	
Cutícula ornamentada	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	
Células epidérmicas da face adaxial papilosas	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
Células epidérmicas da face adaxial até 2 vezes mais volumosas que as da abaxial	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	
Células epidérmicas da face adaxial e abaxial com volumes semelhantes	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Folhas hipostomáticas	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	
Folhas anfiestomáticas	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
Estômatos paracíticos	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	
Estômatos paracíticos e paralelocíticos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	
Tricomas tectores unicelulares	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	
Tricomas tectores multicelulares	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
Lâmina foliar glabra	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	
Hipoderme	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Idioblastos com ráfides	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	
Idioblastos com ráfides e estilóides no mesofilo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	
Idioblastos com drusas e ráfides no mesofilo	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Idioblastos com areia cristalina no mesofilo	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Mesofilo dorsiventral	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Mesofilo isobilateral	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Parênquima paliçádico formado por células alongadas (3 a 4 vezes mais alta que larga)	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	

continua

Características avaliadas	Boc	Boe	Bol	Bov	Cha	Cot	Cov	Cch	Cck	Ccl	Coh	Dit	Fam	Gah	Mif	Pal	Pam	Pee	Pco	Pha	Phy	Pmy	Pnu	Psc	Psu	Pre	Pve	Rib	Rig	Rul
Parênquima paliádico formado por células curtas (até duas vezes mais alta que larga)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
Parênquima paliádico formado apenas por células curtas e com formato piramidal	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Parênquima paliádico alcança 1/2 do mesofilo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0
Parênquima paliádico alcança 1/3 do mesofilo	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
Parênquima paliádico alcança 2/3 do mesofilo	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Parênquima paliádico alcança 1/4 do mesofilo	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Parênquima lacunoso com células de arranjo frouxo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Parênquima lacunoso com células de arranjo compacto	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Parênquima lacunoso com células de arranjo compacto e paralelas a superfície	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
Paliádico com células coletoras	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0
Parênquima paravenal	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Margem foliar com parênquima paliádico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Margem foliar com células de parede espessada	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Parênquima paliádico não contínuo na nervura mediana	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0
Células esclerificadas no floema da nervura mediana	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
Nervura mediana pronunciada em ambas as faces	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1
Nervura mediana pronunciada apenas na face abaxial	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nervura mediana pouco proeminente	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Nervuras laterais envoltas por bainha parenquimática	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
Nervuras laterais envoltas por bainha parenquimática com cloroplastos	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nervuras laterais de maior porte com extensão de bainha	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nervuras laterais envoltas por fibras	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Folhas subsésseis ou sésseis	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Sistema vascular do pecíolo em arco aberto	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Sistema vascular do pecíolo em arco aberto com 2 a 4 feixes acessórios	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1
Sistema vascular do pecíolo em arco com extremidades invaginadas 2 a 4 feixes acessórios	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sistema vascular do pecíolo em “V” e extremidades invaginadas com 2 a 4 feixes acessórios	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Características avaliadas	Boc	Boe	Bol	Bov	Cha	Cot	Cov	Cch	Cck	Ccl	Coh	Dit	Fam	Gah	Mif	Pal	Pam	Pce	Pco	Pha	Phy	Pmy	Pnu	Pse	Psu	Pte	Pve	Rib	Rig	Rul
Sistema vascular do peciolo em "U" com 2 a 4 feixes acessórios	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sistema vascular do peciolo em arco fechado	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aréolas pobremente desenvolvidas com ramificações dicotômicas	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
Aréolas moderadamente desenvolvidas com traqueídes terminais alargados	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Coléteres distribuídos apenas na face adaxial das estípulas	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Coléteres distribuídos na face adaxial das estípulas e no ápice das estípulas	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Coléteres distribuídos na face adaxial das estípulas e nos primórdios foliares	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Domácias tipo "tufo de tricomas"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Domácias tipo "sacos"	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Domácias "em fenda"	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Abreviaturas: Abreviaturas: Boc- *Borreria capitata*; Boe- *Borreria eryngioides*; Bol- *Borreria latifolia*; Bov- *Borreria verticillata*; Cha- *Chiococca alba*; Cot- *Coussarea triflora*; Cov- *Coussarea verticillata*; Cch- *Coccocypselum hasslerianum*; Cck- *Coccocypselum krauseanum*; Ccl- *Coccocypselum lanceolatum*; Coh- *Coutarea hexandra*; Dit- *Diodella teres*; Fam- *Fareamea multiflora*; Gah- *Galium hypocarpium*; Mif- *Mitracarpus frigidus*; Pal- *Palicourea longepedunculata*; Pam- *Palicourea marcgravii*; Pce- *Psychotria cephalantha*; Pco- *Psychotria conjugens*; Pha- *Psychotria hastisepala*; Phy- *Psychotria hygrophiloides*; Pmy- *Psychotria myriantha*; Pnu- *Psychotria nuda*; Pse- *Psychotria sessilis*; Psu- *Psychotria subspatulata*; Pte- *Psychotria tenerior*; Pve- *Psychotria vellosiana*; Rib- *Richardia brasiliensis*; Rig- *Richardia grandiflora*; Rul- *Rudgea lanceolata*.

Tabela 3. Características anatômicas da epiderme de espécies de Rubiaceae

Espécies	Camadas da epiderme	Contorno da epiderme adaxial em vista frontal	Contorno da epiderme abaxial em vista frontal	Paredes anticlinais da face adaxial com numerosas dobras	Cutícula	Células epidérmicas da face adaxial papilosas	Células epidérmicas da face adaxial até 2 vezes mais volumosas que as da abaxial	Células epidérmicas da face adaxial com volumes semelhantes
<i>C. hexandra</i>	unisseriada	sinuoso	sinuoso	-	lisa	-	-	+
<i>Ch. alba</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	lisa	-	+	-
<i>Cou. triflora</i>	unisseriada	sinuoso	sinuoso	-	lisa	-	-	+
<i>Cou. verticillata</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	sinuoso	-	ornamentada	-	+	-
<i>F. multiflora</i>	unisseriada	sinuoso	sinuoso	-	lisa	-	-	+
<i>Coc. hasslerianum</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	lisa	-	-	+
<i>Coc. krauseanum</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	lisa	-	-	+
<i>Coc. lanceolatum</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	lisa	-	+	-
<i>P.a. longepedunculata</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	sinuoso	-	ornamentada	-	+	-
<i>P.a. marcgravii</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	lisa	+	+	-
<i>P. cephalantha</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	lisa	-	-	+
<i>P. conjugens</i>	bisseriada não continua	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	ornamentada	-	-	+
<i>P. hastiseipala</i>	bisseriada não continua	reto a levemente ondulado	sinuoso	-	ornamentada	-	-	+
<i>P. hygrophiloides</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	ornamentada	-	+	-
<i>P. myriantha</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	lisa	-	+	-
<i>P. muda</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	sinuoso	+	lisa	-	+	-
<i>P. sessilis</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	sinuoso	-	lisa	-	+	-
<i>P. subspathulata</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	+	ornamentada	-	+	-
<i>P. tenerior</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	sinuoso	-	ornamentada	+	+	-
<i>P. vellosiana</i>	bisseriada não continua	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	+	ornamentada	-	+	-
<i>R. lanceolata</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	lisa	-	+	-
<i>G. hypocarpium</i>	unisseriada	sinuoso	sinuoso	-	lisa	-	+	-
<i>B. capitata</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	sinuoso	-	lisa	+	-	-
<i>B. eryngioides</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	sinuoso	-	ornamentada	+	-	-
<i>B. latifolia</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	sinuoso	-	ornamentada	+	-	-
<i>B. verticillata</i>	unisseriada	sinuoso	sinuoso	-	ornamentada	+	-	-
<i>D. teres</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	ornamentada	-	+	-
<i>M. frigidus</i>	unisseriada	sinuoso	sinuoso	-	ornamentada	-	+	-
<i>Ri. brasiliensis</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	lisa	-	-	+
<i>Ri. grandiflora</i>	unisseriada	reto a levemente ondulado	reto a levemente ondulado	-	ornamentada	-	+	-

Abreviações: + = presente, - = ausente.

Tabela 4. Caracterização anatômica dos tricomas tectores, do mesofilo e distribuição dos estômatos de espécies de Rubiaceae

Espécies	Tipo de tricoma tector	Distribuição dos estômatos	Tipo de estômato	Hipoderme	Tipo de mesofilo	Idioblastos cristalíferos na folha	Parênquima palicádico formado por células alongadas (3 a 4 vezes mais alta que larga)	Parênquima palicádico formado por células curtas (até duas vezes mais alta que larga)	Parênquima palicádico formado apenas por células curtas e com formato piramidal
<i>C. hexandra</i>	multicelular	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	areia cristalina	+	-	-
<i>Ch. alba</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	areia cristalina	+	-	-
<i>Cou. triflora</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	-	+	-
<i>Cou. verticillata</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	+	dorsiventral	ráhdes	-	+	-
<i>F. multiflora</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	-	+	-
<i>Coc. hasslerianum</i>	multicelular	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	-	-	+
<i>Coc. krauseanum</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	-	-	+
<i>Coc. lanceolatum</i>	multicelular	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	+	-	-
<i>Pa. longepedunculata</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	+	-	-
<i>Pa. marcgravii</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes/estilóides	+	-	-
<i>P. cephalantha</i>	ausente	hipoestomática	paracítico/paralelocítico	-	dorsiventral	ráhdes	+	-	-
<i>P. conjugens</i>	multicelular	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes/estilóides	+	-	-
<i>P. hastisepala</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	+	-	-
<i>P. hygrophiloides</i>	unicelular	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes/estilóides	-	+	-
<i>P. myriantha</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	-	-	+
<i>P. nuda</i>	ausente	hipoestomática	paracítico/paralelocítico	-	dorsiventral	ráhdes/estilóides	-	+	-
<i>P. sessilis</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	-	+	-
<i>P. subspathulata</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes/estilóides	-	+	-
<i>P. tenerior</i>	unicelular	hipoestomática	paracítico/paralelocítico	-	dorsiventral	ráhdes/estilóides	+	-	-
<i>P. vellosiana</i>	multicelular	hipoestomática	paracítico/paralelocítico	-	dorsiventral	ráhdes/estilóides	+	-	-
<i>R. lanceolata</i>	ausente	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	+	-	-
<i>G. hypocarpium</i>	multicelular	anfiestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	+	-	-
<i>B. capitata</i>	multicelular	anfiestomática	paracítico	-	dorsiventral	drusas/ráhdes	+	-	-
<i>B. eryngioides</i>	multicelular	anfiestomática	paracítico	-	dorsiventral	drusas/ráhdes	+	-	-
<i>B. latifolia</i>	multicelular	anfiestomática	paracítico	-	dorsiventral	drusas/ráhdes	+	-	-
<i>B. verticillata</i>	multicelular	anfiestomática	paracítico	-	dorsiventral	drusas/ráhdes	+	-	-
<i>D. teres</i>	multicelular	anfiestomática	paracítico	-	isobilateral	drusas e ráhdes	+	-	-
<i>M. frigidus</i>	multicelular	hipoestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	+	-	-
<i>Ri. brasiliensis</i>	multicelular	anfiestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	+	-	-
<i>Ri. grandiflora</i>	multicelular	anfiestomática	paracítico	-	dorsiventral	ráhdes	+	-	-

Abreviações: + = presente, - = ausente.

Tabela 5. Caracterização do mesofilo e nervura mediana de espécies de Rubiaceae

Espécies	Extensão do parênquima palicádico	Arranjo das células do parênquima lacunoso	Palicádico com células coletoras	Parênquima paravascular	Margem foliar com parênquima palicádico	Margem foliar com células de parede espessada	Parênquima palicádico contínuo na nervura mediana	Nervura mediana pronunciada em ambas as faces	Nervura mediana pronunciada apenas na face abaxial	Nervura mediana pouco proeminente	Células esclerificadas no floema da nervura mediana
<i>C. hexandra</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>Ch. alba</i>	1/4 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	-	+	-	-	+
<i>Cou. triflora</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>Cou. verticillata</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>F. multiflora</i>	1/4 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>Coc. hasslerianum</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>Coc. krauseanum</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>Coc. lanceolatum</i>	1/2 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>Pa. longepedunculata</i>	1/3 do mesotilo	frouxo	-	-	-	+	-	+	-	-	+
<i>Pa. marcgravii</i>	1/2 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>P. cephalantha</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>P. conjugens</i>	1/2 do mesotilo	paralelo a superfície	+	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>P. hastiseptata</i>	1/4 do mesotilo	frouxo	+	-	-	+	+	+	-	-	-
<i>P. hygrophiloides</i>	1/2 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	+	+	-	-	-
<i>P. myriantha</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	+	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>P. nuda</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	+	-	-	+	+	+	-	-	-
<i>P. sessilis</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	-	+	-	-	+
<i>P. subspathulata</i>	1/2 do mesotilo	paralelo a superfície	+	-	-	+	+	+	-	-	-
<i>P. tenerior</i>	1/2 do mesotilo	paralelo a superfície	+	-	-	+	-	+	-	-	-
<i>P. vellosiana</i>	1/2 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	+	+	-	-	-
<i>R. lanceolata</i>	1/4 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	+	+	-	-	+
<i>G. hypocarpium</i>	1/2 do mesotilo	paralelo a superfície	+	-	-	+	+	-	-	+	-
<i>B. capitata</i>	2/3 do mesotilo	paralelo a superfície	-	+	-	-	-	-	+	-	-
<i>B. eryngioides</i>	2/3 do mesotilo	paralelo a superfície	+	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>B. latifolia</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>B. verticillata</i>	1/3 do mesotilo	paralelo a superfície	-	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>D. teres</i>	1/2 do mesotilo	paralelo a superfície	-	+	+	-	-	-	+	-	-
<i>M. frigidus</i>	1/2 do mesotilo	compacto	-	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>Ri. brasiliensis</i>	1/2 do mesotilo	compacto	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>Ri. grandiflora</i>	1/2 do mesotilo	compacto	-	-	-	+	-	-	-	+	-

Abreviações: + = presente, - = ausente.

Tabela 6. Caracterização das nervuras laterais, sistema vascular do pecíolo, padrões de venação e distribuição dos coléteres e domácias na folha

Espécies	Nervuras laterais envolvidas por bainha parenquimática	Nervuras laterais envolvidas por bainha parenquimática com cloroplastos	Nervuras laterais de maior porte com extensão de bainha	Nervuras laterais envolvidas por fibras	Folhas subsessais ou sésseis	Conformação do sistema vascular do pecíolo	Padrões de venação	Coléteres distribuídos apenas na face adaxial das estípulas	Coléteres distribuídos na face adaxial das estípulas e nos primórdios foliares	Coléteres distribuídos na face adaxial das estípulas e no ápice das estípulas	Tipo de domácia
<i>C. hexandra</i>	+	-	+	-	-	tipo III	tipo IV	+	-	-	-
<i>Ch. alba</i>	+	-	-	-	-	tipo II	tipo II	-	-	+	-
<i>Cou. triflora</i>	+	-	-	-	-	tipo III	tipo III	+	-	-	S
<i>Cou. verticillata</i>	+	-	-	-	-	tipo III	tipo IV	+	-	-	-
<i>F. multiflora</i>	+	-	-	-	-	tipo III	tipo III	+	-	-	S
<i>Coc. hasslerianum</i>	-	+	-	-	-	tipo I	tipo III	+	-	-	-
<i>Coc. krauseanum</i>	+	-	-	-	-	tipo I	tipo III	+	-	-	-
<i>Coc. lanceolatum</i>	+	-	-	-	-	tipo I	tipo III	+	-	-	-
<i>Pa. longepedunculata</i>	+	-	-	-	-	tipo V	tipo IV	+	-	-	-
<i>Pa. marcgravii</i>	+	-	-	-	-	tipo II	tipo III	+	+	-	-
<i>P. cephalantha</i>	+	-	-	-	-	tipo VI	tipo III	+	-	-	-
<i>P. conjugens</i>	+	-	-	-	-	tipo V	tipo III	+	-	-	-
<i>P. hastiseipala</i>	+	-	-	-	-	tipo III	tipo IV	+	-	-	-
<i>P. hygrophiloides</i>	+	-	-	-	-	tipo II	tipo III	+	-	-	-
<i>P. myriantha</i>	+	-	-	-	-	tipo II	tipo III	+	-	-	-
<i>P. nuda</i>	+	-	-	-	-	tipo IV	tipo III	+	-	-	-
<i>P. sessilis</i>	+	-	-	-	-	tipo II	tipo III	+	-	-	-
<i>P. subspathulata</i>	+	-	-	-	-	tipo II	tipo III	+	-	-	S
<i>P. tenerior</i>	+	-	-	-	-	tipo I	tipo III	+	-	-	-
<i>P. vellosiana</i>	+	-	-	-	-	tipo I	tipo III	+	-	-	TT
<i>R. lanceolata</i>	-	-	-	+	-	tipo II	tipo I	+	-	-	F
<i>G. hypocarpium</i>	+	-	-	-	+	-	tipo IV	+	-	-	-
<i>B. capitata</i>	+	-	-	-	+	-	tipo IV	+	-	-	-
<i>B. eryngioides</i>	+	-	-	-	+	-	tipo IV	+	-	-	-
<i>B. latifolia</i>	+	-	-	-	+	-	tipo IV	+	-	-	-
<i>B. verticillata</i>	+	-	-	-	+	-	tipo IV	+	-	-	-
<i>D. teres</i>	+	-	-	-	+	-	tipo IV	+	-	-	-
<i>M. frigidus</i>	+	-	-	-	+	-	tipo IV	+	-	-	-
<i>Ri. brasiliensis</i>	+	-	-	-	+	-	tipo IV	+	-	-	-
<i>Ri. grandiflora</i>	+	-	-	-	+	-	tipo IV	+	-	-	-

Abreviações: + = presente, - = ausente, TT=tufo de tricomas, S= saco, F= fenda.

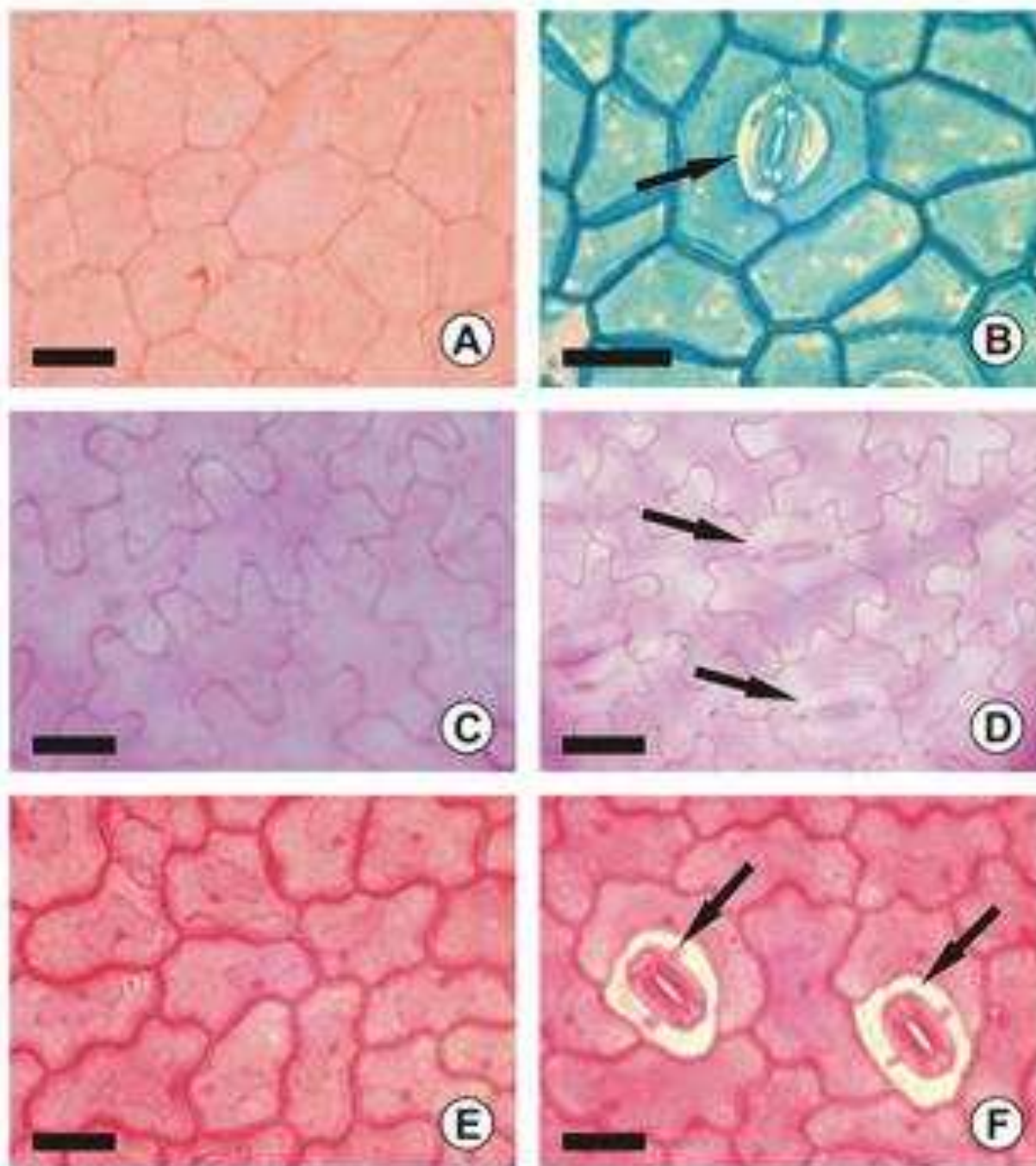


Figura 1. Epiderme de folhas de espécies de Rubiaceae (material dissociado). **A.** Face adaxial de *Psychotria subspathulata*. **B.** Face abaxial de *P. cephalantha* com estômatos paralelocíticos (seta). **C-D.** Face adaxial e abaxial de *Coussarea triflora*, respectivamente, note estômatos paracíticos (setas). **E-F.** Face adaxial e abaxial de *Galium hipocarpium*, respectivamente, estômatos paracíticos (setas). Barras= 30 μ m.

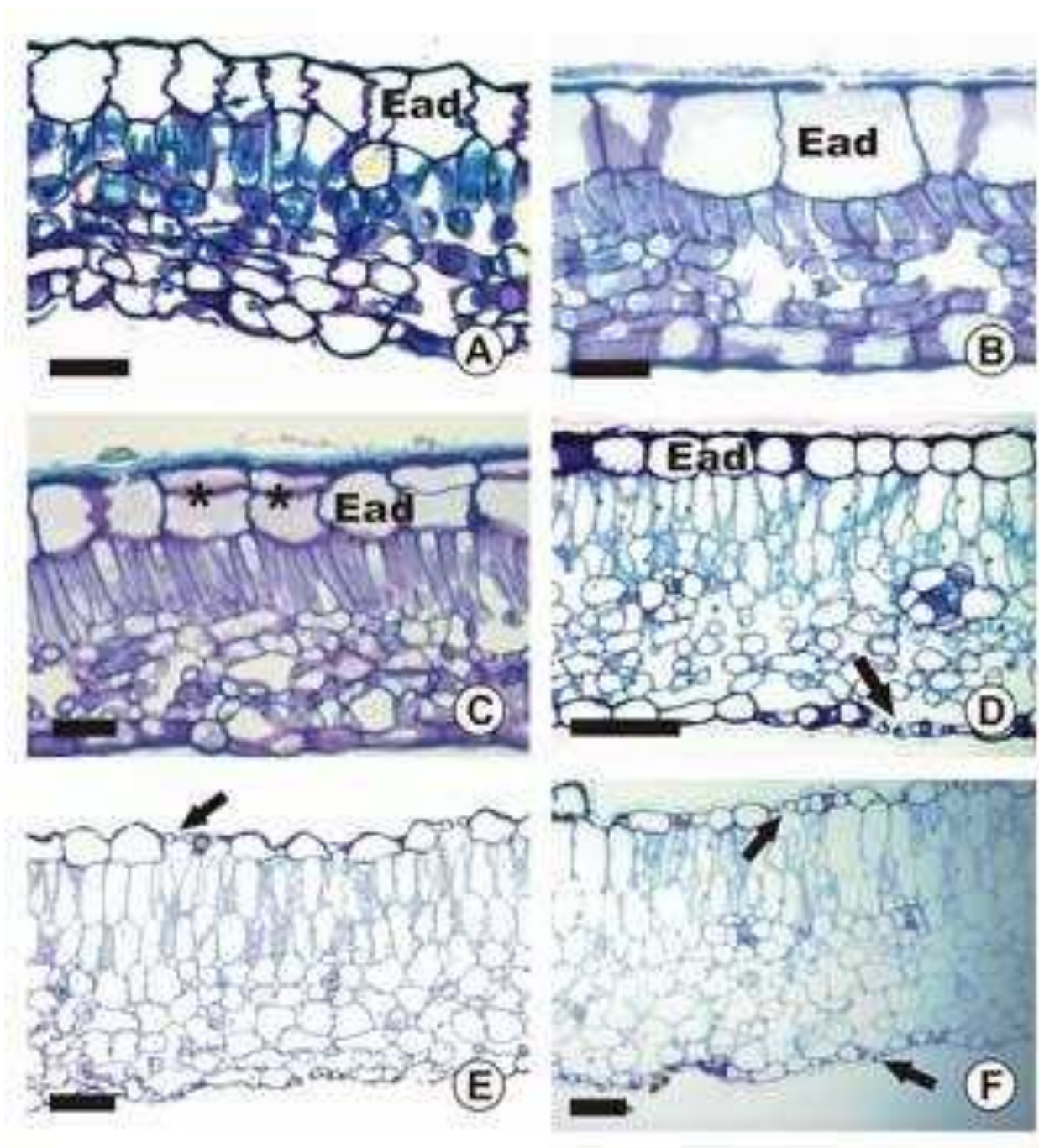


Figura 2. Anatomia da lâmina foliar de espécies de Rubiaceae (secções transversais). **A-D.** Epiderme adaxial volumosa. **A.** *Psychotria subspathulata*. **B.** *P. sesselis*. **C.** *P. vellosiana* Notar epiderme bisseriada (*). **D.** *Mitracarpus frigidus*. Folha hipoestomática. (seta= estômato). **E-F.** *Richargia grandiflora* e *R. brasiliensis*, respectivamente. Folha anfiestomática (seta= estômato). (Ead= epiderme adaxial). Barras= 30 μ m (A, B, C), 100 μ m (D, E, F).

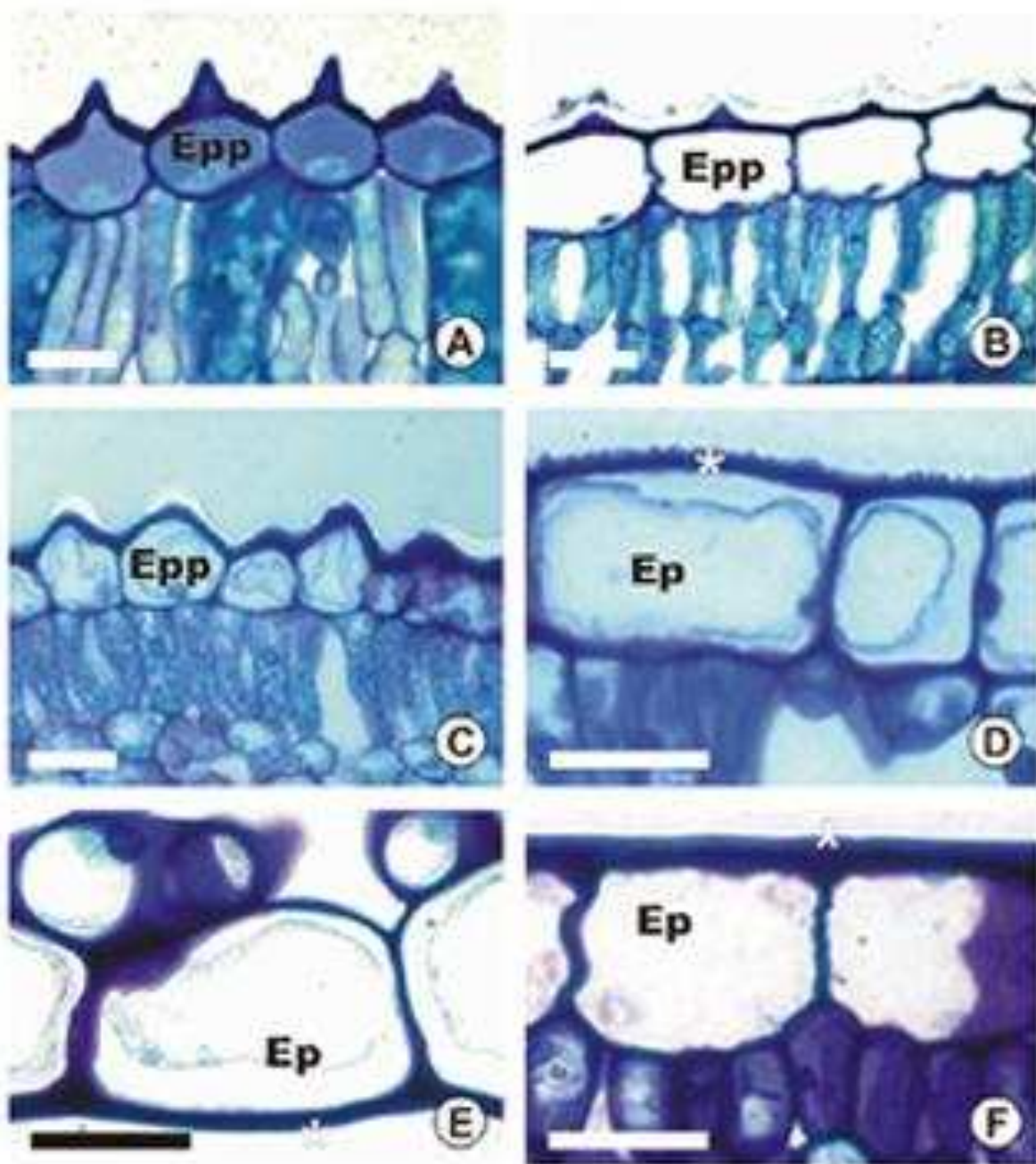


Figura 3. Epiderme foliar de espécies de Rubiaceae (secções transversais). **A-C.** Células epidérmicas papilosas de *Borreria capitata*, *B. eryngioides* e *Palicourea marcgravii*, respectivamente. **D.** Cutícula ornamentada (*) de *P. longepedunculata*. **E-F.** Cutícula lisa (*) em *Chiococca alba* e *Psychotria myriantha*, respectivamente. (Epp= Epiderme papilosa, Ep= Epiderme). Barras= 25μm.

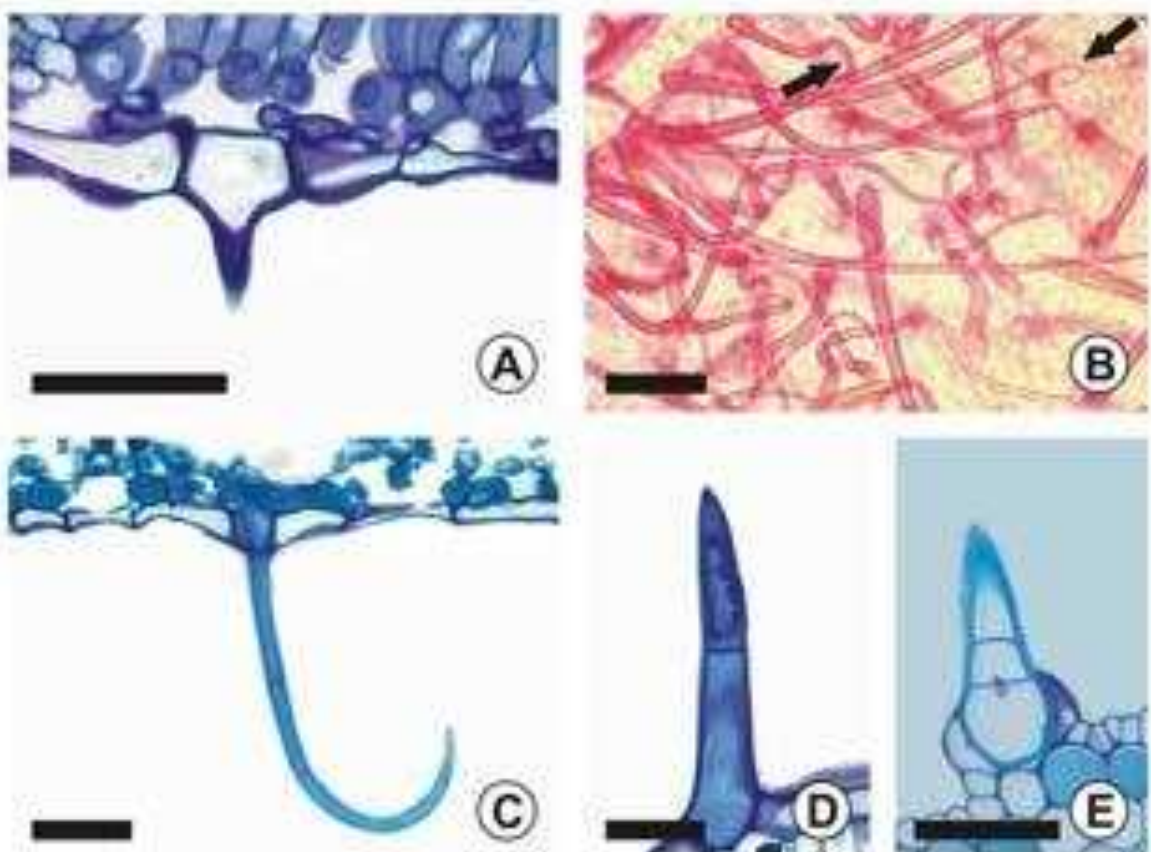


Figura 4. A-E. Tricomas de espécies de Rubiaceae. (A, C, D, E, secções transversais; B, folha diafanizada). **A.** Detalhe do Tricoma tector unicelular de *Psychotria hygrophiloides*. **B.** Tricomas tectores em gancho (setas) de *Coccocypselum lanceolatum*. **C.** Detalhe de um tricoma tector em gancho de *C. lanceolatum*. **D-E.** Tricoma tector multicelular de *Borreria capitata* e *C. haslerianum*, respectivamente. Barras= 50µm (A, C, D), 100µm (B, E).

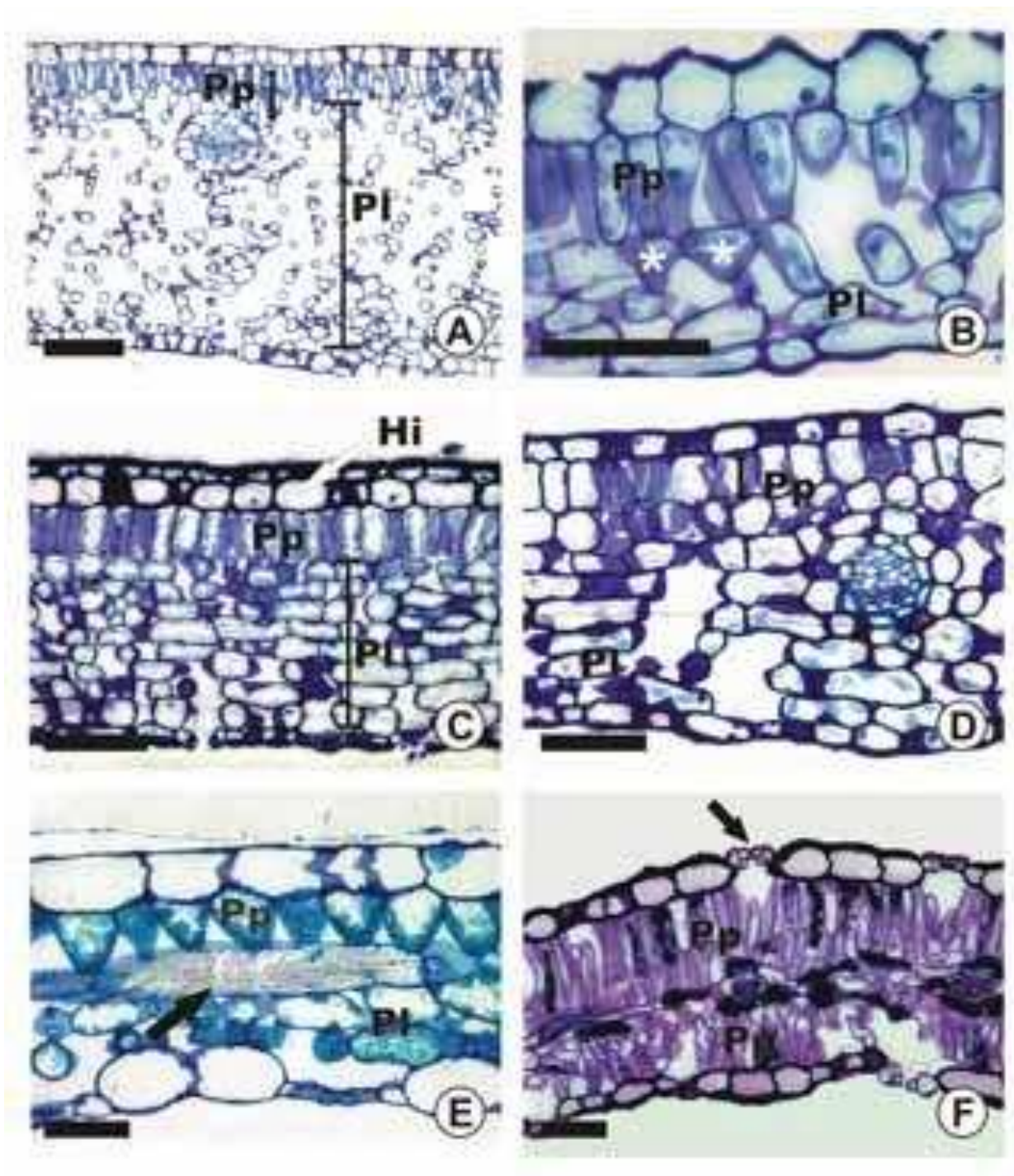


Figura 5. Mesofilo de espécies de Rubiaceae (secções transversais). **A-E.** Mesofilo dorsiventral. **A.** *Psychotria hastisepala*. **B.** *P. tenerior*. Notar células coletoras (*). **C-D** – *Coussarea verticillata* e *C. triflora*, respectivamente. Parênquima paliçádico com células curtas e parênquima lacunoso com células mais alongadas e compactas, paralelas à superfície. Notar hipoderme (seta) em *C. verticillata*. **E.** *Coccocypselum haslerianum*. Parênquima paliçádico com células curtas e com formato cônico. Notar ráfides (seta). **F.** Mesofilo isobilateral de *Diodella teres* (seta= estômato). (Pp= parênquima paliçádico, Pl= parênquima lacunoso, Hi= hipoderme). Barras= 150µm (A), 50µm (B, D, F), 100µm (C, E).

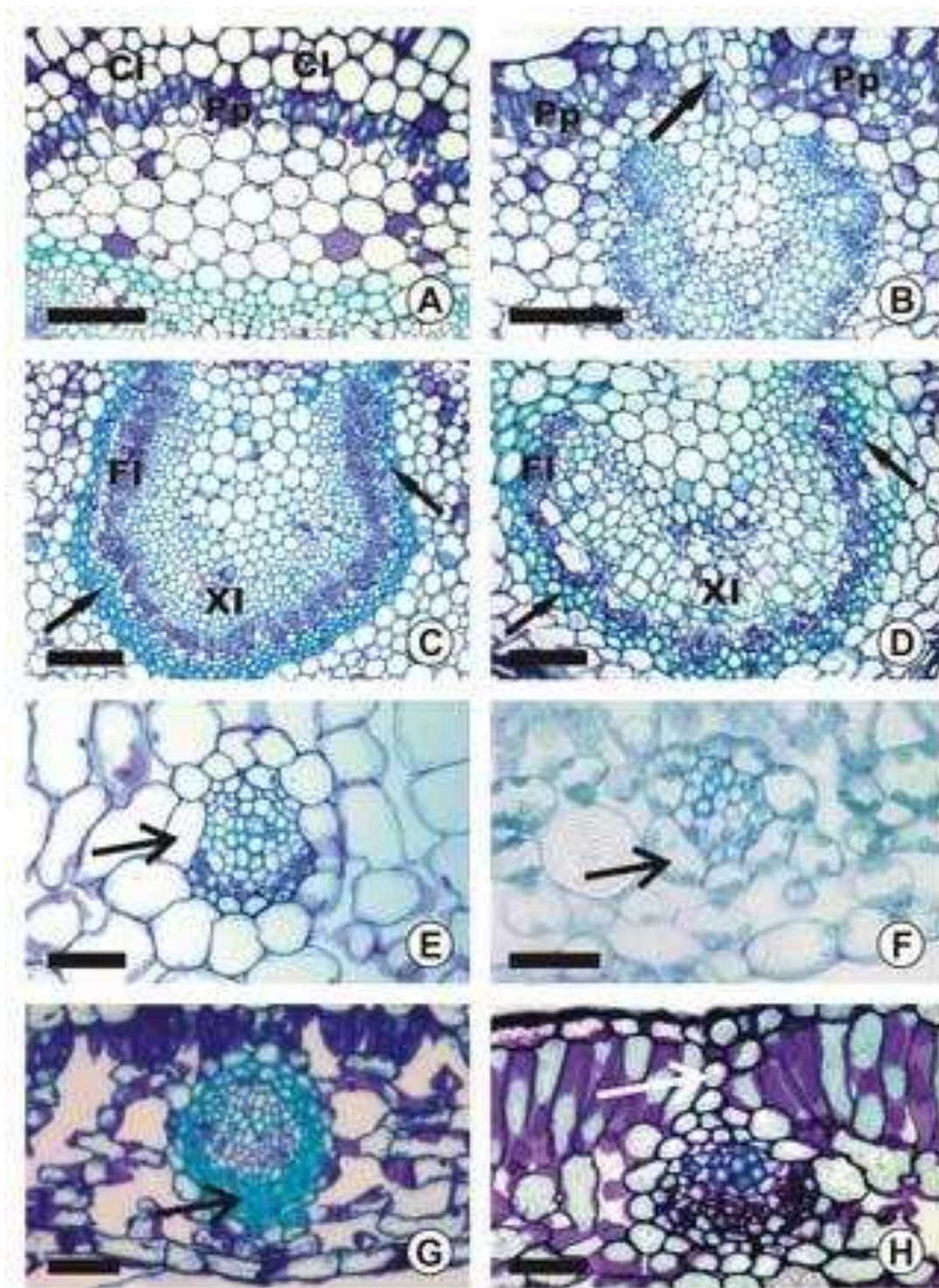


Figura 6. Nervura mediana (A-D) e feixes de menores calibres (E-H) de espécies de Rubiaceae (secções transversais). **A.** *Rudgea lanceolata*. Parênquima paliçádico contínuo na região da nervura mediana. **B.** *Psychotria hygrophiloides*. Parênquima paliçádico não contínuo na região da nervura mediana (seta). **C.** células esclerificadas em *P. conjugens* (setas). **D.** células esclerificadas em *Psychotria vellosiana* (setas). **E.** Bainha parenquimática em *Richardia grandiflora* (seta). **F.** Bainha clorenquimática em *Coccocypselum haslerianum* (seta). **G.** Feixe envolto por células esclerificadas em *Rudgea lanceolata* (seta). **H.** Extensão de bainha em *Coutarea hexandra* (seta). (Cl= Colênquima, Fl= Floema, Pp= Parênquima paliçádico, Xi= xilema). Barras= 100µm (A, B, C), 50µm (D, E, H), 30µm (F, G).

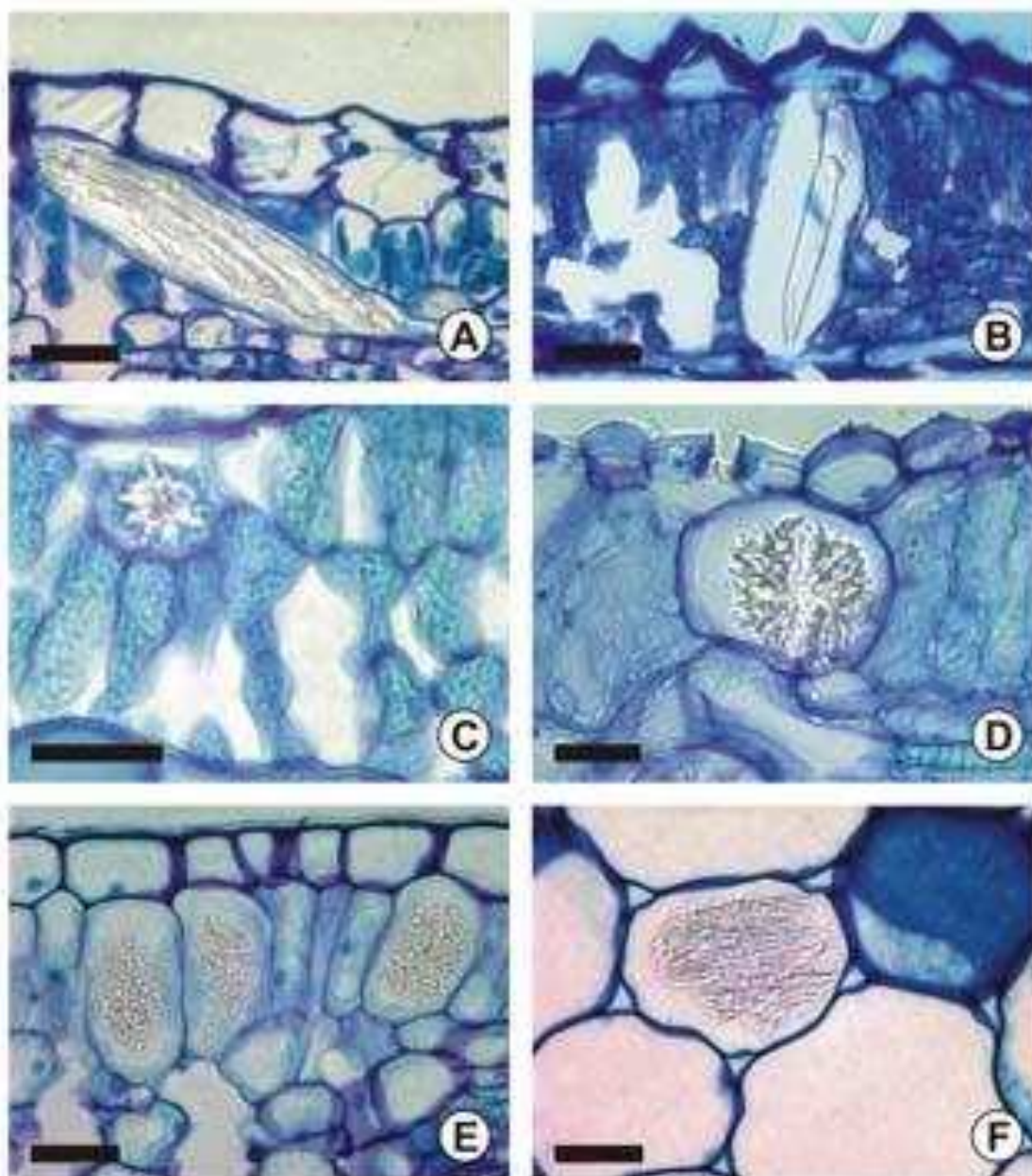


Figura 7. Cristais de oxalato do cálcio nos tecidos parenquimáticos da lâmina foliar (A-E) e do pecíolo (F) de espécies de Rubiaceae. **A.** Ráfides em *Psychotria subspathulata*. **B.** Estilóide no mesofilo de *Palicourea marcgravii*. **C-D.** Drusas em células especializadas de *Borreria eryngioides* e *B. latifolia*, respectivamente. **E.** Areia cristalina em células especializadas de *Chiococca alba*. **F.** Ráfides em células especializadas do parênquima cortical de *Coccocypselum haslerianum*. Barras= 50µm (A), 25 µm (B, D, E, F), 20 µm (C).

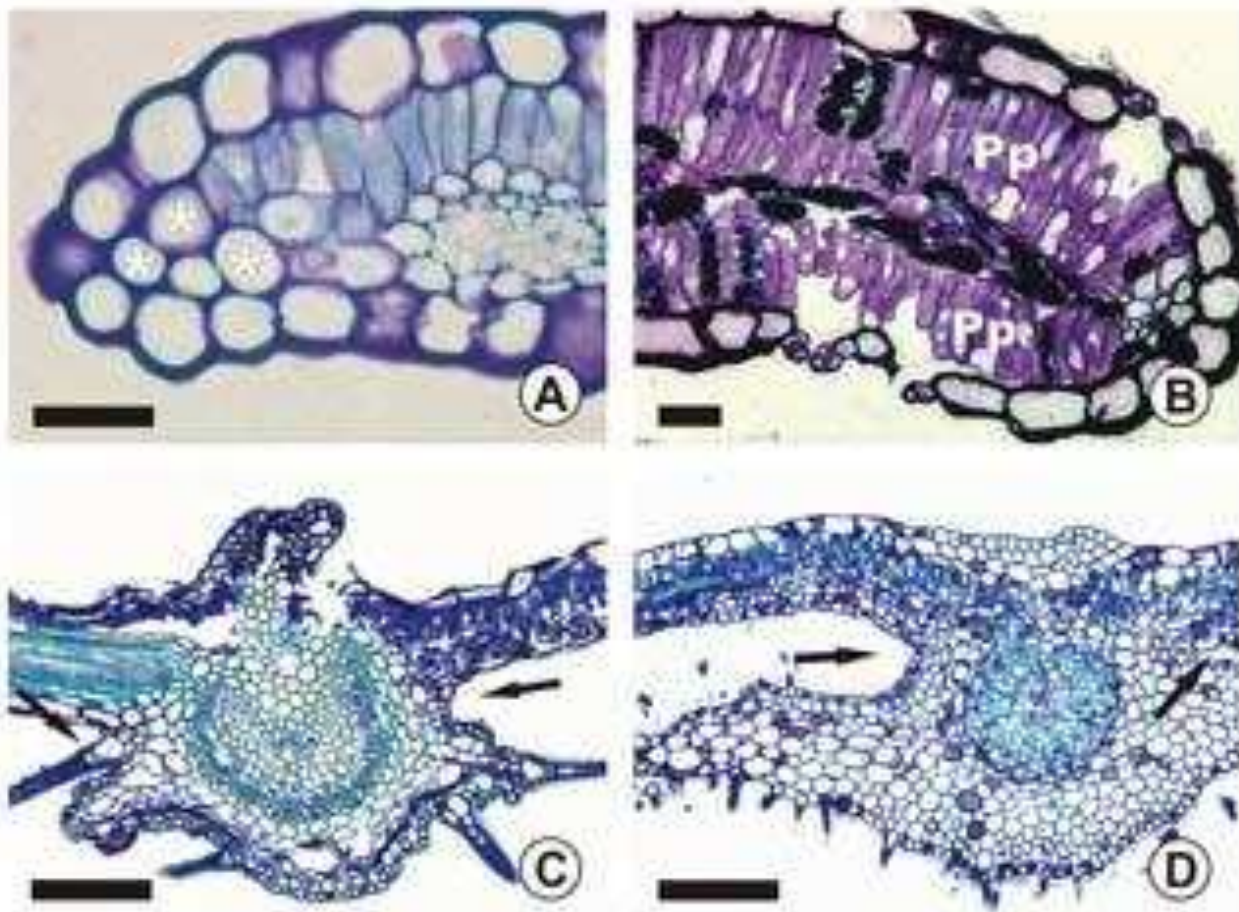


Figura 8. Margem foliar (A-B) e domácias (C-D) em espécies de Rubiaceae. **A.** Células espessadas (*) na margem foliar de *Psychotria hygrophiloides*. **B.** Parênquima paliçádico na margem foliar de *Diodella teres*. **C-D.** *P. vellosiana* e *P. subsphatulata*, respectivamente. Notar cavidades da domácia (setas). (Pp= parênquima paliçádico). Barras= 30 μ m (A, B), 150 μ m (C, D).

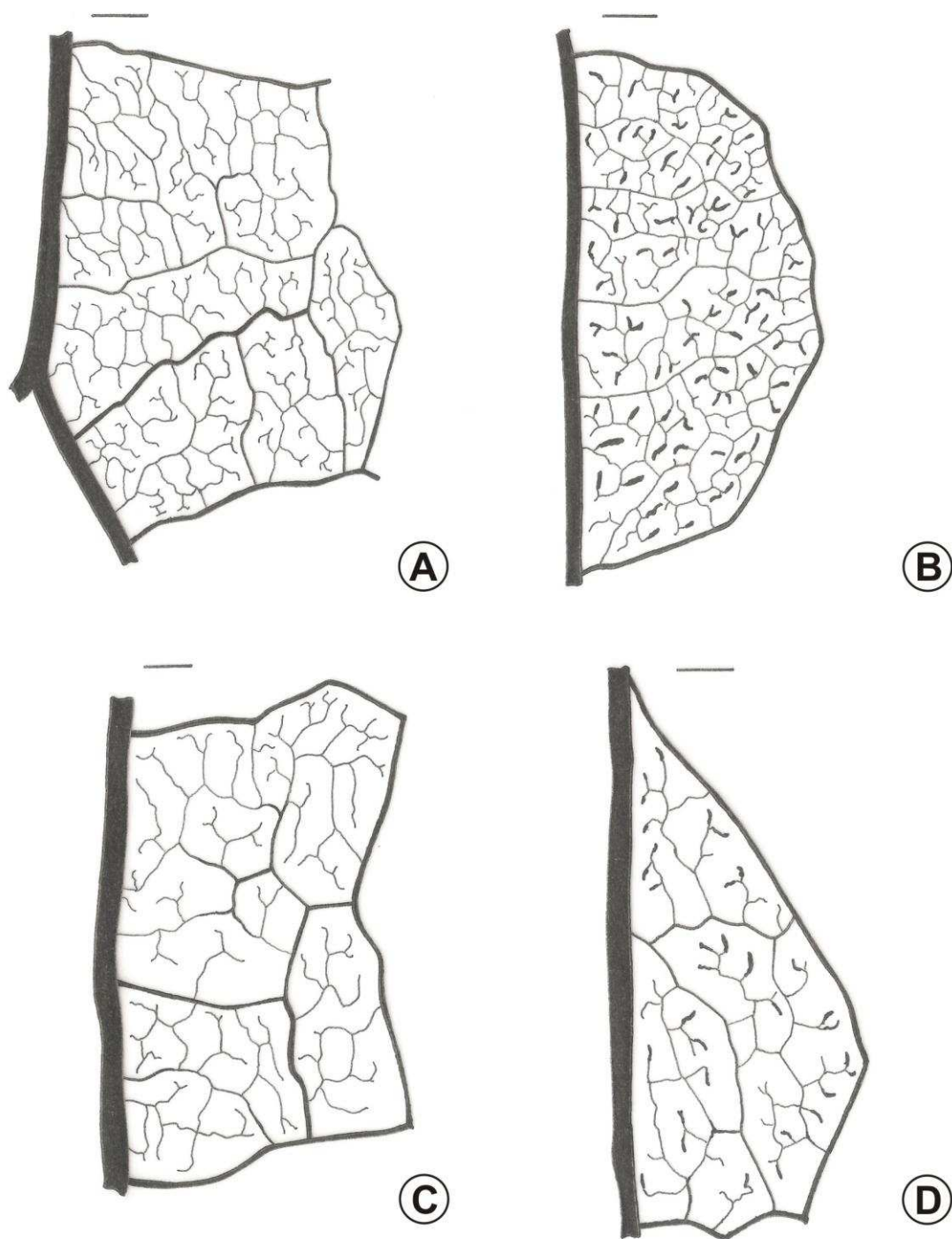


Figura 9. Esquemas diagramáticos dos padrões de venação em lâminas foliares diafanizadas de espécies de Rubiaceae (Traço mais espesso= nervura de primeira ordem). A. Aréolas moderadamente desenvolvidas com ramificações dicotômicas: *Rudgea lanceolata*. B. Aréolas moderadamente desenvolvidas com traqueídes terminais alargados: *Chiococca alba*. C. Aréolas pobremente desenvolvidas com ramificações dicotômicas: *Palicourea marcgravii*. D. Aréolas pobremente desenvolvidas com traqueídes terminais alargados: *Galium hipocarpium*. Barras= 50 μm .

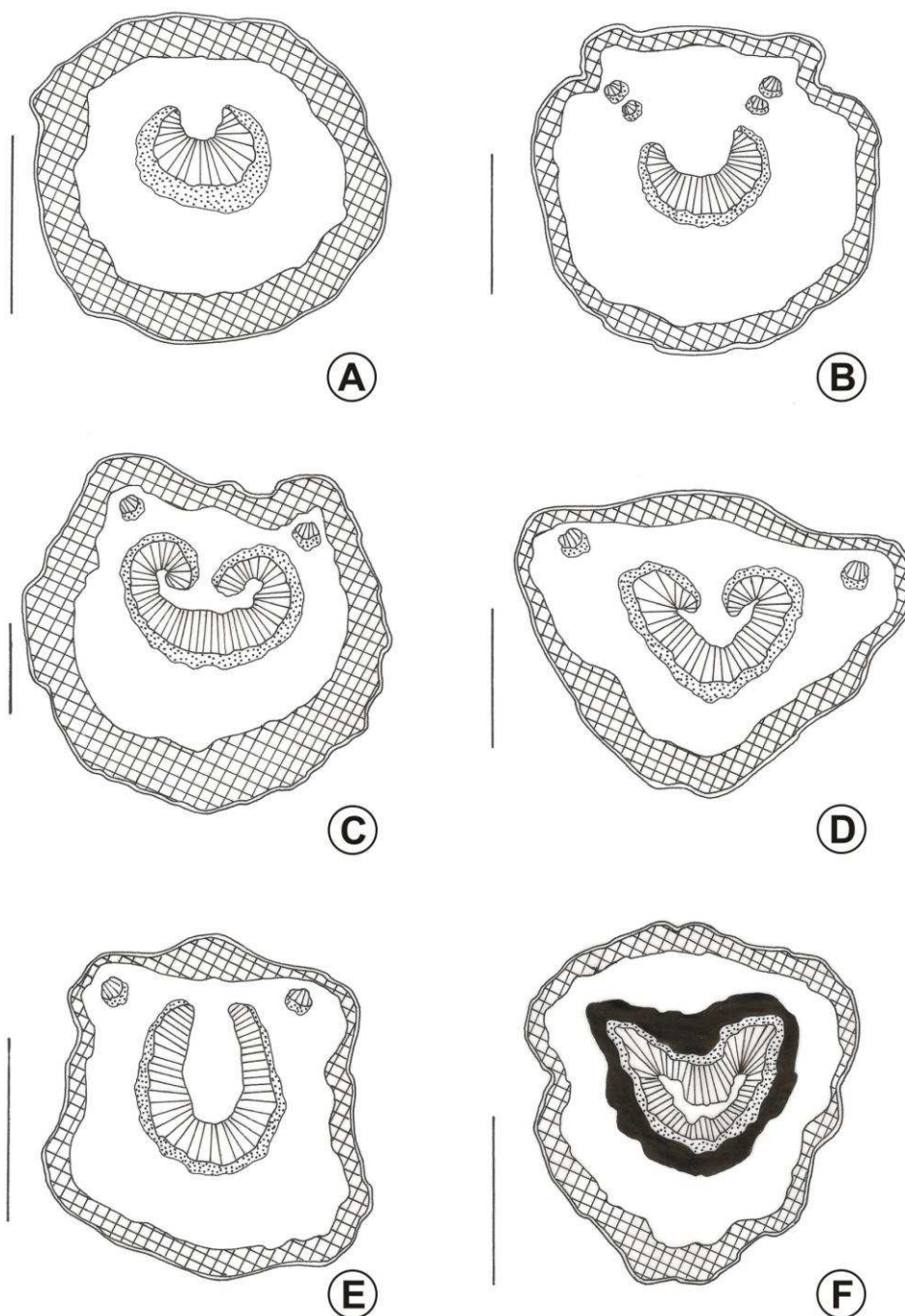


Figura 10. Esquemas diagramáticos dos cortes transversais do pecíolo de espécies de Rubiaceae evidenciando padrões de vascularização. **A.** Arco aberto: *Psychotria vellosiana*. **B.** Arco aberto com 2 a 4 feixes acessórios: *P. hygrophiloides*. **C.** Arco aberto com extremidades invaginadas, com 2 a 4 feixes acessórios: *Coussarea triflora*. **D.** Arco em “V” com extremidades invaginadas e 2 feixes acessórios: *P. nuda*. **E.** Arco em “U” com 2 feixes acessórios: *Palicourea longepedunculata*. **F.** Arco fechado: *P. cephalantha*. Símbolos: linhas hachuradas= colênquima; Branco= parênquima; linhas verticais= xilema; linhas pontilhadas= floema; área negra= fibras. Barras= 50 μ m.

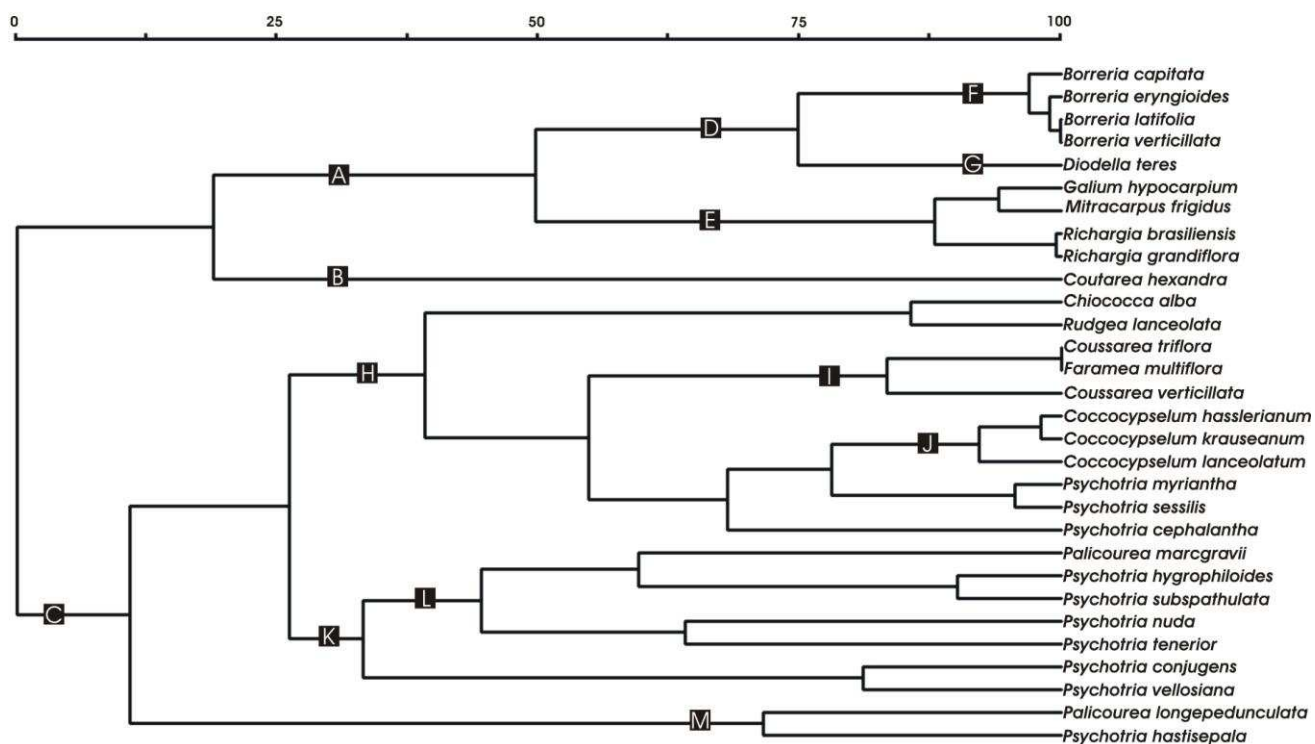


Figura 11. Fenograma gerado pela análise de agrupamento com base em dados anatômicos usando UPMGA para as espécies de Rubiaceae. Os principais agrupamentos delimitados são identificados pelas letras A a M.

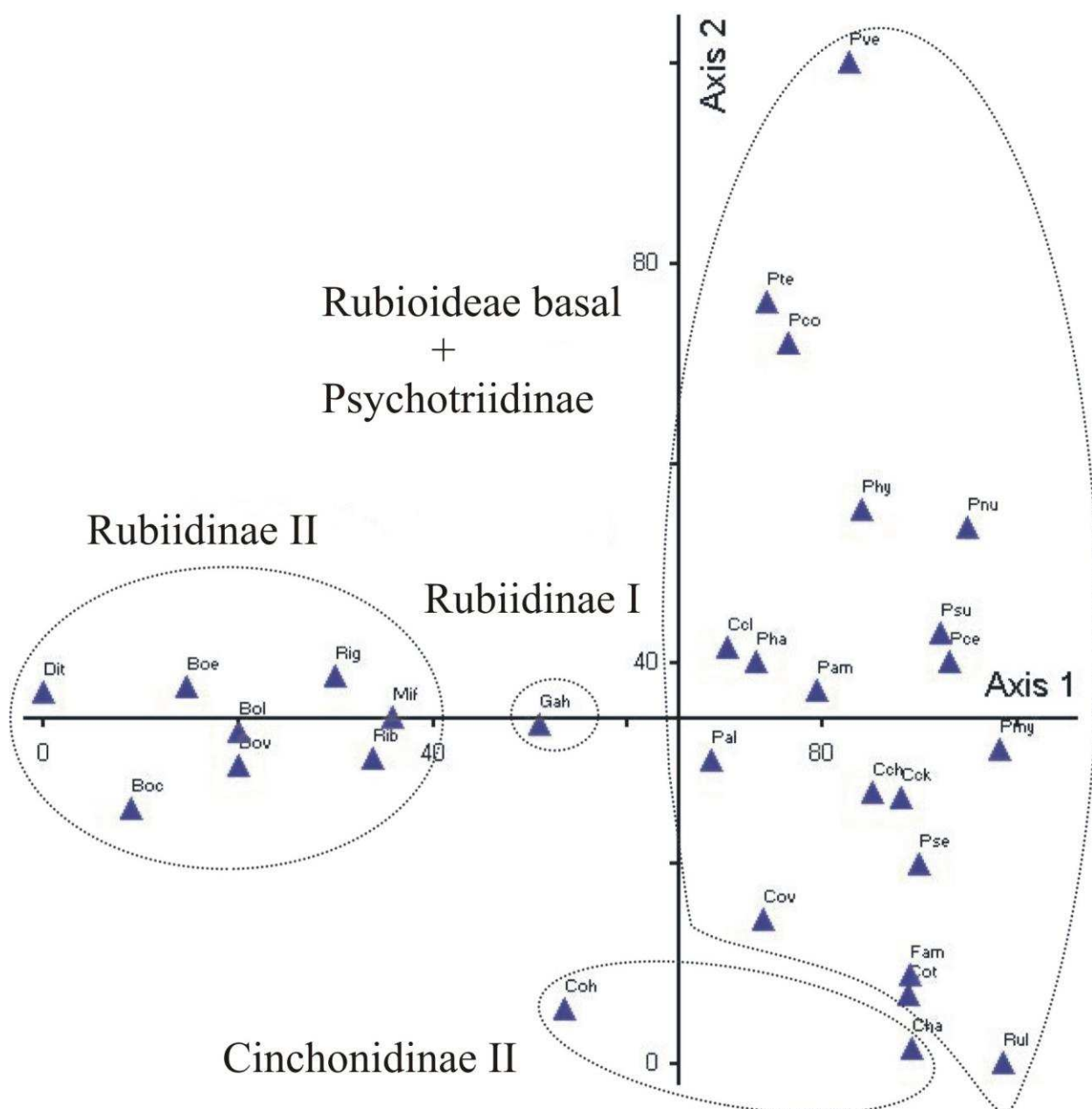


Figura 12. Distribuição dos grupos de espécies de Rubiaceae sobre os dois primeiros eixos resultantes da análise de componentes principais. Abreviaturas: **Boc**-*Borreria capitata*; **Boe**-*B. eryngioides*; **Bol**-*B. latifolia*; **Bov**-*B. verticillata*; **Cha**-*Chiococca alba*; **Cot**-*Coussarea triflora*; **Cov**-*C. verticillata*; **Cch**- *Coccocypselum hasslerianum*; **Cck**- *C. krauseanum*; **Ccl**-*C. lanceolatum*; **Coh**-*Coutarea hexandra*; **Dite**-*Diodella teres*; **Fam**-*Faramea multiflora*; **Gah**- *Galium hypocarpium*; **Mif**-*Mitracarpus frigidus*; **Pal**-*Palicourea longepedunculata*; **Pam**- *P. marcgravii*; **Pce**-*Psychotria cephalantha*; **Pco**-*P. conjugens*, **Pha**- *P. hastisepala*; **Phy**-*P. hygrophiloides*; **Pmy**-*P. myriantha*; **Pnu**- *P. nuda*; **Pse**-*P. sessilis*; **Psu**-*P. subspathulata*; **Pte**-*P. tenerior*; **Pve**-*P. vellosiana*; **Rib**-*Richardia brasiliensis*; **Rig**-*R. grandiflora*; **Rul**-*Rudgea lanceolata*.

4. DISCUSSÃO

O estudo anatômico foliar das 30 espécies de Rubiaceae bem como as análises fenéticas conduzidas neste trabalho confirmam a importância da anatomia como um subsídio para a taxonomia e a filogenia da família. A chave elaborada com base nos caracteres anatômicos pode ser utilizada no reconhecimento das espécies de Rubiaceae que ocorrem na Reserva Florestal Mata do Paraíso em fase vegetativa.

Nas espécies estudadas, nem sempre a variação no contorno da parede anticlinal das células epidérmicas de reto a levemente ondulado ou sinuoso estava relacionado com ambientes de maior e menor luminosidade, respectivamente, como descrito na literatura para plantas de sol e de sombra (Sharma & Dunn 1968; Wilkinson 1979). A maioria das espécies de *Coccocypselum*, *Palicourea* e *Psychotria* estudadas ocorre no interior da mata, locais úmidos e sombreados, e apresenta as células epidérmicas da face adaxial com contorno reto. Esta característica foi observada também para *Psychotria nuda*, *P. leiocarpa* (Vieira et al. 1992) e *Simira sampaioana* (Moraes et al. 2009), também ocorrentes no interior da mata em locais úmidos e sombreados. Já, para *Borreria verticillata*, *Galium hypocarpium* e *Mitracarpus frigidus*, espécies estudadas que ocorreram nos aceiros, em locais mais ensolarados, as paredes anticlinais de ambas as faces da folha têm contorno sinuoso. Assim, para estas espécies de Rubiaceae, a luminosidade parece não estar influenciando este caráter, o que reforça a sua utilidade para a taxonomia.

Células epidérmicas papilosas na face adaxial foram observadas apenas nas espécies de *Borreria*, *Palicourea marcgravii* e *Psychotria tenerior*. A presença de papilas em *Borreria* mostrou-se como uma característica conservativa para o gênero e que pode ser utilizada na resolução dos problemas de delimitação de *Spermacoceae*. A ocorrência de papilas é considerada como um importante caráter taxonômico (Judd et al. 2008) e sua aplicação têm

sido utilizada em diversas espécies de *Psychotria* (Vieira et al. 1992, Moraes et al. 2011). A presença de papilas na face adaxial de *Psychotria leiocarpa* e sua ausência em *P. nuda* são utilizadas como um caráter taxonômico na identificação dessas espécies (Vieira et al. 1992). Já, em *P. hoffmannseggiana* e *P. deflexa* (Moraes et al. 2011), a ocorrência de papilas na face adaxial é utilizada para a separação destas espécies das demais do gênero.

A maioria das espécies estudadas é hipoestomática, o que está de acordo com o observado para Rubiaceae (Robbrecht 1988). Já, a ocorrência de estômatos em ambas as faces da folha em Rubieae e Spermacoeae (exceto em *Mitracarpus frigidus*) representa uma característica de valor taxonômico que pode ser utilizada para contribuir na circunscrição das tribos Rubieae e Spermacoeae além de diferenciar *Mitracarpus frigidus* das demais espécies das tribos estudadas.

Nas espécies estudadas, os tricomas, embora variem quanto à distribuição e densidade, são uniformes quanto à tipologia (podem ser unicelulares ou multicelulares) e apresentam valor taxonômico, como verificado em Rubieae e Spermacoeae, pela presença de tricomas apenas multicelulares. Tricomas são estruturas de valor para as abordagens taxonômicas em Rubiaceae e essa importância pode variar conforme o nível hierárquico analisado. Na tribo Hamelieae, o tipo, o tamanho e a distribuição dos tricomas são caracteres importantes para a separação dos gêneros (Martínez-Cabrera et al. 2009). Em Rodeletia (tribo Cinchonoideae), (Kocsis et al. 2004) a tipologia dos tricomas, principalmente na face abaxial da lâmina permite a distinção de espécies. Nas espécies estudadas, o tipo de tricoma foi uma característica importante para diferenciar algumas espécies, como verificado para *Coccocypselum lanceolatum* que difere das demais estudadas do gênero pela presença de tricoma em gancho.

A presença de hipoderme apenas em *Coussarea verticilata* mostrou-se como um caráter de valor diagnóstico utilizado para distingui-la de *C. triflora*. Hipoderme já foi

observada em *C. meridionalis* (Tavares & Vieira 1994) e em outros representantes de Rubiaceae, tais como em espécies de *Psychotria* (Solereder 1908) e *Rondeletia* (Kocsis et al. 2004).

Mesofilo dorsiventral mostrou-se como uma característica conservativa, pois estava presente em quase todas as tribos analisadas, exceto em *Spermacoceae*, que apresentou variações quanto ao tipo de mesofilo. Não existe consenso quanto à delimitação de alguns dos gêneros incluídos na tribo *Spermacoceae*. Existem sistemas de classificação em que *Diodella*, *Borreria* e *Spermacoce* são tratados como gêneros distintos (Bacigalupo & Cabral 1999); ou sinonimizados em *Spermacoce* (Clarkson 1993) ou delimitados como *Spermacoce* e *Diodella* (Chaw & Sivarajan 1989). Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram a distinção de *Borreria* (mesofilo dorsiventral) de *Diodella* (mesofilo isobilateral), enfatizando a importância dessa característica nos trabalhos de taxonomia que visem o posicionamento destes gêneros.

A margem foliar apresenta células de parede espessada na maioria das espécies estudadas. Tal característica é referida para diversas espécies de Rubiaceae (Vieira et al. 1992; Gomes et al. 1995; Nascimento et al. 1996; Leo et al. 1997). Já, a presença de parênquima paliçádico na margem foliar de *Coutarea hexandra* e *Diodela teres* e idioblastos cristalíferos na margem foliar de *Borreria capitata* e *Palicourea marcgravii* são características importantes para a distinção destas espécies na RFMP.

Feixes vasculares com extensão de bainha foram verificados apenas em *Coutarea hexandra*. Essa característica também ocorre em outras espécies de Rubiaceae arbóreas, tais como em *Bathysa stipulata* (Nascimento et al. 1996) e espécies de *Simira* (Moraes et al. 2009). A presença de cloroplastos na bainha do feixe foi verificada apenas em *Coccocypselum hasslerianum*, sendo importante para diferenciar essa espécie das demais do gênero.

Domácias foliares foram verificadas em 5 espécies do presente trabalho e os tipos observados, a presença ou ausência de tricomas e a distribuição dos estômatos próximo a domácia se constituem num importante caráter macromorfológico e de valor diagnóstico, utilizado na chave de identificação das espécies baseada em caracteres vegetativos. Domácias foliares ocorrem em diversos gêneros de Rubiaceae, tais como em *Rudgea* (Moraes et al. 2011) e *Psychotria* (Da Cunha & Vieira 1997, Moraes et al. 2011), sendo também utilizada em chaves dicotômicas para identificação das espécies, como observado para *Tocoyena sellowiana* e *Coussarea porophylla* (Braz et al. 2004).

A presença de coléteres na superfície adaxial das estípulas de todas as espécies estudadas é um padrão comum dentre as Rubiaceae. Já, coléteres no ápice das estípulas *Chiococca alba* e nos primórdios foliares de *Palicourea marcgravii* mostrou-se relevante e diagnóstico para essas espécies. Considerando a importância dos coléteres para os respectivos gêneros (ver capítulo 2), a variação na morfologia e na distribuição destes coléteres pode ser promissora em abordagens taxonômicas em Rubiaceae, como já demonstrado por diversos autores (Lersten 1974a, b; Robbrecht 1988; Thomas 1991).

A conformação do sistema vascular do pecíolo apresentou valor diagnóstico para as tribos Cinchoneae, Coccocypseleae e Cossareae. Variações na conformação do sistema vascular do pecíolo podem fornecer dados importantes à taxonomia (Metcalf & Chalk 1979) e tem sido aplicado com sucesso em Rubiaceae (Martínez-Cabrera et al. 2009) e em diversas famílias botânicas, tais como Melastomataceae (Reis et al. 2004), Celastraceae (Gomes et al. 2005) e Malpighiaceae (Araújo et al. 2010). A diversidade de conformações no sistema vascular do pecíolo (tipo 1, 2, 3 e 4) observada nas espécies de *Psychotria* estudadas é um registro novo para o gênero. Considerando o elevado número de espécies de *Psychotria* (cerca de 2000 espécies) (Burger & Taylor 1993) e os problemas taxonômicos existentes no

gênero (Taylor 1989, 1996), esse caráter é promissor e deve ser considerado em trabalhos futuros.

As análises fenéticas mostraram que, para as espécies de Rubiaceae estudadas, a presença de epiderme bisseriada, papilas, tipo de tricomas, tipo de estômatos, variações na morfologia do parênquima paliçádico e lacunoso, variações do padrão de venação, presença e posição de coléteres, presença e tipo de domácias e variações na conformação do sistema vascular do pecíolo são características de valor taxonômico. Algumas destas características também foram utilizadas em trabalhos de anatomia aplicada à taxonomia em Rubiaceae (Tavares & Vieira 1994; Nascimento et al. 1996; Kocsis et al. 2004; Moraes et al. 2009; Martínez-Cabrera et al. 2009; Moraes et al. 2011) o que reforça a importância dos resultados que podem contribuir para um melhor entendimento das relações filogenéticas entre os táxos da família.

Idioblastos com cristais de oxalato de cálcio nos tecidos parenquimáticos da lâmina foliar e do pecíolo são comuns a todas as espécies analisadas. O tipo de cristal foi importante para a separação em nível genérico, como verificado pela presença de drusas em *Borreria* e pela presença de estilóides na maioria das espécies de *Psychotria*. A presença, distribuição e tipos de cristais podem ser utilizados como caráter taxonômico (Metcalf & Chalk 1950). A ocorrência de estilóides em espécies de *Psychotria* sugere ser uma importante característica diagnóstica para o gênero, como descrita também para outras espécies (Moraes et al. 2011).

A confirmação da presença universal de ráfides em Rubioideae acrescenta espécies investigadas à listagem contida nas propostas taxonômicas que citam esta característica como uma sinapomorfia morfológica para esta subfamília (Robbrecht 1988; Robbrecht & Manen 2006). Entretanto, a organização de Rubiaceae em duas subfamílias (Robbrecht & Manen 2006) não foi sustentada pelas análises de similaridade conduzidas no presente trabalho. Apenas o tipo de cristal não foi suficiente para sustentar o arranjo natural em duas

subfamílias, uma vez que outras características anatômicas, tais como a conformação do sistema vascular do pecíolo e o volume das células epidérmicas foram relevantes para agrupar espécies de *Chiococca alba* (Cinchonoideae) e *Rudgea lanceolata* (Rubioidae).

Quanto à organização taxonômica em nível de tribo (A, B I, J, K) e de gênero (F, G, J), as análises fenéticas corroboraram as propostas taxonômicas que incluem a filogenia molecular (Nepokroeff et al. 1999, Robbrecht & Manen 2006).

Na análise de componentes principais foi possível estabelecer a distribuição que coincide com os táxons em nível de supertribo conforme apresentado pelas análises de filogenia molecular realizadas por Robbrecht & Manen (2006). O clado das Rubioidae basal (que inclui Coussareae e Coccocypselum) ficou reunido com a supertribo Psychotriidinae, o que reforça a proposta de íntima relação entre estes grupos com base em dados morfológicos e moleculares (Robbrecht & Manen 2006). Foi possível delimitar as espécies da supertribo Rubioidinae, o que está de acordo com as análises filogenéticas (Robbrecht & Manen 2006). Entretanto, o estudo filogenético não foi conclusivo quanto à organização desta supertribo em dois grupos (Rubioidinae I e Rubioidinae II), sendo o grupo Rubioidinae II citado como parafilético (Robbrecht & Manen 2006). Os resultados anatômicos apresentados são promissores, pois as 8 espécies da tribo Spermacoceae (Rubioidinae II) estão reunidas em um grupo consistente, de acordo com os dados anatômicos (folhas sésseis ou subsésseis, tricomas tectores multicelulares, parênquima paliádico formado por células alongadas, aréolas moderadamente desenvolvidas com traqueídes terminais alargados). Tais características anatômicas podem apresentar uma sinapomorfia para o grupo. Sugere-se, portanto, a ampliação do número de espécies incluídas em Rubioidinae II para confirmar e respaldar com maior segurança os trabalhos de filogenia.

Na supertribo Psychotriidinae, Psychotrieae é formada por representantes com estípulas caducas e Palicoureeae por representantes de estípulas não caducas (Robbrecht &

Manen 2006). Tendo em vista que, apenas características de morfologia externa são, muitas vezes, insuficientes para a distinção de *Paliourea* e *Psychotria*, gêneros taxonomicamente relacionados (Taylor 1989, 1996; Nepokroeff et al. 1999), as características anatômicas descritas para distinguir as espécies dos dois gêneros são promissoras para futuros trabalhos de taxonomia e filogenia em Psychotriidinae.

Em síntese, a presença de papilas, tipo de tricomas, variações na morfologia do parênquima paliádico e lacunoso, variações do padrão de areolação e variações na conformação do sistema vascular do pecíolo foram características anatômicas relevantes na separação de tribos e gêneros. Já, a morfologia do tricoma, presença de hipoderme, tipo de mesofilo, presença de bainha com cloroplastos, presença de bainha envolta por células esclerificadas, presença de extensões de bainha, parênquima paliádico na margem foliar, idioblastos cristalíferos na margem foliar, tipo de domácias, posição dos coléteres, variações do padrão de venação e variações na conformação do sistema vascular foram características anatômicas importantes na distinção das espécies e utilizadas na chave dicotômica. Os resultados confirmam a importância dos caracteres anatômicos como ferramenta adicional para subsidiar estudos taxonômicos e filogenéticos em Rubiaceae, bem como ampliam os conhecimentos anatômicos ao nível de tribo, gênero e espécie e indicam caracteres promissores para futuras abordagens.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrés-Hernández R, Terrazas T (2006) Anatomía foliar y del pecíolo de espécies del gênero *Rhus* s. str. (Anacardiaceae). *Bol Soc Bot Mex* 78:95-106
- Araújo SA, Azevedo AA, Silva LC, Meira RMSA (2010) Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 16 species of Malpighiaceae found in Cerrado area (Brasil). *Plant Syst Evol* 286:117-131
- Bacigalupo NM, Cabral EL (1996) Infrageneric classification of *Borreria* (Rubiaceae-Spermacoceae) on the basis of American species. *Opera Bot Belg* 7:297-308
- Bacigalupo NM, Cabral EL (1999) Revisión de las espécies Americanas del gênero *Diodia* (Rubiaceae-Spermacoceae). *Darviniana* 37:153-165
- Barroso GM, Peixoto AL, Costa CG, Ichaso CLF, Guimarães F, Lima HC (1991) Sistemática de angiospermas do Brasil. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais
- Braz DM, Moura MVLP, Rosa MMT (2004) Chave de identificação para as espécies de dicotiledôneas arbóreas da Reserva Biológica do Tinguá, RJ, com base em caracteres vegetativos. *Act Bot Brasil* 18:225-240
- Bremekamp CEB (1966) Remarks on the position, the delimitation and the subdivision of the Rubiaceae. *Act Bot Neerl* 15:1-33
- Bremer B, Jansen RK (1991) Comparative restriction site mapping of the chloroplast DNA implies new phylogenetic relationships within the Rubiaceae. *Am J Bot* 78:198-213
- Bremer B (1996) Combined and separate analyses of morphological and molecular data in the plant family Rubiaceae *Cladistics* 12:21-40
- Burger WC, Taylor CM (1993) *Flora costaricensis*. *Fieldiana* 33:1-333
- Chaw SM, Sivarajan VV (1989) Seed coat micromorphology of some Asiatic Spermacoceae (Rubiaceae). *Bot Bul Acad Sinica* 30:15-24
- Clarkson JR (1993) Nomenclatural changes in Spermacoceae L. (Rubiaceae). *Austrobaileya* 4:117-118

- Coutinho LM (1962) Contribuição ao conhecimento da Mata Pluvial Tropical. B Fac Fil Cienc Letr USP Bot 18:1-219
- Da Cunha M, Vieira RC (1997) Anatomia foliar *Psychotria vellosiana* Benth. (Rubiaceae). Rodriguésia 45-49:39-50
- Dianne N, Jacob C, Hilger HH (2003) Leaf anatomy and foliar trichomes in Heliotropiaceae and their systematic relevance. Flora 198:468-485
- Ellis B, Daly CD, Hickey LJ, Johnson KR, Mitchell JD, Wilf P, Wing Scott L (2009) Manual of leaf architecture. Cornell University Press, New York
- Fahn A, Cutler DF (1992) Xerophytes. Gebrüder Borntraeger, Berlin
- Gomes DMS, Mantovani A, Vieira RC (1995) Anatomia foliar de *Psychotria ternuineres* Müll. Arg e *Psychotria stenocalix* Müll. Arg. (Rubiaceae). Arq Biol Tecnol 38:15-33
- Jensen WA (1962) Botanical histochemistry: principles and practice. WH Freeman, San Francisco
- Johansen DA (1940) Plant Microtechnique. McGraw- Hill, New York
- Kocsis M, Darók J, Borhidi A (2004) Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (Rubiaceae) species. Plant Syst Evol 248:205-218
- Leal-Filho N (1992) Caracterização do banco de sementes de três estádios de uma sucessão vegetal na Zona da Mata de Minas Gerais. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa
- Leo RRT, Mantovani A, Vieira RC (1997) Anatomia foliar de *Rudgea ovalis* Müll. Arg. e *R. tinguana* Müll. Arg. (Rubiaceae). Leandra 12:33-44
- Lersten NR (1974a) Colleter morphology in *Pavetta*, *Neorosea* and *Tricalysia* (Rubiaceae) and its relationship to the bacterial leaf nodule symbiosis. Bot J Linn Soc 69:125–136
- Lersten NR (1974b) Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). Am J Bot 61:973–981

- Lombardi JA, Gonçalves M (2000) Composição florística de dois remanescentes de Mata Atlântica do sudeste de Minas Gerais, Brasil. *Rev Bras Bot* 23:255-282.
- Mantovani A, Vieira RC (1997) Leaf surface of two understorey shrubs *Rudgea decipiens* Müll. Arg. and *Rudgea macrophylla* Benth. (Rubiaceae). *Rodriguésia* 45-49:7-13
- Martin-Gajardo IS, Morellato LPC (2003) Fenologia de Rubiaceae do sub-bosque em floresta Atlântica no sudeste do Brasil. *Rev Bras Bot* 26:299-309
- Martínez-Cabrera D, Terrazas T, Ochoterena H (2009) Foliar and petiole anatomy of tribe Hamelieae and other Rubiaceae. *Ann Missouri Bot Gard* 96:133-145
- Mentink H, Baas P (1992) Leaf anatomy of the Melastomataceae, Memecylaceae, and Cryptoniaceae. *Blumea* 37:189-225
- Metcalf CR, Chalk L (1979) Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of leaf and stem with a brief history of the subject. Clarendon Press, Oxford
- Moraes TMS, Barros CF, Neto SJS, Gomes VM, Da Cunha M (2009) Leaf blade and ultrastructure of six *Simira* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rain Forest, Brazil. *Biocell* 33:155-165
- Moraes TMS, Barros CF, Kawashima CG, Miguens FC, Da Cunha M (2011) Domatia and leaf blade structure of *Rudgea eugenioides* (Rubiaceae). *R Bras Bioci* 9:25-32
- Moraes TMS, Rabelo GR, Alexandrino CR, Neto SJS, Da Cunha M (2011) Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. *Act Bot Brasil* 25:178-190
- Nascimento MVO, Gomes DMS, Vieira RC (1996) Anatomia foliar de *Bathysa stipulata* (Vell.) Presl. (Rubiaceae). *Rev Unimar* 18:387-401
- Nopokroeff M, Bremer B, Sytsma K (1999) Reorganizes of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred ITS and *rbcl* sequence data. *Syst Bot* 24:5-27
- O'Brien TP, McCully ME (1981) The study of plant structure principles and selected methods. Termarcaphi Pty. Ltda, Melbourne

- Pereira ZV, Carvalho-Okano RM, Garcia FCP (2006) Rubiaceae Juss. da Reserva Florestal Mata do Paraíso, Viçosa, MG, Brasil. *Act Bot Brasil* 20:207-224
- Reis C, Proença SL, Sajo MG (2004) Vascularização foliar e anatomia do pecíolo de Melastomataceae do cerrado do estado de São Paulo, Brasil. *Act Bot Brasil* 18:987-999
- Robbrecht E (1988) Tropical woody Rubiaceae. *Opera Bot Belg* 1:1-171
- Robbrecht E, Manen J-F (2006) The major evolutionary lineages of the coffee family (Rubiaceae, angiosperms). Combined analysis (nDNA and cpDNA) to infer the position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and supertree construction based on *rbcl*, *rps16*, *trnL-trnF* and *atpB-rbcl* data. A new classification in two subfamilies, Cinchonoideae and Rubioideae. *Syst Geogr Pl* 76:85-146
- Rova JHE, Delprete PG, Anderson L, Albert VA (2002) A *trnL-F* cpDNA sequence study of Condamineae- Rondeletieae-Sipaneeae complex with implication on the phylogeny of Rubiaceae. *Am J Bot* 98:145-159.
- Rizzini CT (1992) Tratado de fitogeografia do Brasil: Aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos. Âmbito cultural, São Paulo
- Sharma GH, Dunn DB (1968) Effect of environment on the cuticular features in *Kalanchoe fedtschenkoi*. *Bull Torr Botanical Club* 95:464-473
- Smith, FH, Smith EC (1942) Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *Am J Bot* 29:464-471
- Solander H (1908) Systematic anatomy of the dicotyledons. Clarendon Press, Oxford
- Taylor CM (1989) Revision of *Palicourea* (Rubiaceae) in Mexico and Central America. *Syst Bot Monog* 26:1-102
- Taylor CM (1996) Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. *Opera Bot Belg* 7:261-270
- Taylor CM (1997) Conspectus of the genus *Palicourea* (Rubiaceae: Psychotrieae) with the description of some new species from Ecuador and Colombia. *Ann Missouri Bot Gard* 24:224-262

- Thomas V (1991) Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Ann Bot* 68:287-305
- Tavares ES, Vieira RC (1994) Anatomia foliar de *Coussarea meridionalis* (Vell). *Muel. Arg. e Coussarea graciliflora* Benth. & Hook (Rubiaceae). *Bradea* 39:320-330
- Verdcout B (1958) Remarks on the classification of the Rubiaceae. *Bull Jard Bot Etat* 28:209-281
- Veloso HP, Rangel Filho AR, Lima JCA (1991) Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. Rio de Janeiro, IBGE
- Vieira RC, Gomes DMS, Ferraz CL (1992) Anatomia foliar de *Psychotria nuda* Wawra e *Psychotria leiocarpa* Mart. (Rubiaceae). *Hoehnea* 19:185-195
- Wikinson, HP (1979) The plant surface. In: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. *Anatomy of the Dicotyledons.- Systematic Anatomy of the leaf and stem*. Oxford, Claredon Press

CAPÍTULO II

COLÉTERES ESTIPULARES EM ESPÉCIES DE RUBIACEAE: MORFOANATOMIA E HISTOQUÍMICA

RESUMO

MATTOS, Karina Lucas Barbosa Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2011. **Coléteres estipulares em espécies de Rubiaceae: morfoanatomia e histoquímica.**

Orientadora: Renata Maria Strozi Alves Meira, Coorientadores: Aristéa Alves Azevedo e Zefa Valdivina Pereira.

O trabalho tem como objetivo descrever a morfoanatomia e a histoquímica dos coléteres de exemplares de 10 espécies incluídas em quatro gêneros de Rubiaceae ocorrentes na Reserva Florestal Mata do Paraíso (RFMP), Minas Gerais, contribuindo com informações sobre a diversidade destas estruturas na família, bem como visando fornecer subsídios para futuros trabalhos de taxonomia e relações filogenéticas. Amostras de meristemas apicais vegetativos das 10 espécies foram processadas de acordo com técnicas usuais em microscopia de luz e eletrônica de varredura. Testes histoquímicos foram realizados em meristemas apicais vegetativos de amostras frescas ou de fixadas. Os coléteres se encontram distribuídos na superfície adaxial das estípulas, ocorrendo também nos primórdios foliares de *Palicourea marcgravii* e no ápice da estípula de *Chiococca alba*. Foram observados três tipos de coléteres: padrão, padrão bifurcado e padrão curto. A estrutura geral dos coléteres consiste de um eixo central parenquimático multicelular e uma epiderme secretora em paliçada, sendo estas alongadas ou cubóides em toda extensão do coléter. As células epidérmicas possuem cutícula e paredes delgadas, núcleos conspícuos, deslocados para a região equatorial ou basal e citoplasma abundante. Espaços intercelulares ocorrem com frequência entre as células epidérmicas de *C. alba*, *Coussarea triflora*, *C. verticillata* e *Psychotria sessilis*. Idioblastos cristalíferos contendo ráfides ocorrem no eixo central parenquimático dos coléteres de todas as espécies de Rubioideae. Areia cristalina ocorre apenas em *C. alba* (Cinchonoideae). Traços vasculares foram observados no eixo central parenquimático de *P. longepedunculata* e de *P. marcgravii*. Nas amostras analisadas, a reação positiva aos testes histoquímicos demonstrou que a secreção é de natureza mucilagínosa e protéica. A posição, a variação tipológica, a presença de vascularização, a presença e o tipo de cristal de oxalato de cálcio são características importantes para os estudos de taxonomia e filogenia em Rubiaceae.

ABSTRACT

MATTOS, Karina Lucas Barbosa Lopes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, may, 2011.

Stipulate colleters in Rubiaceae: Morphology, anatomy and histochemistry. Adviser:

Renata Maria Strozi Alves Meira. Co-advisers: Aristéa Alves Azevedo and Zefa Valdivina Pereira.

This chapter aimed to describe the morphology, anatomy and histochemistry of colleters in 10 species belonging to four genera of Rubiaceae occurring in the Reserva Florestal Mata do Paraíso (RFMP), Minas Gerais. This study contributes with information on the diversity of these secretory structures in the family and provides support for future studies on the taxonomy and phylogenetic relationships in Rubiaceae. Samples of vegetative apical meristems of 10 species were processed according to usual techniques using light microscopy and scanning electron microscopy. Histochemical tests were performed on fresh or fixed samples of vegetative apical meristems. Colleters are distributed on the adaxial surface of stipules, on leaf primordia of *Palicourea maracgravii* and also at stipule apices of *Chiococca alba*. Three types of colleters were indentified: standard, bifurcated standard and reduced standard. The general structure of colleters consists of a parenchymatous multicellular palisade secretory epidermis, which are cuboidal or elongated to the full extent of the colleter. The cuticle and epidermal cells have thin walls, conspicuous nuclei, displaced to the equatorial or basal region and abundant cytoplasm. Intercellular spaces often occur between the epidermal cells of *C. alba*, *Coussarea triflora*, *C. verticillata* and *Psychotria sessilis*. Cristal idioblasts containing raphides occur in the parenchyma of the central axis of colleters in all Rubioideae species. Crystalline sand occurs only in *C. alba* (Cinchonoideae). Vascular traces were present in the parenchymatous central axis of *P. longepedunculata* and *P. maracgravii*. In the samples analyzed, the positive reaction to histochemical tests showed that the secretion is of a mucilaginous and protein. The position, the typological variation, vascularity, the presence and type of calcium oxalate crystals are important characteristics for the study of taxonomy and phylogeny of Rubiaceae.

1. INTRODUÇÃO

Coléteres são estruturas secretoras que ocorrem geralmente na superfície adaxial de órgãos reprodutivos e/ou vegetativos jovens de um grande número de famílias de Angiospermas (Thomas 1991).

Na ordem Gentianales, os coléteres são considerados sinapomorfias morfológicas, sendo Rubiaceae a família mais numerosa desta ordem (Robbrecht & Manen 2006). Rubiaceae apresenta cerca de 660 gêneros e aproximadamente 11.150 espécies, incluídas nas subfamílias Cinchonoideae e Rubioideae (Robbrecht & Manen 2006). A variação na morfologia, na distribuição e no número de coléteres tem sido útil em abordagens taxonômicas e interpretações filogenéticas em Rubiaceae (Lersten 1974a, b; Robbrecht 1988; Thomas 1991; Judd et al. 1999).

Em Rubiaceae, os coléteres estão presentes na superfície adaxial ou na margem das estípulas (Lersten 1974a; Thomas 1991), no cálice (Robbrecht 1987; Dave et al. 1988), nas brácteas, nas bractéolas e na corola (Thomas & Dave 1989c). Baseados na morfologia externa e diversidade anatômica, vários tipos de coléteres foram descritos para Rubiaceae: padrão, padrão-reduzido, dendróide, escova, alado e filiforme (Lersten 1974a, b; Thomas 1991). O tipo padrão é considerado o mais comum em Rubiaceae, caracterizado por um eixo central parenquimático revestido por epiderme secretora em paliçada (Lersten 1974a, b). Esta tipologia também foi observada em espécies de outras famílias e gêneros de Gentianales, tais como em *Mandevilla illustris* e *M. velutina* – Apocynaceae (Appezato-da-Glória & Estelita 2000), *Macrosiphonia longiflora*, *Mandevilla tenuifolia*, *Secondatia densiflora* e *S. floribunda* – Apocynaceae (Simões et al. 2006), *Temnadenia violacea* - Apocynaceae (Martins et al. 2010), bem como em representantes de outras famílias não relacionadas, tais como, *Aneulopus africanus* e *Erythroxylum mucronatum* – Erythroxylaceae (Thiebault &

Hoffmann 2005), *Caryocar brasiliensis* – Caryocaraceae (Paiva & Machado 2006) e *Ilex argentina* e *I. dumosa* - Aquifoliaceae (Gonzalez & Tarragó 2009).

A identificação segura dos coléteres com base apenas na morfologia externa e na observação de órgãos foliares expandidos pode gerar confusões, pois essas estruturas podem não persistir após a fase secretora. Por isso, estudos anatômicos e histoquímicos em porções meristemáticas ou botões florais são importantes para descrever a tipologia, a posição e a natureza química da secreção dos coléteres.

A secreção produzida pelos coléteres é constituída por mucilagem ou uma mistura de mucilagem e substâncias lipofílicas e proteínas, que possui consistência pegajosa e tem sido relacionada com a proteção de meristemas e órgãos em desenvolvimento, lubrificando e protegendo contra dessecação e/ou contra o ataque de herbívoros e patógenos (Fahn 1979; Thomas 1991; Evert 2007).

As espécies de Rubiaceae representam um dos principais componentes da flora da Mata Atlântica e apresentam grande diversidade de espécies na Reserva Florestal Mata do Paraíso (RFMP) (Pereira et al. 2006), uma unidade de conservação que faz parte dos domínios da floresta Atlântica (Rizzini 1992) administrada pela Universidade Federal de Viçosa-MG. Portanto, dado à falta de informações sobre os coléteres das espécies selecionadas para o presente estudo e visando fornecer subsídios para futuros trabalhos de taxonomia e relações filogenéticas na família, procedeu-se à caracterização morfoanatômica e histoquímica dos coléteres de 10 espécies, incluídas em 4 gêneros de Rubiaceae ocorrentes na RFMP.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas dez espécies pertencentes a quatro gêneros abrangendo as duas subfamílias (Rubioidae e Cinchonoideae) de Rubiaceae (Tabela 1) a partir da análise da listagem elaborada por Pereira et al. (2006). Para a seleção das amostras foram consideradas:

1. facilidade de reconhecimento das plantas em campo, visto que foram necessárias coletas de amostras frescas para as análises histoquímicas;
2. gêneros com maior número de espécies, como no caso de *Psychotria* e *Palicourea*;
3. gêneros que incluíssem representantes das duas subfamílias de Rubiaceae.

Meristemas apicais vegetativos das espécies foram coletados na Reserva Florestal Mata do Paraíso (RFMP), Viçosa, Minas Gerais, localizada entre 20°45' S, 42°55' W e a uma altitude média de 690m. A vegetação natural da reserva faz parte dos domínios da Floresta Atlântica (Rizzini 1992) e trata-se de um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual Submontana (Veloso et al. 1991). Ramos férteis das espécies foram coletados em campo, herborizados e incorporados ao acervo do Herbário VIC da Universidade Federal de Viçosa (Tabela 1). A identidade do material foi confirmada por especialista.

Tabela 1. Lista de 10 espécies de Rubiaceae estudadas com os números de registro do herbário VIC da Universidade Federal de Viçosa

Subfamília	Tribo	Espécies	Nº de registro
Cinchonoideae	Chiococceae	<i>Chiococca alba</i> (L.) Hitchc	31.856
Rubioidae	Coussareae	<i>Coussarea triflora</i> Müll.Arg	32.648
		<i>C. verticillata</i> Müll.Arg	31.946
	Psychotrieae	<i>Palicourea longepedunculata</i> Gardner	31.859
		<i>P. marcgravii</i> A. ST.-Hil	31.860
		<i>Psychotria conjugens</i> Müll. Arg	31.863
		<i>P. hastisepala</i> Müll. Arg	32.644
		<i>P. hygrophiloides</i> Benth	32.651
		<i>P. myriantha</i> Müll. Arg	32.645
		<i>P. sessilis</i> Vell.	32.643

Para análise geral da distribuição e estrutura dos coléteres em microscopia de luz, amostras de meristemas apicais vegetativos (3 exemplares) das 10 espécies foram fixadas em FAA (formaldeído, ácido acético glacial, etanol 50%, 1:1: 18, v/v) por 48 horas e, posteriormente, estocadas em etanol 70% (Johansen 1940). As amostras foram desidratadas em série etílica e etílica-butílica, e incluídas em metacrilato (Historesin, Leica) e em parafina histológica com DMSO (Histosec, Merck), respectivamente. As secções transversais e longitudinais seriadas (6 ou 10 µm de espessura) foram obtidas com o auxílio de um micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, US). Para as amostras incluídas em parafina histológica, após a desparafinização, os cortes foram corados com safranina (solução aquosa) e azul de Astra (Gerlach 1969). Já aqueles incluídos em metacrilato, foram submetidos à coloração com azul de Toluidina pH 4 (Johansen 1940). As lâminas foram montadas com resina sintética (Permout, Fisher).

Para o estudo da micromorfologia em microscópio eletrônico de varredura, amostras de estípulas de *Palicourea longepedunculata* e *Psychotria hygrophiloides* foram fixadas em FAA, por 48 horas e estocadas em etanol 70%. Posteriormente, foram desidratadas em série acetônica e levadas à secagem ao ponto crítico (Bozzola & Russel 1992), utilizando-se equipamento CPD030 (Balzers). Após a montagem do material nos suportes, procedeu-se a deposição metálica com ouro (Bozzola & Russel 1992) utilizando-se equipamento Sputter Coater FDU 010 (Balzers). A investigação e documentação do material foram efetuadas em microscópio eletrônico de varredura (Leo 1430VP, da Zeiss, Heidelberg, Alemanha) do Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV.

Testes histoquímicos foram realizados tanto em amostras frescas, cortadas em micrótomo de mesa (Rolemberg and Bhering Comércio e Importação LTDA, Belo Horizonte, Brazil) quanto naquelas incluídas em parafina histológica, cortadas em micrótomo rotativo (Leica 2155, Leica, Deerfield, IL, US). Foram avaliados os meristemas caulinares vegetativos

de *Chiococca alba*, *Palicourea longepedunculata*, *P. marcgravii* e *Psychotria hygrophiloides*. Secções transversais e longitudinais destas amostras foram submetidas ao Lugol (Jensen 1962) para detecção de amido; ácido periódico/reagente de Schiff (McManaus 1948) para polissacarídeos totais; vermelho de Rutênio (Johansen 1940) para pectinas e mucilagens; dicromato de potássio (Gabe 1968) para compostos fenólicos gerais; reagente de Wagner (Furr & Mahlberg 1981) para alcalóides; Sudan IV (Pearse 1980) para lipídios; vermelho neutro (Kirk Junior 1970) para lipídios totais observado sob luz UV; reagente de Nadi (David & Carde 1964) para óleos essenciais e óleo-resinas; Xilidine Ponceau (O'Brien & McCully 1981) para proteínas totais. Parte das amostras foi analisada em microscopia de luz fluorescente utilizando-se filtro UV (300 nm) visando detectar a autofluorescência de compostos fenólicos e a fluorescência induzida. As lâminas foram montadas com água glicerizada.

As observações e a documentação fotográfica do laminário permanente foram realizadas em microscópio de luz (modelo AX70TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japan) equipado com sistema U-Photo. Foram também obtidas imagens dos coléteres em lupa estereoscópica (modelo SZX7, Olympus Optical) acoplado com câmera digital (modelo EVOLT E-300 Olympus). A mensuração dos coléteres foi obtida com lâmina micrométrica.

3. RESULTADOS

Os coléteres se encontram distribuídos na superfície adaxial das estípulas em todas as espécies estudadas (Figs. 1A-F, 4B, 2A, 2F, 3A-B, 3D), ocorrendo também nos primórdios foliares de *Palicourea marcgravii* (Fig. 1D) e no ápice da estípula de *Chiococca alba* (Fig. 1E e 1F).

Ocorrem três tipos de coléteres nas espécies estudadas. O tipo padrão e padrão bifurcado foram verificados em *Palicourea longepedunculata* (Figs. 1B, 2A-D, 6A-B) e *Psychotria hygrophiloides* (Figs. 3A-C, 5C), com a ramificação ocorrendo no terço apical e basal da estrutura, originando nesta região dois segmentos. Já o tipo padrão pode ser observado em *Coussarea triflora* (Fig. 4A) e *C. verticillata* (Figs. 4B- D), *P. marcgravii* (Figs. 2E e 2F), *P. conjugens* (Fig. 3E), *P. hastisepala* (Figs. 3D), *P. myriantha* (Fig. 3F) e *P. sessilis* (Fig. 3G). O tipo padrão curto ocorre apenas em *Chiococca alba* (4E). O tipo padrão curto difere do tipo padrão por apresentar a base alargada e ápice estreito, formando uma estrutura em forma de gota.

Quanto ao tamanho, foram observadas variações no comprimento dos coléteres estipulares. Em *Chiococca alba* foram observados os menores coléteres (Fig. 4E), variando de 215 a 320µm, enquanto em *Palicourea longepedunculata* ocorrem os maiores coléteres (Fig. 1B, 2A), variando de 600 a 2000 µm. Tricomas multicelulares não ramificados acompanham os coléteres de *Coussarea triflora*, *C. verticillata* (Fig. 4C), *Palicourea longepedunculata* (5A), *P. marcgravii* (Fig. 1C), *Psychotria conjugens*, *P. hastisepala* e *P. myriantha*.

A secreção produzida pelos coléteres é constituída por um fluido viscoso que preenche os espaços entre as estípulas, recobrando e protegendo o meristema apical e os primórdios foliares em desenvolvimento. Após a fase secretora, os coléteres de todas as

espécies entram em fase de senescência, marcada pela aquisição de coloração marrom escuro dos coléteres do ápice para a base. As estípulas são decíduas e caem após a expansão foliar, exceto em *Palicourea longipedunculata* e *P. marcgravii*, que são persistentes. Nestas espécies, os coléteres não funcionais podem persistir na base das estípulas.

Uma pequena constrição pode ser visualizada na base dos coléteres de *Palicourea longipedunculata* (Fig. 2A), *Psychotria hastisepala* (Fig. 3D) e *P. hygrophiloides*, pedúnculo alongado em *Coussarea triflora* (Fig. 4A), *C. verticillata* (Fig. 4B) e *P. hygrophiloides* (Fig. 3A). O eixo central parenquimático de todos os tipos observados é multicelular e multisseriado (Figs. 2B-E, 3A-B, 3E-G 4A-F). As células do eixo parenquimático central são axialmente alongadas e possuem núcleo volumoso, citoplasma reduzido e vacúolos desenvolvidos (Figs. 4F, 2C). Traços vasculares foram observados no eixo central somente das duas espécies de *Palicourea* (Figs. 2B, 2F).

A epiderme secretora que reveste o eixo é uniestratificada e constituída por células alongadas em paliçada (Figs. 2A-D, 3A, 3B, 3F), exceto em *Palicourea marcgravii* (Fig. 2E) e *Psychotria sessilis* (Fig. 3E), onde as células são mais curtas. Estas células apresentam paredes delgadas, citoplasma denso e núcleos deslocados para a região equatorial (Figs. 4F), exceto em *P. longipedunculata* cujos núcleos são deslocados para a região basal (Fig. 2B). Espaços intercelulares ocorrem com frequência entre as células epidérmicas de *Chiococca alba* (Figs. 4E, 4F), *Coussarea triflora*, *C. verticillata* (Figs. 4B-D), *P. conjugens* e *P. sessilis* (Figs. 3G). Além disso, um espessamento foi verificado na parede periclinal interna das células epidérmicas secretoras de *C. alba*, *C. triflora* e *C. verticillata* (Fig. 4D).

Idioblastos cristalíferos contendo ráfides ocorrem no eixo central parenquimático dos coléteres de todas as espécies de Rubioideae (Fig. 2C). Areia cristalina foi verificado apenas em *Chiococca alba* (Cinchonoideae).

A secreção reagiu positivamente em todas as espécies analisadas ao testes de ácido periódico/reagente de Schiff para polissacarídeos totais (Figs. 6A-C) e ao vermelho de Rutênio para pectinas e mucilagens, sendo positivo também ao teste de xilidine Ponceau para proteínas totais em *Psychotria hygrophiloides*, *Palicourea longepedunculata* (Fig. 6D) e *P. marcgravii* (Fig. 6E). A secreção reagiu negativamente para os testes que visavam evidenciar compostos fenólicos, lipídicos e para terpenóides.

Foi observado acúmulo de secreção produzida nos espaços intercelulares das células epidérmicas dos coléteres de *Chiococca alba*, *Coussarea triflora*, *C. verticillata*, *Psychotria conjugens* e *P. sessilis*. Já em *Palicourea longepedunculata*, este acúmulo foi evidenciado nos espaços intercelulares das células epidérmicas dos coléteres e no espaço periplasmático (Fig. 6F). Cabe ainda ressaltar que, a secreção pode ser observada no meio externo dos coléteres de todas as espécies (2C, 3A, 5B, 5C), embora não tenham sido notados sinais de distensão ou rompimento da cutícula.

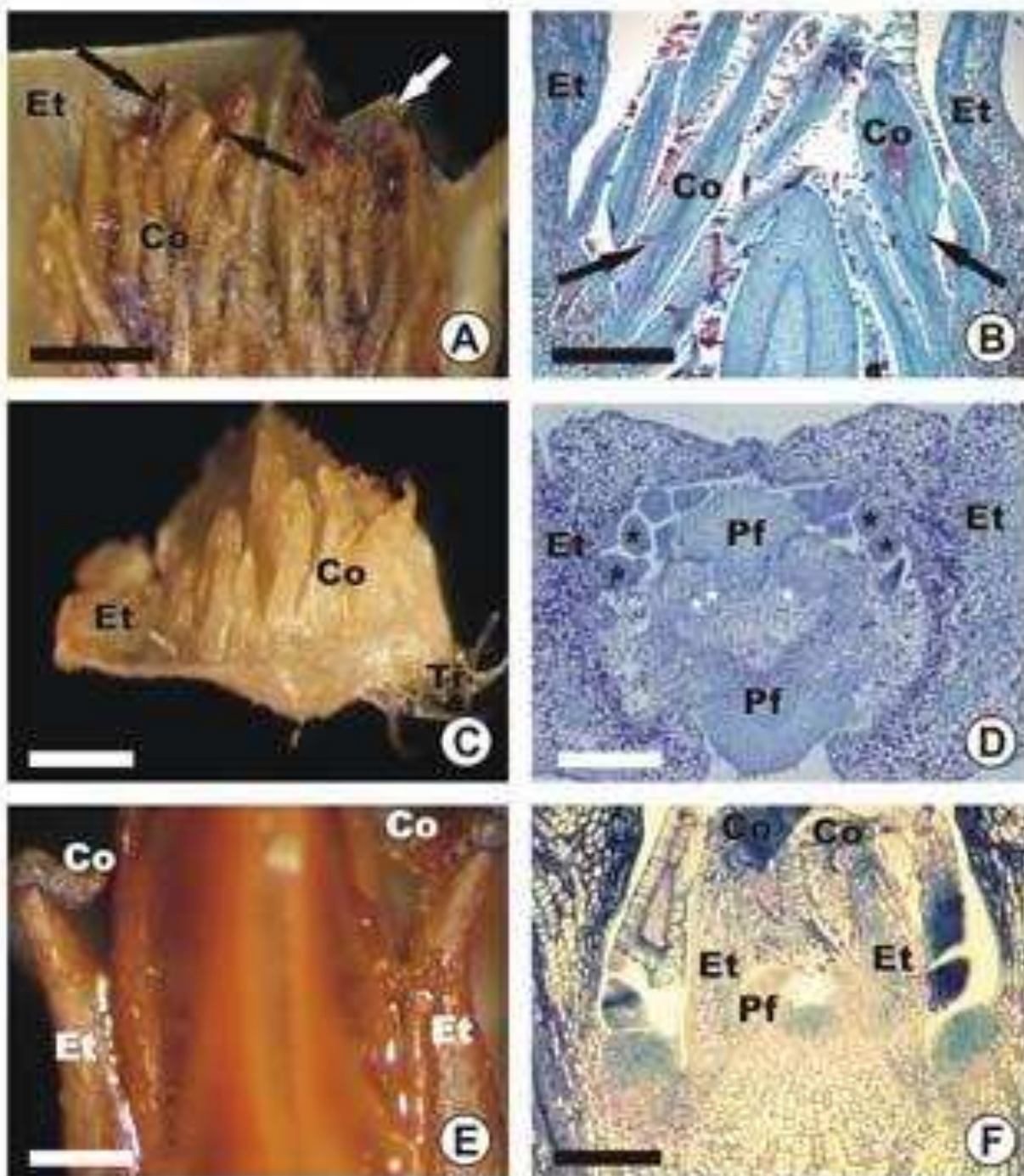


Figura 1. Coléteres de *Palicourea longepedunculata* (A-B), *P. marcgravii* (C-D) e *Chiococca alba* (E-F). A, C, E. Vista geral sob microscópio estereoscópio. B, D secções longitudinais e F secção transversal de meristemas apicais vegetativos. B. Coléteres padrão e padrão bifurcado (setas) na base das estípulas. D. Coléteres padrão distribuídos na superfície adaxial das estípulas (asteriscos pretos) e entre os primórdios foliares (asteriscos brancos). E-F. Coléteres padrão curto presentes no ápice da estípula. (Co= coléter; Et= estípula; Pf= primórdio foliar; Tr= tricomas). Barras= 1,5 mm (A), 1 mm (E), 700µm (B), 1,2 mm (C), 400µm (D), 200µm (F).

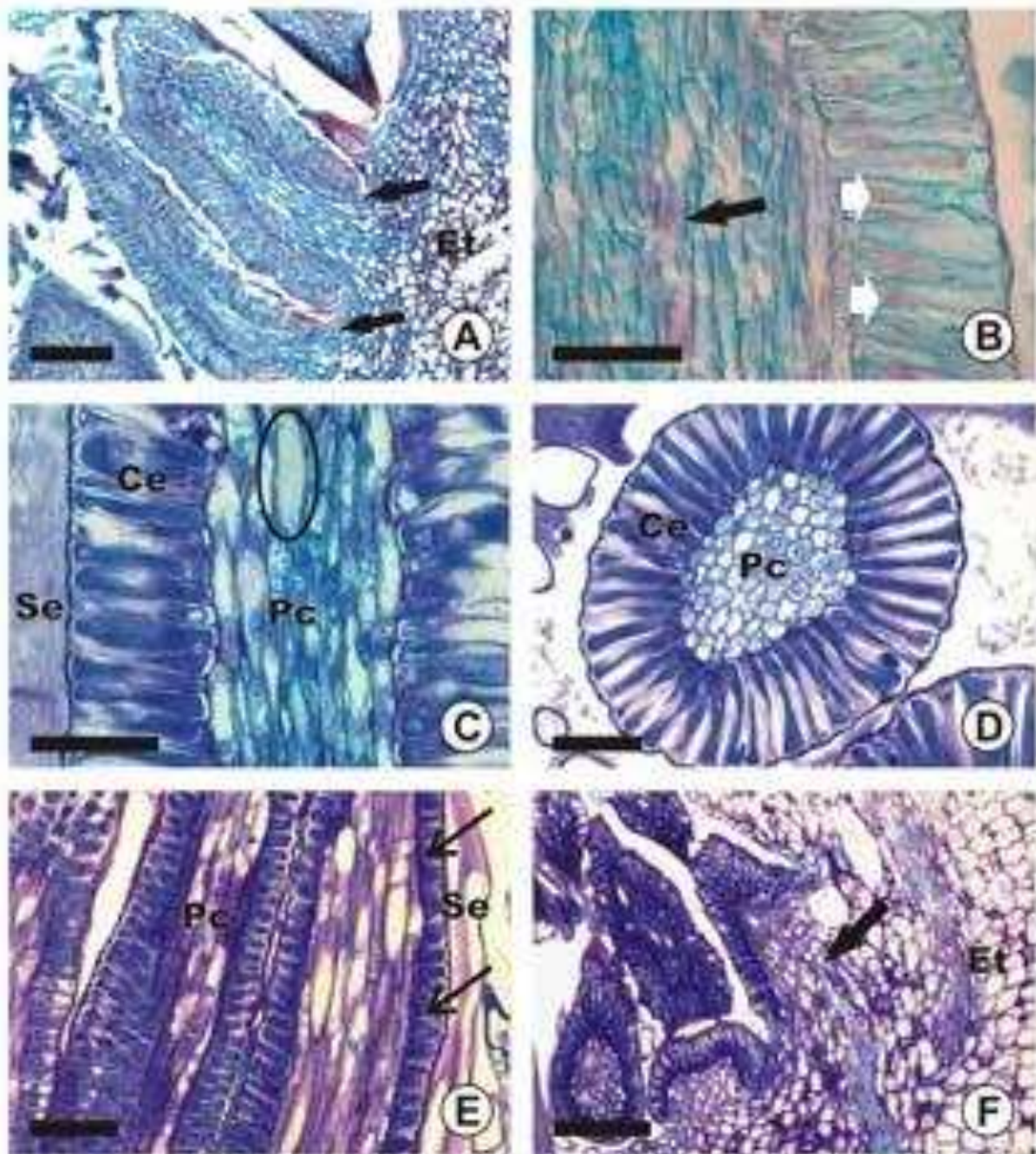


Figura 2. A-F. Estrutura dos coléteres padrão em *Palicourea* (A-C e E-F, secções longitudinais; D, secção transversal). A-D. *Palicourea longepedunculata*. A. Coléteres com constrição na base (setas). B. Detalhe evidenciando a vascularização no eixo central parenquimático (seta preta) e núcleos em posição basal (setas brancas) nas células epidérmicas secretoras. C. Idioblastos cristalíferos contendo ráfides no eixo central parenquimático do coléter (círculo). D. Secção transversal da porção superior do coléter evidenciando o eixo central parenquimático e a epiderme uniestratificada. E-F. *P. marcgravii*. E. Estrutura geral do coléter evidenciando as células epidérmicas secretoras curtas (setas). F. Vascularização no eixo central parenquimático do coléter (seta). (Ce= células epidérmicas; Et= estípula; Pc= parênquima central; Se= secreção). Barras= 150µm (A, F), 50µm (B, C, D, E).

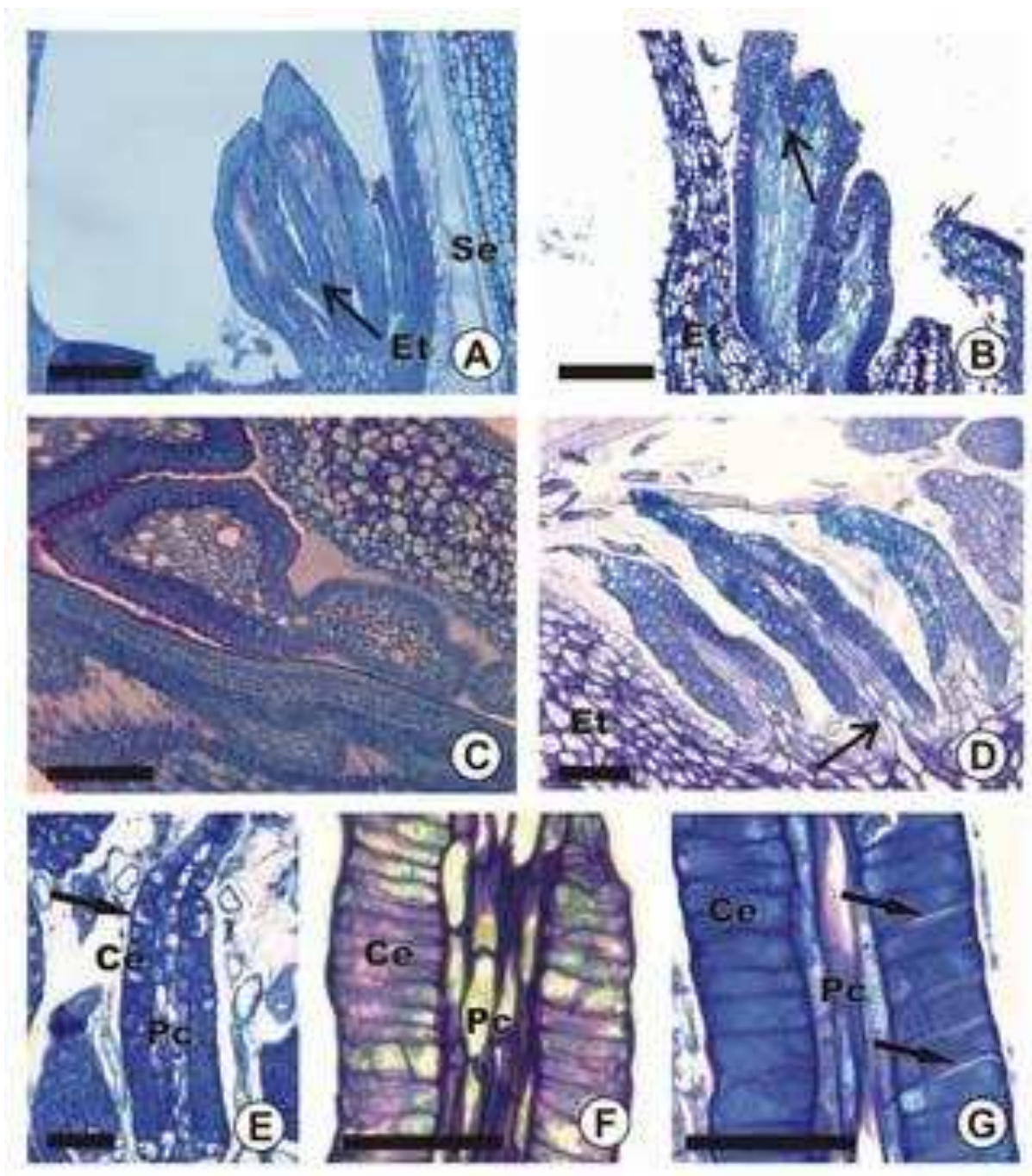


Figura 3. Coléteres em espécies de *Psychotria* (A, B, D, E-G, secções longitudinais; C, secção transversal). **A-C.** *P. hygrophiloides*. **A-B.** Coléteres bifurcados (seta). **C.** Secção transversal do coléter bifurcado. **D.** *P. hastsepala*. Coléter padrão. Vista geral evidenciando a constrição na base do coléter (seta). **E.** *P. conjugens*. Coléter padrão. **F.** Detalhe da porção mediana do coléter de *P. myriantha*. **G.** *P. sessilis*. Estrutura geral do coléter evidenciando as células epidérmicas secretoras com espaços intercelulares (setas pretas). (Ce= células epidérmicas; Et= estípula; Pc= parênquima central; Se= secreção). Barras= 150µm (A, B, D), 100µm (C), 50 µm (E, F, G).

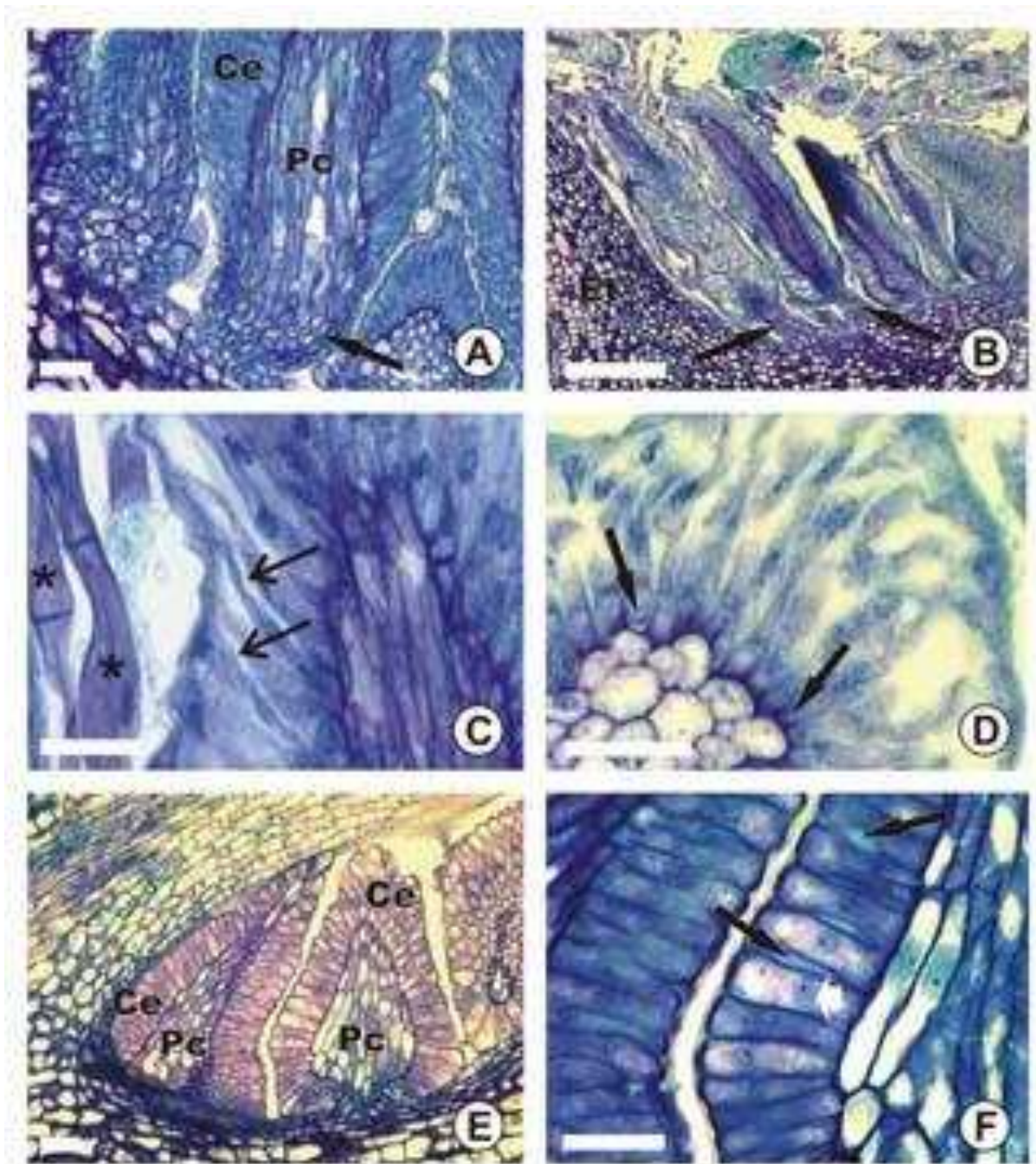


Figura 4. Estrutura dos coléteres em espécies de Rubiaceae (A-C, E-F secções longitudinais; D, secção transversal). **A.** *Coussarea triflora*. Detalhe das células epidérmicas alongadas axialmente e pedúnculo alongado (seta). **B-D.** *C. verticillata*. **B.** Estrutura geral evidenciando o pedúnculo alongado (setas). **C.** Detalhe das células epidérmicas secretoras alongadas axialmente e parcialmente separadas uma das outras (setas pretas). Notar tricomas não ramificados multicelulares (*). **D.** Detalhe do coléter evidenciando o espessamento na parede periclinal interna das células epidérmicas secretoras (setas). **E-F.** *Chiococca alba*. Coléteres padrão curto. **E.** Estrutura geral. **F.** Detalhe das células epidérmicas secretoras com espaços intercelulares (setas pretas) e núcleos em posição equatorial (seta branca). (Ce= células epidérmicas; Et= estípula; Pc= parênquima central). Barras= 30 μ m (A,C, D, E, F), 300 μ m (B).

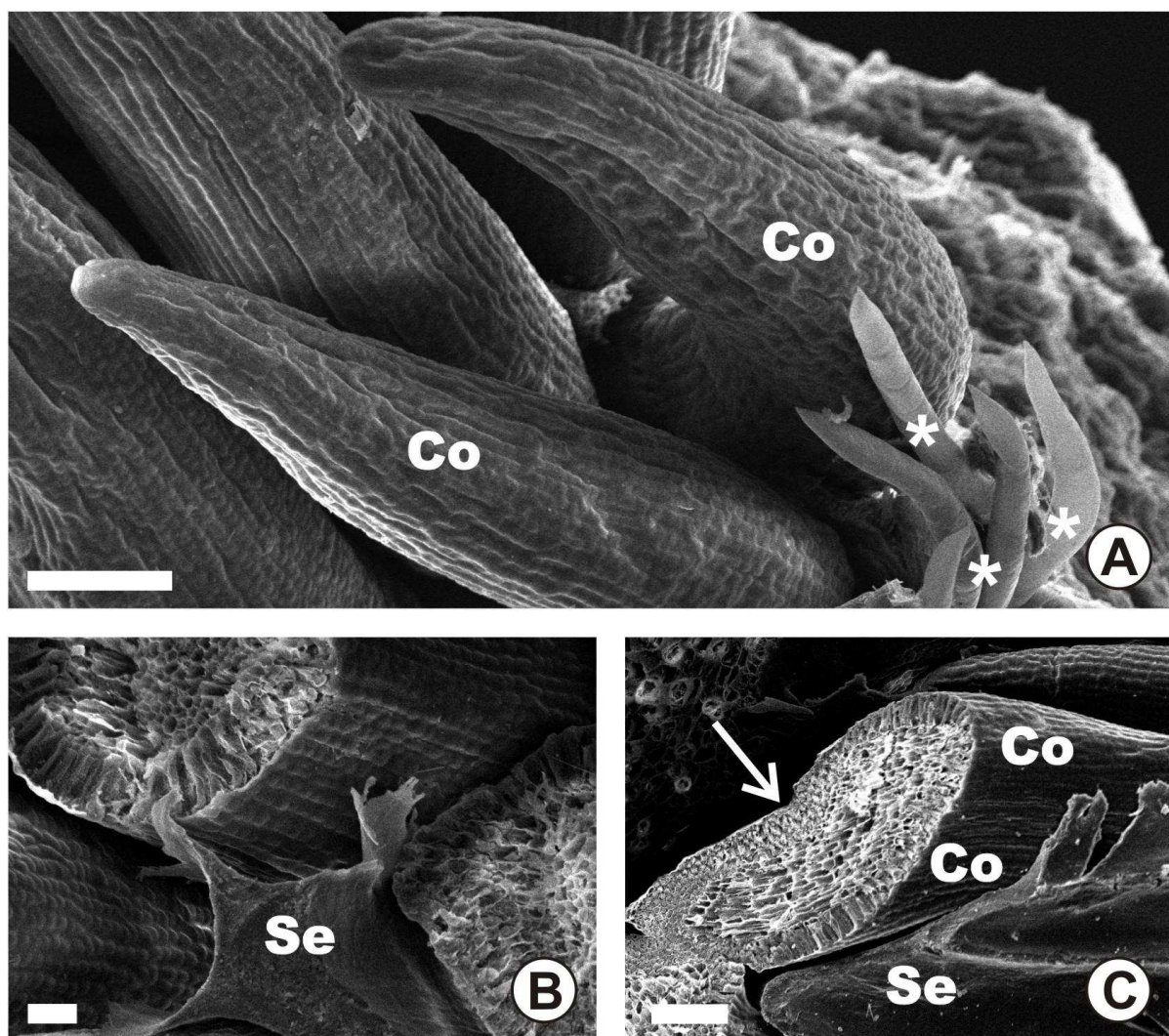


Figura 5. Microscopia eletrônica de varredura. Coléteres de *Palicourea longepedunculata* (A-B) e *Psychotria hygrophiloides* (C). A. Detalhes dos coléteres padrão e tricomas (*). B-C. Detalhe dos coléteres cobertos por secreção. Notar bifurcação no terço apical do coléter (seta) em C. (Co=coléter; Se= secreção; Tr=tricomas). Barras= (A, B, C, D)100μm.

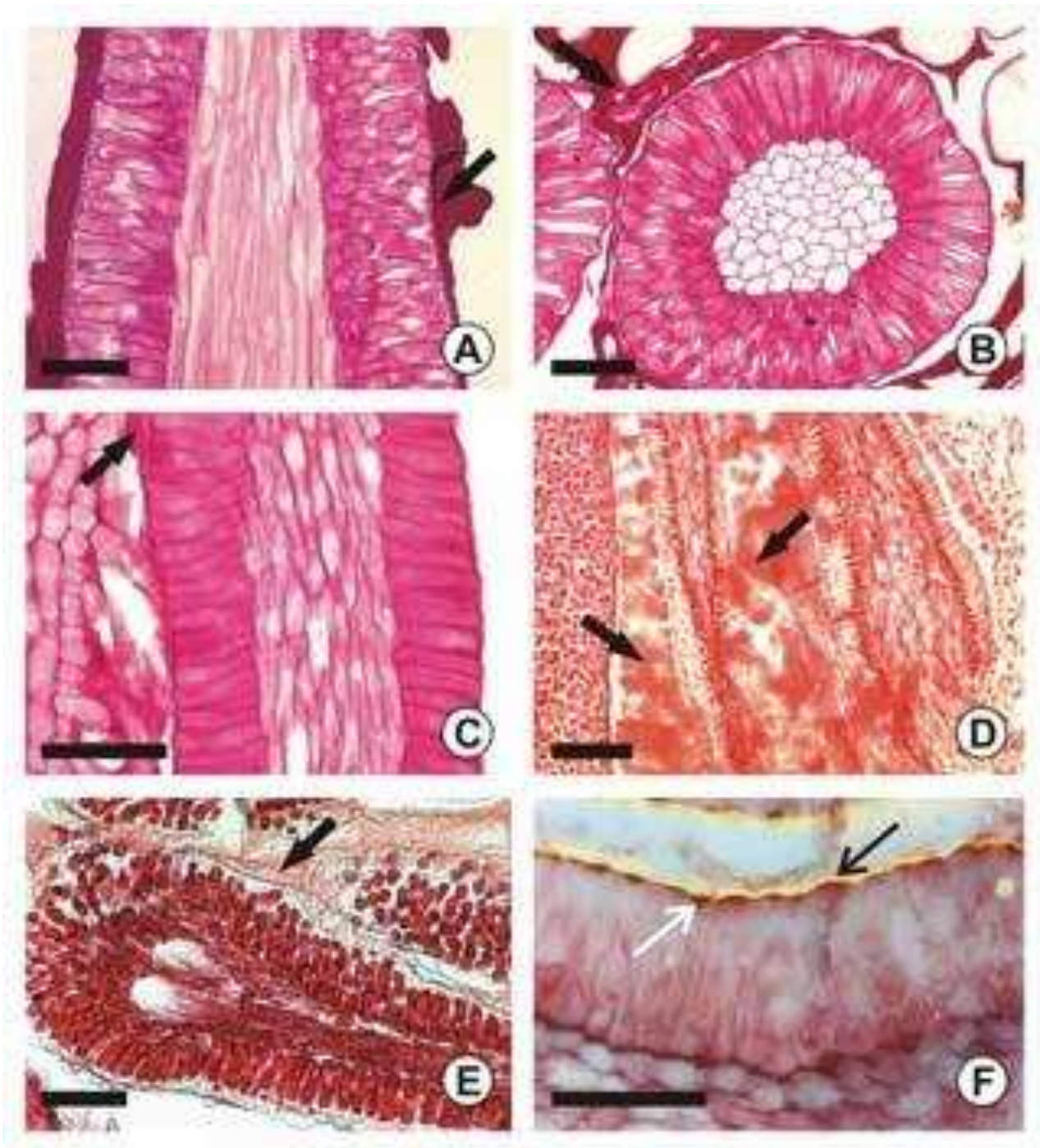


Figura 6. Histoquímica dos coléteres de espécies de Rubiaceae (A, C-F secções longitudinais; B secção transversal). **A-B.** *Palicourea longepedunculata*. Detecção de polissacarídeos totais na secreção dos coléteres (setas) evidenciados pelo Ácido Periódico-reagente de Schiff's (PAS). **C.** *Psychotria hygrophiloides*. Detecção de polissacarídeos totais na secreção dos coléteres (setas) evidenciados pelo Ácido Periódico-reagente de Schiff's (PAS). **D-E.** Detecção de proteínas totais na secreção dos coléteres (setas) de *P. longepedunculata* e *P. marcgravii*, respectivamente, evidenciados pelo XP. **F.** *P. longepedunculata*. Cutícula evidenciada por fluorescência pelo Vermelho neutro (seta preta). Notar acúmulo de secreção no espaço periplasmático (seta branca). Barras= 50µm (A-D, F), 100µm (E).

4. DISCUSSÃO

A presença de coléteres na superfície adaxial das estípulas de todas as espécies estudadas mostra-se como um padrão comum dentre as Rubiaceae. Coléteres no ápice da estípula, como os observados em *Chiococca alba*, também foram relatados para *Chiococca racemosa* (Lersten 1975), o que pode ser um indício de um caráter comum para o gênero, que apresenta cerca de 40 espécies distribuídas na América do Norte, Central e do Sul (Andersson 1992). Portanto, são necessários estudos em um número maior de espécies de *Chiococca* para averiguar a relevância deste caráter como um marcador morfológico útil para abordagens taxonômicas e filogenéticas.

A ocorrência de coléteres nos primórdios foliares, como observado em *Palicourea marcgravii*, foi descrita apenas para *Aitchisonia* (Puff 1982) e *Psychotria nuda* (Miguel et al. 2009). A falta de informações sobre os coléteres foliares em um maior número de táxons de Rubiaceae é um problema de amostragem, pois para se ter certeza da presença dos coléteres da base dos primórdios foliares é necessário avaliar regiões meristemáticas, uma vez que essas estruturas não persistem na folha expandida.

Variações na morfologia e tamanho dos coléteres foram observadas nas espécies estudadas. Lersten (1974b) realizou um vasto estudo sobre coléteres em Rubiaceae de diferentes procedências e correlacionou as diferenças de tamanho com a distribuição geográfica. Assim, coléteres de tamanho médio (783µm) foram comuns nas espécies dos neotrópicos, sendo que em espécies de *Psychotria* da América do Sul, os coléteres apresentaram tamanhos de 150 a 2.600µm. Essa correlação não foi corroborada pelos dados obtidos no presente trabalho, pois os coléteres das cinco espécies estudadas de *Psychotria* procedentes da Mata Atlântica alcançam até 750µm, tamanho relativamente inferior ao encontrado para os coléteres de *Psychotria* da América do Sul (Lersten 1974b).

A formação de espaços intercelulares nas células epidérmicas é relatada pela primeira vez no presente estudo para os gêneros *Chiococca* e *Coussarea*, ocorrendo também em *Psychotria sessilis*. Em Rubiaceae, essa mesma característica foi visualizada apenas para algumas espécies de *Psychotria* (Lerstern 1974b). Em Apocynaceae, a dissolução da lamela média das paredes radiais das células epidérmicas, com a formação de fendas e a liberação da secreção para o interior destas, foi relatada para *Plumeria rubra* (Mohan & Inamdar 1986) e *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Appezzato-da-Glória & Estelita 2000). A secreção também pode ser visualizada nos espaços intercelulares das espécies citadas nesse trabalho.

O espessamento da parede periclinal interna das células epidérmicas secretoras observadas em *Chiococca alba*, *Coussarea triflora* e *C. verticillata* pode estar relacionado com o direcionamento do fluxo de secreção via simplasto para o exterior do coléter, impedindo o refluxo, isolando a região secretora da porção parenquimática do coléter. A deposição diferencial de parede tem sido observada na base de tricomas secretores, onde foi sugerido o mesmo mecanismo de direcionar e impedir o refluxo de secreção (Fahn 1979; Subramanian & Inamdar 1986; Ascensão et al. 1997; Leitão et al. 2005).

Traços vasculares foram observados no eixo central parenquimático somente dos coléteres das duas espécies de *Palicourea* estudadas. A presença de vascularização em coléteres de Rubiaceae só foi relatada para *Simira glaziovii* (Klein et al. 2004), *Bathysa stipulata* e *B. gymnocarpa* (Miguel et al. 2010). No presente trabalho, a presença de traços vasculares é mais uma característica anatômica utilizada para distinguir as espécies de *Palicourea* de *Psychotria* ocorrentes na RFMP.

Não existe consenso quanto à importância da presença de vascularização nos coléteres. Foi sugerido que se trata somente da proximidade dessas estruturas com os traços vasculares do órgão em que se encontram (Appezzato-da-Glória & Estelita 2000), como observado em *Palicourea marcgravii* no presente estudo. Quando não existe vascularização, a

condução dos precursores da secreção até a epiderme secretora pode ser feita via célula-a-célula pelos tecidos da estípula passando pelo parênquima central do coléter, como sugerido para *Caryocar brasiliensis* – Caryocaraceae (Paiva & Machado 2006).

Os coléteres das espécies estudadas foram classificados em padrão, padrão bifurcado e padrão curto. Os coléteres tipo padrão são considerados comuns em Rubiaceae (Lersten 1974a, b) e foram observados nas espécies de *Psychotria* e de *Palicourea* estudadas. O registro de coléter do tipo padrão em *Palicourea* é inédito para o gênero e em *Psychotria*, confirma os dados de literatura (Lersten 1974b; Vitarelli & Santos 2009). O padrão bifurcado registrado para *P. longepedunculata* e *P. hygrophiloides* foi descrito recentemente para espécies de Apocynaceae como uma derivação morfológica do tipo padrão (Simões et al. 2006; Martins 2010) e observado em *Bathysa cuspidata* - Rubiaceae (Coelho 2009). O tipo padrão curto é um registro inédito para o gênero *Chiococca*. Esta denominação se deve ao fato do tipo observado não se enquadrar perfeitamente nas classificações propostas, o que reforça a necessidade de uma revisão da terminologia utilizada para descrever os tipos de coléteres.

As diferenças nos tipos de coléteres observados nas dez espécies representam caracteres úteis para a distinção entre espécies e gêneros. No caso de *Palicourea* e *Psychotria* (*Psychotrieae*), traços vasculares foram observados no eixo central somente das duas espécies de *Palicourea*. Este é um aspecto importante, uma vez que ambos os gêneros são morfológicamente difíceis de serem distintos e cuja circunscrição é assunto de discussão (Taylor 1989; 1996).

Na base dos coléteres de *Palicourea longepedunculata*, *Psychotria hastisepala* e *P. hygrophiloides* é possível observar uma pequena constrição. Situação semelhante ocorre em outras espécies de Rubiaceae, como em *Psychotria vellosiana* (Da cunha & Vieira 1997), espécies de *Simira* (Klein et al. 2004), *Bathysa stipulata* e *B. gymnocarpa* (Miguel et al.

2010). A diversidade no comprimento, forma e desenvolvimento da constrição basal, do eixo central parenquimático e do pedúnculo, bem como a vascularização do eixo central são características observadas em Rubiaceae (Robbrecht 1988; Miguel et al. 2009).

Idioblastos cristalíferos contendo ráfides ocorrem no eixo central parenquimático dos coléteres de todas as espécies de Rubioideae. Já areia cristalina ocorre na espécie estudada de Cinchonoideae. Portanto, o tipo de cristal de oxalato de cálcio que ocorre nos coléteres das espécies do presente trabalho confirma a importância deste caráter na delimitação das subfamílias, como já proposto por Robbrecht e Manen (2006).

O acúmulo de secreção visualizado no espaço periplasmático e/ou espaços intercelulares nas células epidérmicas, e posterior liberação para o meio externo através de regiões permeáveis da cutícula, pode ser a forma de eliminação da secreção, pois não foi observado distensão ou rompimento da cutícula. Esse mecanismo de liberação da secreção sem ruptura da cutícula também foi verificado em outras espécies de Rubiaceae - *Psychotria carthagenensis* (Vitarelli & Santos 2009), em Apocynaceae - *Plumeria* (Mohan & Inamdar 1986), *Allamanda* (Thomas & Dave 1989a), *Mandevilla* (Appezato-da-Glória & Estelita 2000), *Temnadenia violacea* (Martins et al. 2010) e Leguminosae - *Copaifera langsdorffii* (Paiva 2009).

A secreção dos coléteres de *Chiococca alba*, *Palicourea longepedunculata*, *P. marcgravii* e *Psychotria hygrophiloides* reagiu positivamente para polissacarídeos, pectinas e mucilagens, sendo também positivo para proteínas totais em *P. longepedunculata*, *P. marcgravii* e *P. hygrophiloides*. A secreção de mucilagens e pectinas pelos coléteres recobre as estípulas, as folhas jovens e o meristema apical, protegendo contra dessecação (Solereder 1908; Fahn 1979; Thomas 1991). Tal característica é importante para a lubrificação e proteção do ápice caulinar das espécies estudadas, já que se desenvolvem nas bordas ou clareiras da mata, e estão sujeitas a pelo menos dois meses de menor disponibilidade hídrica.

Já as proteínas podem estar associadas na proteção contra ataque de microorganismos e insetos, como proposto para as espécies de *Simira* (Klein et al. 2004) e de *Ilex* (Gonzalez & Tarragó 2009).

Os coléteres de todas as espécies estudadas entram em senescência após a fase secretora, visualizada pela aquisição de coloração marrom escuro dos coléteres do ápice para a base, o que está de acordo com as observações registradas na literatura (Thomas 1991; Appezzato-da-Glória & Estelita 2000; Miguel et al. 2010).

Em síntese, os resultados demonstram que, em coléteres, a posição, a variação tipológica, a presença de vascularização, a presença e o tipo de cristal de oxalato de cálcio são características importantes para os estudos de taxonomia e filogenia em Rubiaceae, pois auxiliam na distinção de Rubioideae e Cinchonoideae e contribuem para separação de *Palicourea* e *Psychotria* (Psychotrieae).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersson L (1992) A provisional checklist of Neotropical Rubiaceae. *Scripta Botanica Belgica* **1**, 1-199.
- Ascensão L, Marques N, Pais MS (1997) Peltate glandular trichomes of *Leonotis leonurus* leaves: ultrastructure and histochemical characterization of secretions. *International Journal of Plant Sciences* **158**, 249-258.
- Appezato-da-Glória B, Estelita MEM (2000) Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **23**, 113-120.
- Bozzola JJ, Russel LD (1992) 'Electron microscopy.' (Jones and Bartlett Publishers: Boston).
- Coelho VPM (2009) Anatomia do caule (casca e lenho), da folha e coléter de *Bathysa cuspidata* (St. Hil.) Hook f. (Rubiaceae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.
- Da Cunha M, Vieira RC (1997) Anatomia foliar de *Psychotria vellosiana* Benth. (Rubiaceae). *Rodriguésia* **49**, 39-50.
- David R, Carde JP (1964) Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences Paris, Série D* **258**, 1338-1340.
- Dave Y, Kuriachen PM, Thomas V (1988) Development, structure and senescence of colleters in *Gardenia lucida* Roxb. (Rubiaceae). *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **57**, 3-7.
- Evert, RF (2007) 'Esau's plant anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: their structure, function, and development.' (John Wiley & Sons: Hoboken, New Jersey).
- Fahn A (1979) 'Secretory tissues in plants.' 1st edn. (Academic Press: London, UK).
- Furr M, Mahlberg PG (1981) Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products* **44**, 153-159.

- Gabe M (1968) 'Techniques histologiques.' (Masson et Cie: Paris, France).
- Gerlach G (1969) 'Botanische Mikrotechnik.' (Gorg Thieme: Stuttgart).
- Gonzalez AM, Tarragó JR (2009) Anatomical structure and secretion compounds of colleters in nine *Ilex* species (Aquifoliaceae) from Southern America. *Botanical Journal of the Linnean Society* **160**, 197-210.
- Jensen WA (1962) 'Botanical histochemistry: principles and practice.' (WH Freeman: San Francisco).
- Johansen DA (1940) 'Plant Microtechnique.' (McGraw- Hill Book: New York).
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Steves PS (1999) 'Plant systematics: a phylogenetic approach.' (Sinuauer Associates: Sunderland).
- Kirk Junior PW (1970) Neutral red as a lipid fluorochrome. *Stain Technology* **45**, 1-4.
- Klein DE, Gomes VM, Silva-Neto SJ, Da Cunha M (2004) The Structure of Colleters in Several Species of *Simira* (Rubiaceae). *Annals of Botany* **94**, 733-740.
- Leitão CAE, Meira R MSA, Azevedo AA Araújo JM, Silva KLF, Collevatti RG (2005) *Canadian Journal of Botany* **83**, 279-286.
- Lersten NR (1974a) Colleter morphology in *Pavetta*, *Neorosea* and *Tricalysia* (Rubiaceae) and its relationship to the bacterial leaf nodule symbiosis. *Botanical Journal of the Linnean Society* **69**, 125-136.
- Lersten NR (1974b) Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* **61**, 973-981.
- Lersten NR (1975) Colleter types in Rubiaceae, especially in relation to the bacterial leaf nodule symbiosis. *Botanical Journal of the Linnean Society* **71**, 311-319.
- McManus JFA (1948) Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology* **23**, 99-108.

- Martins FM, Kinoshita LS, Castro MM (2010) Coléteres foliares e calicinais de *Temnadenia violacea* (Apocynaceae, Apocynoideae): estrutura e distribuição. *Revista Brasileira de Botânica* **33**, 489-500.
- Miguel EC, Moraes DG, Da Cunha M (2009) Stipular colleters in *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae): micromorphology, anatomy and crystals microanalysis. *Acta Botanica Brasilica* **23**, 1034-1039.
- Miguel EC, Klein DE, Oliveira MA, Da Cunha M (2010) Ultrastructure of secretory and senescence in colleters of *Bathysa gymnocarpa* and *B. stipulata* (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **33**, 425-436.
- Mohan JSS, Inandar JA (1986) Ultrastructure and secretion of extrafloral nectaries of *Plumeria rubra* L. *Annals of Botany* **57**, 389-401.
- O'Brien TP, McCully ME (1981) 'The study of plant structure. Principles and selected methods.' 1st edn. (Termarcaphi Pty Ltd: Melbourne, Australia).
- Paiva EAS, Machado SR (2006) Colleters in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae), ontogenesis, ultrastructure and secretion. *Brazilian Journal of Biology* **66**, 301-308.
- Paiva EAS (2009) Occurrence, structure and functional aspects of the colleters of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae, Caesalpinioideae). *Comptes Rendus Biologies* **332**, 1078-1084.
- Pearse AGE 1980 'Histochemistry theoretical and applied.' 4th edn. (Churchill Livingston: Edinburgh, UK).
- Pereira ZV, Carvalho-Okano RM, Garcia FCP (2006) Rubiaceae Juss. da Reserva Florestal Mata do Paraíso, Viçosa, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **20**, 207-224.
- Puff C (1982) The delimitation of the tribe Anthospermae and its affinities to the Paederieae (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **84**, 355-377.
- Rizzini CT (1992) 'Tratado de fitogeografia do Brasil: Aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos.' (Âmbito cultural: São Paulo).

- Robbrecht E (1987) The African genus *Tricalysia* A. Rich. (Rubiaceae). 4. A revision of the species of section *Tricalysia* and section *Rosea*. Bulletin van Nationale Plantentuin van Belgie **57**, 39-208.
- Robbrecht E (1988) Tropical wood Rubiaceae. Characteristic fratures and progressions. Contributions to a new subfamilial classification. Opera Botanica Belgica **1**, 1-271.
- Robbrecht E, Manen JF (2006) The major evolutionary lineages of the coffe family (Rubiaceae, angiosperms). Combined analysis (nDNA and cpDNA) to infer the position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and supertree construction basead on *rbcl*, *rps16*, *trnL-trnF* and *atpB-rbcl* data. A new classification in two subfamilies, *Cinchonoideae* and *Rubioideae*. Systematics and Geography of Plants **76**, 85-146.
- Simões AO, Castro MDM, Kinoshita LS (2006) Calycine colleters of sevens species of Apocynaceae (Apocynoideae) from Brazil. Botanical Journal of the Linnean Society **152**, 387-398.
- Solereder H (1908) ‘Systematic anatomy of the dicotyledons’. (Clarendon Press: Oxford).
- Subramanian RB, Inamdar JA (1986) Nectaries in *Bignonia illicium* L. - ontogeny, structure and functions. Proceedings of the Indian Academy of Sciences **96**, 135-140.
- Taylor CM (1989) Revision of *Palicourea* (Rubiaceae) in Mexico and Central America. Systematic Botany Monographs **26**, 1-102.
- Taylor CM (1996) Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. Opera Botanica Belgica **7**, 261-270.
- Thiebault LF, Hoffmann P (2005) Occurrence of colleters in Erythoxylaceae. Kew Bulletin **60**, 455-459.
- Thomas V, Dave Y (1989a) Histochemistry and senescence of colleters of *Allamanda cathartica* Linn. (Apocynaceae). Annals of Botany **64**, 201-103.
- Thomas V, Dave Y (1989c) The colleters of *Alstonia scholaris* L. (Apocynaceae). Indian Botanical Contactor **6**, 25-29.

- Thomas V (1991) Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Annals of Botany* **68**, 287-305.
- Veloso HP, Rangel Filho AR, Lima JCA (1991) 'Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal'. (IBGE: Rio de Janeiro, RJ).
- Verdcout B 1958 Remarks on the classification of the Rubiaceae. *Bulletin du Jardin Botanique de L'Etat à Bruxelles* **28**, 209-281.
- Vitarelli NC, Santos M (2009) Anatomia das estípulas e coléteres de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasilica* **23**, 923-928.

5. CONCLUSÕES GERAIS

Os estudos anatômicos realizados nas espécies de Rubiaceae demonstraram que a anatomia foliar fornece dados para auxiliar na taxonomia e filogenia da família, tanto em nível de tribo, gênero e espécie. A presença de papilas, tipo de tricomas, variações na morfologia do parênquima paliçádico e lacunoso, variações do padrão de venação e variações na conformação do sistema vascular do pecíolo foram características anatômicas relevantes na separação de tribos e gêneros. Já, a morfologia do tricoma, presença de hipoderme, tipo de mesofilo, presença de bainha com cloroplastos, presença de bainha envolta por células esclerificadas, presença de extensões de bainha, parênquima paliçádico na margem foliar, idioblastos cristalíferos na margem foliar, tipo de domácias, posição dos coléteres, variações do padrão de venação e variações na conformação do sistema vascular foram características anatômicas importantes na distinção das espécies e utilizadas na chave dicotômica.

Os caracteres anatômicos observados podem ser utilizados para o reconhecimento das espécies de Rubiaceae em fase vegetativa que ocorrem na Reserva Florestal Mata do Paraíso.

Os resultados das análises numéricas, conduzidas com base nos dados anatômicos (UPGMA e PCA), respaldam as propostas de organização taxonômica e relações filogenéticas em Rubiaceae.

Com relação aos coléteres das 10 espécies de Rubiaceae estudadas, a posição, a variação tipológica, a presença de vascularização, a presença e o tipo de cristal de oxalato de cálcio são características importantes para a distinção de Rubioideae e Cinchonoideae, contribuindo também para a separação de Palicourea e Psychotria (Psychotrieae). A secreção produzida pelos coléteres é predominantemente polissacarídica podendo também conter proteínas.