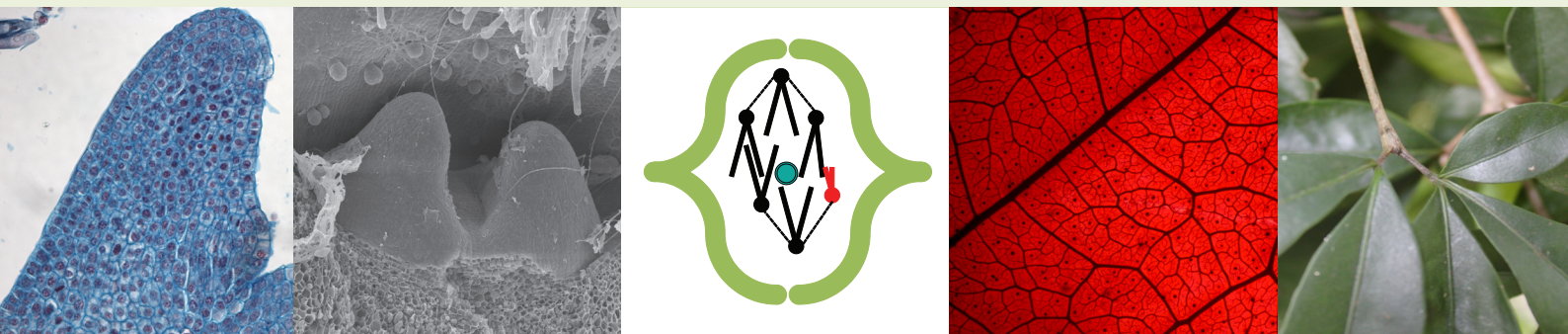


Rafael da Silva Cruz

Caracteres morfoanatômicos e ontogenéticos foliares de  
*Metrodorea* A.St.-Hil. e espécies relacionadas (Rutaceae)  
sob uma perspectiva filogenética



São Paulo  
2013



Rafael da Silva Cruz

Caracteres morfoanatômicos e ontogenéticos  
foliares de *Metrodorea* A.St.-Hil. e espécies  
relacionadas (Rutaceae) sob uma perspectiva  
filogenética

Morphoanatomic and ontogenetic leaf  
characters of *Metrodorea* A.St.-Hil. and related  
species (Rutaceae) under a phylogenetic view

Dissertação apresentada ao Instituto  
de Biociências da Universidade de São  
Paulo, para a obtenção de Título de  
Mestre em Ciências Biológicas, na Área  
de Botânica.

Área de Concentração: Anatomia de  
Plantas Vasculares

Orientadora: Profa. Dra. Gladys Flávia  
de Albuquerque Melo de Pinna

São Paulo  
2013

## Ficha Catalográfica:

Cruz, Rafael S.

Caracteres morfoanatômicos e ontogenéticos foliares de *Metrodorea* A.St.-Hil. e espécies relacionadas (Rutaceae) sob uma perspectiva filogenética. São Paulo, 2013.

110 páginas.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica.

1. Desenvolvimento; 2. Folhas simples e compostas; 3. Base e lâmina foliar; 4. Rutaceae; 5. Evolução. I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Botânica.

## Comissão Julgadora:

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).

---

Profª. Dra. Gladys Flávia A. Melo de Pinna  
Orientadora

À minha mãe Ana e minha avó Maria  
Madalena, que sempre acreditaram em  
mim.





“... isso somente me oferece a oportunidade de expressar o meu agradecimento público, que me obrigo a Darwin e que devo em tão grande extensão aos ensinamentos e estímulos provenientes do seu livro. Assim lanço tranquilamente este grão de areia na balança, contra a ‘montanha de preconceito sob a qual este assunto está enterrado’, despreocupado se os sacerdotes de uma ciência absoluta me juntem aos sonhadores ou às crianças no conhecimento das leis da natureza.”

*Fritz Müller*  
**Fritz Müller**  
**Para Darwin (1864)**

## Agradecimentos

À minha querida orientadora, **Gladys Flávia Melo-de-Pinna**, pela orientação, pelo incentivo à busca por respostas, por me ensinar que tantos novos avanços são conciliáveis com conhecimentos clássicos da botânica e por ser a grande responsável por me colocar no mundo científico. Também não posso deixar de agradecer tantos divertidíssimos momentos de descontração e tanto apoio em tantos incontáveis momentos, pelos quais serei sempre muito grato.

Ao grande Professor **José Rubens Pirani**, que sempre leu cuidadosamente meus textos, transmitindo sugestões riquíssimas com uma empolgação tão marcante que me motivava cada vez mais a me aprofundar na compreensão não só da família Rutaceae, mas de todas as suas queridíssimas angiospermas.

À **FAPESP** e à **CAPES**, pelas bolsas e auxílios financeiros concedidos ao projeto.

À **Juliana El Ottra**, que passo a passo vem se tornando uma das grandes estudiosas da morfologia floral em Rutaceae, não só pelas sugestões na escrita do projeto e na preparação da aula de qualificação, como pelas grandes discussões nas questões evolutivas da família.

Aos técnicos sem os quais esta dissertação seria impossível: **Irwandro Pires**, pelo auxílio com a preparação do material para microscopia eletrônica; **Viviane Jono**, pelo acesso ao herbário SPF e pontos de coleta; e claro, à tão prestativa **Tássia Santos** e à queridíssima **Gisele Costa**, do Laboratório de Anatomia Vegetal, por quebrarem tantos galhos, esclarecerem tantas dúvidas e perdoarem minhas bagunças.

Aos professores **Verônica Angyalossy**, **Gregório Ceccantini** e **Guillermo Angeles**, pela rica experiência em campo e em disciplinas. Ao Professor **Diego Demarco**, sempre muito atencioso às minhas dúvidas técnicas. E por fim à encantadora Professora **Nanuza Menezes**, cujas experiências tanto me motivaram a ingressar e a prosseguir na área. Também aos professores **Lúcia Lohmann** e **Renato Melo-Silva**, pela orientação no estágio do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino realizado junto a eles. Os terei sempre como exemplo!

Aos meus colegas de equipe ao longo do mestrado **Aline Nunes**, **Ariane Lazarini**, **Carla Verna**, **Cristina Zampieri**, **Felipe Caldeira**, **Francisco Aires**, **Juliana Brasileiro**, **Karina Gonçalves**, **Ligia Keiko**, **Mario Albino**, **Mávyla Lima** e **Renata Lemos**. E claro, à **Julinha**



**Pinna**, importante integrante. Deixo um abraço especial à **Fernanda Cordeiro**, que tanto me ajudou nos momentos finais da dissertação e à **Marília Duarte**, que tanto se dedicou a resolver as questões de morfologia foliar em duas espécies de *Esenbeckia*, contribuindo com preciosos dados aqui presentes.

Aos demais colegas do laboratório por tantas conversas e cafés que acompanharam a concepção desta dissertação: **Alessandra Lupi, Bruna Alonso, Caian Gerolamo, Carolina Bastos, Giuliano Locosselli, Gustavo Burin, Julio Majcher, Karen Sasaki, Karina Bertechine, Luíza Teixeira, Marcelo Pace, Mariana Victorio, Nara Vogado, Nelly Araya, Paula Alecio, Raquel Koch, Rodrigo Angeles, Rodrigo Tsusuki, Suzy da Silva, Thália Gama, Vinícius Rubiano, Vítor Barão, Yasmim Hirao** e, em especial, à **Keyla Rodrigues** e à **Paula Elbl**. Aos queridos colegas do Laboratório de Algas Marinhas, principalmente à **Cintia Iha**, minha grande irmã que me acompanha desde o início da graduação.

Aos Gnatos, os membros da minha primeira república, pelo convívio agradável, mas com um carinho especial ao **Tiago Ribeiro**, à **Ana Figueiredo** e também ao **André Lima** e à **Bruna Ferreira**, estes dois últimos também maravilhosos colegas do laboratório.

Ao **Caio Caly**, ao **Dan Araújo** e ao **Frederico Cheregati**, os grandes amigos que conheci na universidade e que seguraram em minhas mãos durante meus surtos. E também ao **Elton Furlanetto**, que além de um grande amigo, colaborou muito para obter trabalhos de difícil acesso, entre eles a obra de Agnes Arber, base filosófica da morfologia abordada nesta dissertação.

Aos **Beatles** por *Hey Jude*.

Ao **Felype Fanti**, por cair na minha vida de paraquedas, simplificando tudo o que parecia tão complicado.

E à minha mãe **Ana Masaki** e minha avó paterna **Maria Madalena Leite** por tanto carinho, sempre de portas abertas e preocupadas com meu bem-estar. Eu nunca teria chegado longe sem este apoio. E ao meu irmão, **Davi Masaki**, com quem cacei dinossauros.

Muito obrigado!

## Resumo

*Metrodorea* A. St.-Hil. é um gênero neotropical de Rutaceae, com espécies que apresentam folhas compostas ou unifolioladas e heterofilia, além de uma intrigante estrutura protetora de gemas em sua base. Filogenias moleculares disponíveis para a família apontam para uma necessidade de revisão de sua classificação tradicional, que deve encontrar respaldo em sinapomorfias morfológicas adequadas para os novos grupos estabelecidos.

Foi realizado um estudo da morfanatomia e ontogênese foliar de *Metrodorea* e grupos relacionados, observadas sob uma perspectiva filogenética, com dados disponíveis na literatura e obtidos de técnicas usuais em anatomia vegetal.

No primórdio de folha ocorre formação da base seguida de diferenciação acrópeta de primórdios de folíolos, sendo dois proximais pareados e um terminal nas folhas trifolioladas, mas apenas o terminal nas folhas simples e unifolioladas. Rudimentos de folíolos foram observados em espécies heterofilas de *Metrodorea*. Na base foliar das espécies deste gênero a estrutura protetora inicia-se como apêndices pareados, revelando uma condição estipular.

A quantidade de folíolos é dependente de uma maior ou menor determinação do primórdio foliar e sua redução pode ter sido favorecida pela perda de folíolos durante uma restrição do espaço necessário para o desenvolvimento.

*Metrodorea* tem como sinapomorfias a presença de aborto de folíolos, estípula intrapeciolar vascularizada, tricomas glandulares proximais adaxiais no pecíolo, folíolos evidentemente peciolulados, duas sementes por lóculo no fruto e estivação valvar da corola. Suas relações infragenéricas são debatidas de acordo com a localização dos cristais, forma de aderência da base das folhas e presença ou não de tricomas na lâmina foliar. A proximidade do gênero com *Raulinoa* é sustentada por uma maior quantidade de sinapomorfias morfológicas do que com outros gêneros. A monofilia de *Esenbeckia* não encontra apoio em nossos dados e *Helietta* + *Balfourodendron* (outrora de outra subfamília) são mais relacionados a *Esenbeckia*, *Raulinoa* e *Metrodorea* (antigas *Pilocarpinae*) do que com *Pilocarpus*, relação sustentada pela presença de tricomas glandulares no pecíolo, cristais prismáticos romboédricos, carpelos conatos e apófises dorsais do fruto.

## Abstract

*Metrodorea* A. St.-Hil. is a Neotropical genus of Rutaceae, with species that have compound or 1-foliolated leaves and heterophylly, in addition to an intriguing bud-protecting structure on its basis. Available molecular phylogenies for the family indicate a need in reviewing its traditional classification, which must find support in appropriate morphological synapomorphies that support the new established groups.

We conducted a study of leaf ontogeny and morphoanatomy of *Metrodorea* and related groups, under a phylogenetic framework, with data available in the literature and obtained from standard techniques in plant anatomy.

In leaf primordia, the base formation is followed by acropetal differentiation of leaflet primordia, two paired proximal and one terminal on 3-foliolated leaves, but only the terminal one on simple and 1-foliolated leaves. Leaflets rudiments were observed in heterophyllous species of *Metrodorea*. In species of this genus, at the base of the leaf, the protective structure emerges as paired appendages, revealing a stipular condition.

The number of leaflets is dependent upon a greater or lesser determination of leaf primordium and its reduction may have been favored by the loss of leaflets as consequence of a restriction of the space required for development.

*Metrodorea* synapomorphies found were: aborted leaflets, vascularized intrapeciolar stipules, glandular hairs in the proximal and adaxial region of the petiole, petiolulated leaflets, two seeds per locule in the fruit and valvar aestivation of the corolla. Their infrageneric relations are discussed according to the location of the crystals, adherence of the base of the leaves and the presence or absence of trichomes on the leaf blade. The close-relationship of the genus with *Raulinoa* is supported by a greater number of morphological synapomorphies than with other genera. The monophyly of *Esenbeckia* finds no support in our data and *Helietta* + *Balfourodendron* (formerly of another subfamily) are more related to *Esenbeckia*, *Raulinoa* and *Metrodorea* (former *Pilocarpinae*) than *Pilocarpus*, and such relationship is sustained by the presence of glandular hairs on the petiole, rhombohedral prismatic crystals, conate carpels and dorsal apophysis of the fruit.



## Sumário

<b>Introdução Geral</b>	15
<b>Capítulo I. Redução do número de folíolos a partir de um ancestral com folhas compostas: morfogênese foliar em <i>Metrodorea</i> A. St.-Hill, um gênero neotropical de Rutaceae com bases de folhas protetoras, e espécies relacionadas</b>	29
Resumo	30
Introdução	31
Material e Métodos	33
Resultados	34
Discussão	38
Agradecimentos	45
Referências	46
Figuras	50
<b>Capítulo II. Estudo morfológico e anatômico foliar comparativo de algumas Rutaceae neotropicais: <i>Metrodorea</i> A. St.-Hil. e espécies relacionadas</b>	71
Resumo	72
Introdução	73
Material e Métodos	75
Resultados e Discussão	77
Agradecimentos	89
Referências	89
Figuras	92
<b>Considerações Finais</b>	107



# **Introdução Geral**





## Introdução Geral

Rutaceae Juss., família que inclui a arruda e os citros, compreende 154 gêneros e aproximadamente 2.100 espécies (Kubitzki et al. 2011). São árvores ou arbustos ou raramente ervas, por vezes espinescentes ou aculeados com glândulas contendo óleos voláteis aromáticos. Essas glândulas, nas folhas, se apresentam como cavidades secretoras multicelulares dispersas e podem ser identificadas como pontoações translúcidas (Engler 1931; Pirani 1999a; Judd et al. 2008; Kubitzki et al. 2011).

A equipe do Laboratório de Sistemática Vegetal (LSV) do Instituto de Biociências da USP tem realizado estudos taxonômicos e morfoanatômicos com grupos neotropicais da família Rutaceae, notadamente os pertencentes à tribo Galipeeae (Skorupa 1996; Pirani 1998; Pirani 1999a; Pirani 1999b; Groppo Jr 2004; Skorupa & Pirani 2004; Pirani 2004; Pirani et al. 2010; El Ottra et al. 2013). Também pesquisadores de outras instituições têm investigado do mesmo modo o grupo, e.g. o trabalho de Kaastra (1982), do Institute of Systematic Botany e os de Kallunki (Kallunki 1988; Kallunki 1992), do New York Botanical Garden; ou ainda em parceria com pesquisadores do LSV (Kallunki & Pirani 1998).

Os estudos filogenéticos feitos para Rutaceae neotropicais são muito escassos. As primeiras filogenias elaboradas para a família incluíram poucos representantes neotropicais (Chase et al. 1999; Poon et al. 2007). As realizadas por Groppo & Kallunki (2007), Groppo et al. (2008), Oliveira (2008), e Groppo (2010) têm incluído mais representantes neotropicais, sendo estas baseadas em dados moleculares e morfológicos. Também Muntoreanu (2008), no Laboratório de Anatomia Vegetal do Instituto de Biociências da USP, utilizou a filogenia elaborada por Oliveira (2008) para mapear e averiguar a evolução de caracteres anatômicos foliares, com ênfase na subtribo Pilocarpinae (tribo Galipeeae).

Os resultados obtidos nos estudos filogenéticos supracitados vêm mostrando que antigas classificações, sobretudo as de trabalhos clássicos como a monografia de Engler (1931); com descrições detalhadas da morfoanatomia e a divisão taxonômica intrafamiliar que têm sido de grande valia, por ser o tratamento taxonômico mais abrangente para a família até então; não necessariamente estão de acordo com as filogenias que vêm sendo produzidas e por isso carecem de revisão

e aprimoramento. Por exemplo, trabalhos como Chase et al. (1999) e Groppo et al. (2008) apontam que nenhuma das subfamílias com mais de um gênero descritas por Engler (1931), mesmo com algumas pequenas modificações apresentadas por Scholz (1964), é monofilética, exceto Aurantioideae (onde está incluído o gênero *Citrus*).

Até o momento, existem poucos trabalhos publicados sobre a anatomia foliar de representantes de Rutaceae dentro de um contexto evolutivo. Ogundipe (2002) apresenta caracteres anatômicos úteis na delimitação infragenérica de *Zanthoxylum* L., tais como a organização do mesofilo, a distribuição dos estômatos e os padrões de venação. Em *Pilocarpus*, os estudos anatômicos mais recentes restringem-se ao de Marquete (1981), no qual foram estudadas as estruturas do pecíolo, lâmina e nervuras de *P. organensis* Occhioni & Rizzini (= *P. pauciflorus* A. St.-Hil.); e o de Gallardo & Jiménez (2002), no qual foi analisada a anatomia foliar de *Pilocarpus goudotianus* Tul. (= *P. racemosus* Vahl), sendo as suas características xeromórficas descritas como adaptativas ao seu habitat e os de Muntoreanu (2008) e Muntoreanu et al. (2011), que explorou o estabelecimento de homologies de caracteres foliares em Rutaceae sob o paradigma filogenético. A anatomia foliar de *Raulinoa echinata* também foi explorada sob seus aspectos adaptativos (Arioli et al. 2008).

Outro gênero dentro da subtribo Pilocarpinae é o também neotropical *Metrodorea* A. St.-Hil., com as cinco espécies descritas ocorrentes no Brasil e poucos registros no Suriname e na Bolívia (Kaastra 1982; Pirani 1999a). São árvores ou arvoretas com caracteres florais idênticos aos do gênero *Esenbeckia* Kunth (Pirani 1999a); sendo que este último vem sendo apontado como grupo parafilético nas análises realizadas por Pirani (1999a) e Groppo (2010), uma vez que divide sua ancestralidade comum com outros gêneros, como *Metrodorea*. A característica mais marcante de *Metrodorea*, e única dentro de Rutaceae, é a presença de folhas opostas com bainhas, termo utilizado por Kaastra (1977), que em um mesmo nó formam uma estrutura cuculada que inicialmente recobre a gema apical jovem, abrindo-se com o desenvolvimento desta (Kaastra 1977; Pirani 1999a) (Fig. 1).

Kaastra (1977) discute em seu trabalho que a estrutura apontada como bainha em *Metrodorea*, baseado em conclusões tiradas a partir da vascularização da base da folha e anatomia nodal, já foi definida por diversos autores como outras estruturas, como lígula, estípula me-



**Figura 1.** *Metrodorea mollis*. Ramo com folhas trifolioladas opostas dotadas de estrutura cuculada na base.

diana ou, ainda, como homóloga aos espinhos de *Raulinoa* Cowan. No entanto o trabalho não apresenta dados anatômicos quanto ao desenvolvimento foliar, tratando apenas da descrição da morfologia das folhas jovens. Neste gênero encontramos ainda interessantes caracteres quanto à divisão da lâmina foliar, como heterofilia e folhas unifolioladas, bem como distintas morfologias relacionadas à base, que serão descritas nos capítulos subsequentes.

Trabalhos anatômicos sobre desenvolvimento foliar de angiospermas, como um todo, são escassos quando comparados ao de outros órgãos e percebemos facilmente esta escassez ao buscarmos o tema dentro da literatura de Rutaceae, no qual os poucos trabalhos que abordam o desenvolvimento têm como foco a histogênese de estruturas secretoras, entre eles o de Liu & Hu (1998), no qual foram estudadas a estrutura e a ontogênese das cavidades de 22 gêneros, 40 espécies e duas variedades de Rutaceae da China. Os autores, então, discutem seus dados à luz das possíveis relações entre as subfamílias e entre os gêneros de Rutaceae. Levando-se em conta a necessidade de se definir homologias primárias para a correta codificação de estados de caracteres em uma análise filogenética que forneça subsídios mais concretos para a construção de uma classificação (de Pinna 1991; Hawkins et al. 1997), estudos dentro da família são de fundamental importância para averiguar se há similaridade na composição e ontogenia das estruturas foliares, bem como se há correspondência topológica entre elas.

Os únicos trabalhos que se aproximam desta importante abordagem, dentro de Rutaceae, são os de Jeune & Lacroix (1993) e de Lacroix & Sattler (1994), que abordam aspectos da ontogênese foliar de *Murraya paniculata* (L.) Jack, espécie de folhas compostas pinadas. O primeiro trabalho aborda os aspectos quantitativos da expansão da lâmina foliar durante a ontogênese, fornecendo um modelo matemático sob o qual ocorreria o mudança das dimensões métricas do órgão em desenvolvimento e o segundo aborda que alguns aspectos do desenvol-

vimento caulinar podem ser observados no desenvolvimento de uma folha composta pinada. No entanto, faltam trabalhos com ontogênese foliar em outras espécies da família, sobretudo espécies neotropicais.

*Metrodorea* é um bom modelo de estudo para ontogênese foliar pela presença de folhas compostas e folhas supostamente unifolioladas, o que é notável, dado que o padrão comum na família é a ocorrência de folhas compostas. Segundo Oliveira (2008), folhas unifolioladas em Rutaceae possuem uma articulação conspícua localizada entre o pecíolo e a lâmina foliar. O autor ainda afirma que a codificação de estado deste caráter (ora apresentado como folha simples, ora como folha composta bastante reduzida) tem se mostrado difícil dada a falta de dados anatômicos. Assim sendo, um estudo ontogenético foliar, feito em um contexto filogenético, não só facilitaria a codificação deste caráter, bem como permitiria a inferência de maneira acurada das mudanças num plano anatômico que poderiam levar a evolução de folhas simples a compostas e vice-versa, no grupo.

Em *Metrodorea* o pecíolo e respectiva expansão, aqui tratada como bainha, são as primeiras estruturas foliares formadas, como descrito por Kaastra (1977). Há dúvidas se um segundo e terceiro folíolos iniciam sua formação apenas nas folhas bifolioladas e trifolioladas ou se também chegam a ser formados em folhas unifolioladas, sendo abortados posteriormente, ao longo do desenvolvimento.

Esau (1974) destaca que variações nos padrões histogenéticos resultam em diferentes formatos das folhas. Assim como estruturas semelhantes podem ser produzidas por processos de crescimento diferentes, processos semelhantes podem conduzir à formação de estruturas diferentes, por meio de diferenças quantitativas do crescimento. Esta informação releva a necessidade de estudos de desenvolvimento foliar para estabelecer se há homologia primária (sensu de Pinna 1991) entre estruturas aparentemente semelhantes ou diferentes, comumente utilizadas em estudos sistemáticos.

O desenvolvimento foliar, embora estudado em teoria por muitos autores, é regido por grandes discussões dentro do meio acadêmico. Destacamos boas descrições em Foster (1936), Esau (1974) e Fahn (1974). No entanto, os trabalhos mais atuais com foco no controle genético do desenvolvimento foliar têm usado a divisão em três fases proposta por Dengler & Tsukaya

(2001) e descrita com mais detalhes morfoanatômicos por Beck (2010), descrição a qual apresentamos resumidamente nos parágrafos a seguir. Lembramos que se trata de um processo contínuo e tal divisão é meramente didática.

A primeira fase é a iniciação do primórdio, a partir do meristema apical caulinar, que começa com divisões periclinais da camada subsuperficial nos flancos do domo apical. Divisões adicionais tanto periclinais como anticlinais nas camadas subsuperficial e superficial dão origem, por fim, ao primórdio foliar.

A segunda fase é a morfogênese primária, com divisão e crescimento celular resultando num eixo primário, chamado de filopódio, dorsiventralmente simétrico e que virá a se tornar o pecíolo e a nervura central da folha. No fim desta fase, o filopódio aumenta em espessura e a lâmina da folha começa a se formar como enações de cada lado resultantes de citocinese nos meristemas marginais. A atividade contínua dos meristemas marginais resulta na expansão lateral da lâmina foliar. Em plantas com folhas compostas, os meristemas marginais tornam-se subdivididos e em cada subdivisão um folíolo irá se desenvolver, caracterizado pelo seu próprio filopódio com meristemas apicais e marginais. Em algumas plantas com folhas pecioladas, um meristema basal, próximo ao filopódio, se desenvolve, dando origem ao pecíolo. Em outros táxons o pecíolo é apenas resultado da supressão de meristemas marginais. No fim desta fase, tecidos provasculares (procâmbio) começam a se diferenciar no filopódio e lâmina em desenvolvimento, refletindo os padrões de venação.

Na terceira fase, de expansão e morfogênese secundária, a folha jovem continua seu desenvolvimento e diferenciação, chegando ao seu tamanho e forma madura. Durante esta fase, há aumento em área de superfície e volume e de acordo com Dale (1988) 95% das células são formadas. Em primórdios jovens e folhas muito jovens da maior parte das plantas vasculares, o meristema marginal tem duas ou mais camadas de espessura, sendo a externa comparável à protoderme do caule, de onde a epiderme se desenvolve. Os meristemas marginais, no entanto, têm vida curta e seqüencialmente a atividade meristemática é intercalar e difusa. O crescimento e diferenciação subseqüentes dão origem ao parênquima que se diferenciará como mesofilo e outras partes de tecido provascular, gerando padrões finais de venação.

Nos últimos 20 anos a publicação de trabalhos que tratam de morfogênese foliar tem

aumentado, com grandes avanços e descobertas dentro do contexto do controle molecular do desenvolvimento, devido ao aumento das pesquisas das “plantas modelo”, como *Arabidopsis thaliana*, *Antirrhinum majus*, milho e também, devido à diversidade de mutantes quanto à morfologia foliar, o tomateiro e a ervilha (Dengler & Tsukaya 2001; Tsukaya 2010). No entanto, com a explosão de informações sobre a expressão gênica durante as fases de desenvolvimento foliar é de fundamental importância resgatar trabalhos anatômicos sobre ontogênese foliar. Tais trabalhos, outrora tão discutidos, têm sido deixados de lado atualmente, talvez por serem de difícil associação com os dados moleculares (Tsukaya 2010). Desta forma, do ponto de vista morfoanatômico, o desenvolvimento foliar das angiospermas continua menos compreendido em relação ao de outros órgãos.

Propõe-se então uma investigação anatômica da região foliar, principalmente nas regiões de crescimento (meristemas) durante a formação de folhas simples e compostas, bem como a descrição histológica da folha desenvolvida e região nodal nas espécies de gênero *Metrodorea*. Esta proposta vai, em parte, ao encontro do trabalho de Groppo et al. (2008) que afirma que estudos morfoanatômicos são necessários para entender a filogenia de Rutaceae.

Na análise cladística de alguns gêneros de Rutaceae feita por Pirani (1999a), o monofilismo do gênero *Esenbeckia* fica questionado, uma vez que três das dez árvores igualmente parcimoniosas obtidas mostravam *Metrodorea* como parte de um clado com três espécies de *Esenbeckia* formando um grupo parafilético. Características tão marcantes apontam o monofilismo do gênero *Metrodorea*, no entanto esta comprovação e as relações infragenéricas de *Metrodorea* só viriam a ser apontadas em um trabalho posterior. Dias et al. (submetido) proveram uma reconstrução filogenética de *Metrodorea* baseada em dados moleculares, apresentando suas relações infragenéricas e apontando uma relação mais íntima deste gênero com os gêneros *Balfordendron* Mello ex Oliver, *Helieta* Tul. e *Raulinoa* Cowan do que com *Esenbeckia pumila* Pohl, única espécie do gênero utilizada para a reconstrução.

Trabalhos recentemente realizados dentro do Laboratório de Anatomia Vegetal com Rutaceae (Muntoreanu 2008; Muntoreanu et al. 2011) geraram uma matriz de caracteres com dados anatômicos com ênfase no gênero *Pilocarpus*. Um trabalho semelhante com o gênero *Metrodorea* que levante estados de caracteres quanto à morfologia e anatomia foliar reuniria um

grande conjunto de dados úteis para a elaboração de uma matriz de caracteres morfológicos, a ser utilizada em uma discussão filogenética. Tal análise permitiria testar a homologia secundária dos caracteres (sensu de Pinna 1991), ou alternativamente se há a existência de homoplasias, e onde elas surgem em árvores filogenéticas como a de Dias et al. (submetido), provendo possíveis dados esclarecedores para a compreensão das relações no grupo.

Em *Metrodorea*, por fim, destacamos as seguintes questões a serem estudadas:

- Qual a origem da estrutura apontada por Kaastra (1977) como bainha?
- Qual o estado de caráter ancestral no gênero quanto à divisão da lâmina foliar? E conseqüentemente, a partir deste, qual foi a ordem de evolução quanto a redução ou aumento do número de folíolos?
- As folhas unifolioladas são legítimas folhas compostas cuja articulação representa a posição de folíolos muito reduzidos e/ou perdidos ou apenas folhas simples típicas com desenvolvimento semelhante a outras angiospermas de folhas simples?
- Os dados morfoanatômicos proveem boas sinapomorfias que sustentem as relações das filogenias moleculares existentes?

A resolução destas questões, conforme apresentado neste trabalho, pode vir a trazer subsídios ou até mesmo fornecer um bom modelo para elucidar os processos ontogenéticos que constroem os diferentes padrões encontrados em folhas de Rutaceae. Além de um conjunto de informações descritivas detalhadas quanto à anatomia e desenvolvimento foliar, pouco estudados na família, um trabalho abrangendo estes tópicos, como este, pode vir a ser um acréscimo de dados relevantes para a taxonomia e filogenia do grupo.

Desta forma, este trabalho, após esta introdução, apresentar-se-á em dois capítulos, na forma de artigos submetidos para publicação, mais considerações finais. O primeiro capítulo versará sobre a ontogênese foliar de *Metrodorea* e espécies relacionadas, discutindo a adequação da terminologia botânica para as estruturas de difícil interpretação disponível dentro das vertentes filosóficas da Ciência da Forma em Botânica. O segundo capítulo apresentará uma descrição anatômica foliar, que junto a outros dados morfológicos disponíveis na literatura, proverão uma rica discussão ao serem confrontados com as filogenias disponíveis. Por fim, as considerações finais elencarão as principais contribuições deste trabalho e a gama de trabalhos

que, apesar de avanços, ainda são necessários.

## Referências

- Arioli T, Voltolini CH, Santos M (2008) Morfoanatomia foliar da reófito *Raulinoa echinata* R.S. Cowan – Rutaceae. *Acta botanica brasílica* 22:723–732
- Beck CB (2010) An introduction to plant structure and development: plant anatomy for the twenty-first century, 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge
- Chase MW, Morton CM, Kallunki JA (1999) Phylogenetic relationships of Rutaceae: a cladistic analysis of the subfamilies using evidence from RBC and ATP sequence variation. *American Journal of Botany* 86:1191–1199
- Dale JE (1988) The control of leaf expansion. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology* 39:267–295
- de Pinna MCC (1991) Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics* 7:367–394
- Dengler NG, Tsukaya H (2001) Leaf morphogenesis in dicotyledons: current issues. *International Journal of Plant Sciences* 162:459–464
- Dias P, Udulutsch RG, Kallunki JA, Pirani JR (submetido) Molecular phylogeny and biogeography of *Metrodorea* (Rutaceae): biogeographic implications for South America
- Engler A (1931) Rutaceae. Engler, A; Prantl, K. (eds.) *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. Verlag Von Wilhelm Engelmann, Leipzig, pp 187–359
- Esau K (1974) *Anatomia das plantas com sementes*. Edgard Blücher, São Paulo
- Fahn A (1974) *Plant Anatomy*, 2nd ed. Pergamon Press, Oxford
- Foster AS (1936) Leaf differentiation in angiosperms. *The Botanical Review* 2:349–372
- Gallardo LH, Jiménez ME (2002) Anatomía foliar de *Pilocarpus goudotianus* Tul. (Rutaceae). *Caldasia* 24:269–275
- Grosso Jr M (2004) Filogenia de Rutaceae e revisão taxonômica de *Hortia* Vand. (Rutaceae). Universidade de São Paulo, São Paulo. Tese de Doutorado
- Grosso M (2010) Estudos filogenéticos em rutáceas neotropicais: presente e futuros. Simpósio



- de Sapindales. X Congresso Latinoamericano de Botánica
- Gropo M, Kallunki JA (2007) Phylogenetic analyses of the subtribe Galipeinae (Rutaceae). Colloquium of Evolution and Diversification in the Sapindales. Botany & Plant Biology Congress
- Gropo M, Pirani JR, Salatino MLF, et al. (2008) Phylogeny of Rutaceae based on two noncoding regions from cpDNA. *American Journal of Botany* 95:985–1005
- Hawkins JA, Hughes CE, Scotland RW (1997) Primary homology assessment, characters and character states. *Cladistics* 13:275–283
- Jeune B, Lacroix CR (1993) A quantitative model of leaflet initiation illustrated by *Murraya paniculata* (Rutaceae). *Canadian Journal of Botany* 71:457–465
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, et al. (2008) *Plant systematics: a phylogenetic approach*, 3rd ed. Sinauer Associates
- Kaastra RC (1982) Pilocarpinae (Rutaceae). *Flora Neotropica* 33:1–197
- Kaastra RC (1977) Leaf sheaths and obturators in Rutaceae - Pilocarpinae. *Beitrage zur biologie der pflanzen* 53:317–320
- Kallunki JA (1988) A new species of *Galipea* (Rutaceae) from Nicaragua and Costa Rica. *Brittonia* 40:241–244
- Kallunki JA (1992) A revision of *Erythrochiton* sensu lato (Cuspariinae, Rutaceae). *Brittonia* 44:107–139
- Kallunki JA, Pirani JR (1998) Synopses of *Angostura* Roem. & Schult. and *Conchocarpus* JC Mikan (Rutaceae). *Kew Bulletin* 257–334
- Kubitzki K, Kallunki JA, Duretto M, Wilson PW (2011) Rutaceae. In: Kubitzki K (ed) *The families and genera of vascular plant Vol. 10: Flowering Plants. Eudicots: Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae*. Springer, Berlin, pp 276–356
- Lacroix CR, Sattler R (1994) Expression of shoot features in early leaf development of *Murraya paniculata* (Rutaceae). *Canadian Journal of Botany* 72:678–687
- Liu WZ, Hu ZH (1998) Comparative anatomy of secretory cavities in leaves of the Rutaceae in China. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 36:119–127
- Marquete O (1981) Anatomia e vascularização foliar e floral de *Pilocarpus organensis* Occhioni

- & Rizzini (Rutaceae). *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 25:117–159
- Muntoreanu TG (2008) Descrição e mapeamento de caracteres morfoanatômicos foliares em *Pilocarpus* Vahl (Rutaceae) e gêneros relacionados. Universidade de São Paulo, São Paulo. Dissertação de Mestrado
- Muntoreanu TG, Cruz R da S, Melo-de-Pinna GF (2011) Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical Rutaceae: *Pilocarpus* Vahl and related genera. *Plant Systematics and Evolution* 296:87–99
- Ogundipe OT (2002) Leaf anatomical studies on eleven species of *Zanthoxylum* Linn. (Rutaceae). *Phytomorphology* 52:103–112
- Oliveira PD (2008) Filogenética de Pilocarpaceae (Rutaceae). Universidade de São Paulo, São Paulo. Tese de Doutorado
- El Ottra JHL, Pirani JR, Endress PK (2013) Fusion within and between whorls of floral organs in Galipeinae (Rutaceae): structural features and evolutionary implications. *Annals of Botany* 111:821–37
- Pirani JR (1998) A revision of *Helietta* and *Balfourodendron* (Rutaceae-Pteleinae). *Brittonia* 50:348–380
- Pirani JR (1999a) Estudos taxonômicos em Rutaceae: revisão de *Helietta* e *Balfourodendron* (Pteleinae), análise cladística de Pteleinae, sinopse de Rutaceae no Brasil. Universidade de São Paulo, São Paulo. Tese de Livre Docência
- Pirani JR (1999b) Two new species of *Esenbeckia* (Rutaceae, Pilocarpaceae) from Brazil and Bolivia. *Botanical Journal of the Linnean Society* 129:305–313
- Pirani JR (2004) Three new species of *Galipea* (Rutaceae, Galipeinae) from Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society* 144:365–373
- Pirani JR, El Ottra JHL, Menezes NL (2010) Morfoanatomia da flor de cinco espécies de *Galipea* Aubl. e seu significado na evolução de flores tubulosas entre as Rutaceae neotropicais. *Revista Brasileira de Botânica* 33:301–318
- Poon W, Shaw P, Simmons M, But P (2007) Congruence of molecular, morphological, and biochemical profiles in Rutaceae: a cladistic analysis of the subfamilies Rutoideae and Toddalioideae. *Systematic Botany* 32:837–846

- Scholz H (1964) Rutales. H. Melchior in A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien. pp 262–277
- Skorupa LA (1996) Revisão taxonômica de *Pilocarpus* Vahl (Rutaceae). Universidade de São Paulo, São Paulo. Tese de Doutorado
- Skorupa LA, Pirani JR (2004) A new species of *Pilocarpus* (Rutaceae) from northern Brazil. *Brittonia* 56:147–150
- Tsukaya H (2010) Leaf development and evolution. *Journal of Plant Research* 123:3–6

# **Considerações Finais**



## Considerações Finais

Rutaceae, uma família de grande importância econômica (cultura de citros e o extração de madeira do pau-marfim), médica (alcaloides extraídos do gênero *Pilocarpus*) e cultural (a atribuição popular de poderes mágicos à arruda), emerge também como interessante modelo para a compreensão das possibilidades de evolução morfológica da folha, dada sua diversidade quanto à sua divisão e quanto às modificações da base foliar. Com a obtenção de novas filogenias, que questionam antigas classificações estritamente baseadas em morfologia, faz-se necessária a obtenção de novos caracteres morfoanatômicos que tornem explícitos os novos agrupamentos em novos tratamentos taxonômicos, juntando a informação evolutiva à finalidade prática de identificação.

O primeiro capítulo propõe uma abordagem contínua para a compreensão da tão debatida divisão entre folhas simples e compostas do grupo, bem como a natureza de suas bases e articulações. A plasticidade com que a família modificou, ao longo de sua filogenia, o número de folíolos em cada folha possivelmente é relacionada com um grau de determinação do desenvolvimento do primórdio foliar. E as estruturas cuculadas em *Metrodorea*, outrora tidas como bainhas, representam estípulas intrapeciolares: legítimas projeções da base da folha que se iniciam, em seu desenvolvimento, pareadas e que protegem o ápice caulinar e gemas axilares.

O segundo capítulo apresenta uma descrição anatômica minuciosa das folhas de muitas espécies cuja classificação vem sendo debatida nos últimos anos. Ao serem confrontados com estudos filogenéticos, os dados mostram que a morfologia não deve ser tomada como inimiga das novas classificações baseadas em dados moleculares, mas sim, reavaliadas, dentro do seu contexto evolutivo. Novos dados morfológicos podem muito bem corroborar novas classificações, emergindo como poderosos aliados no entendimento da história do grupo. E mesmo antigos dados, se revelados homoplásticos, passam a ser melhor compreendidos. Daí a importância, em um contexto de fácil obtenção de filogenias, de prosseguir com estudos morfoanatômicos. E neste estudo, apontamos uma série de características morfoanatômicas como possíveis sinapomorfia de alguns grupos.

*Metrodorea* A. St.-Hill., o gênero que protagoniza estes estudos nesta dissertação, jun-

to com suas espécies aparentadas findam este trabalho melhor compreendidas. Este trabalho contribui com dados inéditos que serão adicionados à literatura de Rutaceae, gerado uma reinterpretação mais clara da morfologia do grupo conhecida até então e abrindo perspectivas para que novos gêneros da família, e mesmo famílias relacionadas, sejam estudadas sob uma óptica semelhante a nossa.

Importante ressaltar também que, apesar de esforços antigos e recentes, há uma lacuna de conhecimento morfoantômico e ontogenético na família, que não se restringe às estruturas foliares, mas a todos os órgãos, vegetativos e reprodutivos, em diversos grupos. No ímpeto de se esclarecer as relações infrafamiliares, deve-se observar a relevância dos estudos morfológicos. E tal lacuna não deve ser vista com pessimismo, mas sim, como motivadora e geradora de possibilidades para o engrandecimento científico.