

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Ontogenia de frutos em Galipeae (Rutoideae, Rutaceae)

Laura Fernandes Afonso

Dissertação apresentada á Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: Biologia Comparada.

Ribeirão Preto – SP

2018



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Ontogenia de frutos em Galipeeae (Rutoideae, Rutaceae)

Orientada: Laura Fernandes Afonso
Orientador: Milton Groppo Júnior
Coorientadora: Juliana Marzinek

Dissertação apresentada á Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: Biologia Comparada.

Ribeirão Preto – SP
2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica

Afonso, Laura Fernandes

Ontogenia de frutos em Galipeeae (Rutoideae, Rutaceae). Ribeirão Preto, 2018.

66 p.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Biologia Comparada.

Orientador: Groppo, Milton.

1. Anatomia 2. Desenvolvimento 3. Fruto deiscente 4. Fruto indeiscente

Ontogenia de frutos em Galiepeae (Rutoideae, Rutaceae)

Dissertação apresentada á Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão
Preto-USP, como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área: Biologia Comparada

Aprovado em: ___/___/_____

Banca Examinadora

Dr. (a): _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dr. (a): _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dr. (a): _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dr. (a): _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Ao meu irmão Gustavo (*in
memorian*) que foi o maior
incentivador dos meus sonhos e
progresso.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e a todos os amigos espirituais por todo amparo e oportunidade que me dá para constante evolução nessa vida, àquela força que você não vê, só sente que está ali e te acalma.

Agradeço aos meus pais, avó e meus irmãos, Gustavo (*in memorian*) e Leandro que me apoiam e me incentivam em todas as minhas escolhas. De verdade, não existe amor maior que o deles e nem demonstrações de interesse tão grande e genuíno na minha felicidade.

A todos os meus amigos da escola, graduação, centro espírita, enfim: amigos “da vida” (é impossível citar todos) e àqueles que estão sempre e sempre junto comigo: Juliana, Letícia, Paula, Rachel, Rafael, Tati, Tathi Almeida, Marcela Lima e Marcela Diab.

À **Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto** e ao **Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada**, por me oferecer suporte e infraestrutura necessários para a realização da pesquisa.

Ao **Laboratório de Sistemática de Plantas** da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, por ceder o espaço físico, materiais, aparelhos, para que a minha pesquisa pudesse ser realizada.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela bolsa de mestrado concedida. Agradeço também a **Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** e ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** pelo financiamento de reagentes e expedições de coleta desenvolvidos neste projeto.

À **Universidades Federal de Uberlândia** por me ceder o espaço físico, equipamentos e demais materiais do **Laboratório de Morfologia, Microscopia e Imagem (LAMOVI)** e assim complementar todo meu conhecimento prático para o meu trabalho.

Ao **Prof. Dr. Milton Groppo Júnior**, por, primeiramente, ser um ótimo profissional e um ser humano no qual eu me espelho. E por me conceder e confiar um estágio em seu laboratório mesmo sabendo de algumas dificuldades na área. Obrigada

por me orientar, não só academicamente como pessoalmente com muita dedicação e paciência.

À **Dra. Juliana Marzinek**, por aceitar ser minha co-orientadora sem me conhecer, ensinar toda a parte de Anatomia de fruto (tanto teórica como prática), tirar todas as minhas dúvidas a qualquer hora com muita paciência e carinho, além de ser uma profissional e mulher extremamente forte e capaz em tudo que realiza. Com certeza é alguém que faz muito pela Ciência.

Ao nosso técnico **José Ricardo Tizado Barosella**, que realiza os trabalhos do Laboratório de Sistemática de Plantas da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – SP, com extrema dedicação, paciência e sabedoria. Obrigada pelas conversas, “cafés”, risadas e por compartilhar seus vastos conhecimentos e ser essa pessoa exemplar para todos.

À secretária da pós-graduação em Biologia Comparada, **Vera Cassia Cicilini de Lucca** por ser essa profissional magnífica, alegre e cheia de paciência e tratar todos seus “filhos” da pós graduação com excelência e amor.

Aos amigos tanto aqui da USP (do Laboratório de Sistemática de Plantas e de outros “Labs”) que passaram e/ou que ainda fazem parte do dia-a-dia: Anelize, Carimi, Carla, Cíntia, Dani, Du, Gustavo, Jone, Júlio, Luciano, Mariela, Miltinho, Schumi, Waffa quanto os amigos da UFU: Izabel, Matheus, Marco Thulio, Ruan, e Pâmela pela convivência, amizade e por todo o conhecimento compartilhado nesse tempo.

Agradeço em especial a Carol (Dra. Carolina Ferreira Gomes), a autora dessa belíssima foto da capa, por sempre “segurar a minha barra” em todos os meus momentos acadêmicos e pessoais e deixar tudo mais leve com a sua alegria, suas tarefas lúdicas e todo amor com que me trata, realmente foi uma irmã que a vida me deu. A Paola que me acompanha desde a graduação, por me ensinar e ajudar nas tarefas que tenho mais dificuldades com muita paciência e dedicação além de me fazer rir com suas inúmeras histórias hilárias .

Agradeço também a Marianna, nossa “caçula” (IC) do laboratório, por sempre me mostrar a leveza das coisas e achar um ponto positivo para tudo.

Ao Danilo e ao Rafael, meus amigos mineiros, por serem super solícitos comigo e responderem as minhas intermináveis dúvidas.

A todos os **pesquisadores e professores** que me acompanharam e me esclareceram quaisquer dúvidas e colaboraram, para que de alguma forma, este trabalho fosse realizado: Profa. Simone de Pádua Teixeira, Profa. Thaís Cury, Dra. Maria Juliana, Prof. Orlando Cavallari, obrigada por tudo!

E todo meu agradecimento a população brasileira, por pagarem seus impostos permitindo que os trabalhos de pesquisa possam ser realizados. Que os resultados desse trabalho possam, de algum modo, retornar para a sociedade.

“Se não houver frutos, valeu a beleza das flores; se não houver flores, valeu a sombra das folhas; se não houver folhas, valeu a intenção da semente.”

(Henfil)

Lista de Figuras

- Figura 1.** Distribuição atual da Tribo Galipeeae, mostrando Pilocarpinae (verde) e Galipeineae (laranja) (Groppo et al in prep.) e grupo externo11
- Figura 2.** *Balfourodendron riedelianum*. a, b: pré antese. c: antese. d, e: pós antese. f, g: fruto imaturo. h: Fruto maduro. Secção transversal (b–h). Secção longitudinal (a)19
- Figura 3.** *Conchocarpus minutiflorus* (b, c, d, e, f). *C. pentandrus* (a, g, h, i, j). a–c: Antese. d: Pós antese. e, f: Fruto imaturo. g–j: Fruto maduro. Secção transversal (b–j). Secção longitudinal (a, g).....22
- Figura 4.** *Ertela trifolia* Kuntze. a, b: Antese. c, d: Pós antese. e, f: Fruto imaturo. g, h: Fruto maduro. i: Fruto em dispersão. Secção transversal (b–i). Secção longitudinal (a).....25
- Figura 5.** Fig. 5. *Esenbeckia febrifuga* (b,c,d). *E. leiocarpa* (a,e,f,g,h,i,j). a–d Antese. e: Pós antese. f–i: Fruto imaturo. j: Fruto maduro. Secção transversal (b–j). Secção longitudinal (a).....28
- Figura 6.** *Galipea jasminiflora* (A. St-Hil.) Engl. a, b, c: Antese. d: Pós antese. e, f: Fruto imaturo. g, h, i : Fruto maduro. Secção transversal (b, c, d, e, g, h, i). Secção longitudinal (f).....31
- Figura 7.** *Helietta apiculata* Benth. a,b,c,d : Antese. e: Pós antese. f,g: Fruto imaturo. h–j: Fruto maduro. Secção transversal (b–h). Secção longitudinal (a).....34
- Figura 8.** Fig. 8. *Hortia oreadica* Groppo et al. a, b, c: Antese. d, e, f: Pós antese. g, h: Fruto imaturo. i: Fruto maduro. Secção transversal (b–i). Secção longitudinal (a)37
- Figura 9.** *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. a, b, c, d: Antese. e, f: Pós antese. g, h: Fruto imaturo. i: Fruto maduro. Secção transversal (b–i). Secção longitudinal (a)40
- Figura 10.** Análise de reconstrução dos estados de caráter ancestral obtidas por máxima verossimilhança mostrando a evolução de caráter 1-Endocarpo elástico48

Figura 11. Análise de reconstrução dos estados de caráter ancestral obtidas por máxima verossimilhança mostrando a evolução de caráter 2- Tipo de fruto.....49

Figura 12. Análise de reconstrução dos estados de caráter ancestral obtidas por máxima verossimilhança mostrando a evolução de caráter 3- Grau de conação de carpelos.....50

Lista de Tabelas

Tabela 01. Tipo de deiscência e variação morfológica dos frutos que serão utilizados e neste estudo (Barroso <i>et al.</i> 1999)	7
Tabela 02. . Lista dos materiais testemunho (vouchers) depositados no Herbário SPFR (Herbário do Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP)	9
Tabela 03. Listagem dos caracteres morfológicos utilizados na análise de reconstrução dos estados de caráter ancestral	12
Tabela 04. Matriz de caracteres morfológicos e terminais utilizados na análise de reconstrução de estados de caráter ancestral. ? = desconhecido	13
Tabela 05. Características do pericarpo das diferentes espécies estudadas em Galipeeae e de espécies descritas na literatura	41

Índice

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
1.2. <i>Objetivos</i>	6
1.3. <i>Hipótese</i>	6
2. MATERIAL E MÉTODOS	7
2.1. <i>Material de estudo</i>	7
2.2. <i>Coleta do material botânico</i>	8
2.3. <i>Estudos anatômicos</i>	9
2.4. <i>Reconstrução dos estados de caráter ancestral</i>	10
3. RESULTADOS	16
3.1. <i>Ontogenia de frutos</i>	16
3.2. <i>Reconstrução dos estados de caráter ancestral</i>	46
4. DISCUSSÃO	51
4.1 <i>Ontogenia</i>	51
4.2 <i>Reconstrução de estados de caráter ancestral</i>	56
5. Conclusão	57
6. REFERÊNCIAS	59

RESUMO

Rutaceae consiste em cerca de 150-164 gêneros e 1500-2000 espécies, com distribuição predominantemente pantropical. Estudos sobre anatomia de frutos e ontogenéticos de órgãos reprodutivos em Rutaceae dentro de um contexto evolutivo são escassos. Nesse contexto, este trabalho tem como objetivo analisar as características anatômicas através da ontogenia de frutos em espécies da subtribo Galipeae, visando conhecer a origem das camadas pericárpicas para o estabelecimento de homologias e diferenças estruturais entre os frutos deiscentes e indeiscentes. Além disso, características morfológicas tais como endocarpo elástico, tipo de fruto e grau de conação de carpelos foram inferidos a luz de uma filogenia molecular a fim de discutir a classificação infrafamiliar de Rutaceae, bem como auxiliar na identificação de sinapomorfias que sustentem os clados. Para tanto foram escolhidas as espécies *Balfourodendron riedelianum*, *Conchocarpus minutiflorus*, *Conchocarpus pentandrus*, *Ertela trifolia*, *Esenbeckia febrifuga*, *Esenbeckia leiocarpa*, *Galipea jasminiflora*, *Helietta apiculata* e *Hortia oreadica* que abrangem os grandes clados na tribo que representam a variação na morfologia dos frutos. *Zanthoxylum rhoifolium* (tribo Zanthoxyloae), foi usado como grupo externo para comparação com os resultados de Galipeae. Os estudos ontogenéticos foram realizados a partir de material coletado ou de herbário e incluídos em resina para todos os estádios de flores e frutos. Os resultados ontogenéticos mostraram diferenças estruturais tais como a disposição cruzada do endocarpo lignificado e a linha de deiscência correlacionados com a abertura dos frutos. A reconstrução dos estados de caráter ancestrais propôs que as classificações inframiliares de Rutaceae são baseadas em caracteres plesiomórficos. Estudos aprofundados baseados em caracteres anatômicos, morfológicos e moleculares devem ser integrados afim de propor uma nova circunscrição e suporte para os clados.

Palavras chave: anatomia, desenvolvimento, fruto deiscente, fruto indeiscente.

ABSTRACT

Rutaceae consists of c. 150-164 genera and 1500-2000 species, with predominantly pantropical distribution. Studies on the anatomy of fruits and ontogeny of reproductive organs in Rutaceae within an evolutionary context are still scarce. In this context, the objective of this work is to analyze anatomical characteristics of the fruits in species of the tribe Galipeae in an ontogenetic context, aiming at to verify the origin of the pericarp layers for the establishment of homologies and structural differences between the dehiscent and indehiscent fruits. In addition, morphological characteristics such as the elastic endocarp, fruit type and degree of conation of the carpels were inferred in light of a molecular phylogeny in order to discuss the infrafamilial classification of Rutaceae, as well as to help identify the synapomorphies that support the clades. *Balfourodendron riedelianum*, *Conchocarpus minutiflorus*, *Conchocarpus pentandrus*, *Ertela trifolia*, *Esenbeckia febrifuga*, *Esenbeckia leiocarpa*, *Galipea jasminiflora*, *Helietta apiculata* and *Hortia oreadica*, which represent the large clades in the tribe and fruit variation were used. *Zanthoxylum rhoifolium* (tribe Zanthoxyleae), was used as out-group for comparison with the results of Galipeae. Ontogenetic studies were carried out from collected material or from herbarium specimens and included in resin for all stages of flowers and fruits. The ontogenetic results showed structural differences such as the cross-arrangement of the lignified endocarp and the dehiscence line correlated with the opening of the fruits. The reconstruction of the ancestral character states proposed that the traditional inframiliary Rutaceae classifications are based on plesiomorphic characters and that new comparative and ontogenetic anatomical studies may be useful in understanding the evolutionary history of the family as a whole

Key words: anatomy, development, dehiscent fruit, indehiscent fruit.

1. INTRODUÇÃO

Explicar os mecanismos que deram origem à diversidade morfológica dos seres vivos é um dos grandes desafios da Biologia, principalmente no que diz respeito ao desenvolvimento, que é de fundamental importância para obtenção de respostas sobre os desafios em entender os mecanismos que geram a diversidade da vida. Durante a primeira metade do século XX, os sistematas começaram a utilizar a morfologia interna – caracteres anatômicos – como uma importante fonte de dados para compreender as relações entre famílias, gêneros e espécies (Solleder 1908; Metcalfe & Chalk 1950, 1979). Os dados anatômicos incorporados aos resultados de outras áreas da Botânica (morfologia, fisiologia, palinologia, etc.) podem promover sistemas mais naturais, uma vez que é necessário mais de um tipo de evidências para se obter conclusões sistemáticas e filogenéticas (Cutler *et al.* 2011).

A ontogenia é o desenvolvimento de um indivíduo desde seu nascimento até sua morte, durante o qual as plantas passam por diferentes etapas conhecidas como estádios ontogenéticos (Gatsuk *et al.* 1980; Smirnova *et al.*, 2002). Os diversos órgãos que compõem as plantas passam por fases distintas de crescimento ao longo do desenvolvimento, decorrente da combinação do crescimento e diferenciação dos tecidos, sendo a fase final caracterizada pela senescência dos tecidos (Chitarra & Chitarra, 2005). A caracterização dos estádios ontogenéticos de uma espécie pode ser realizada por meio de critérios biológicos que representam o estado de desenvolvimento dos organismos (Gatsuk *et al.* 1980). Os estádios ontogenéticos são caracterizados por um conjunto de marcadores morfológicos típicos (Zhukova & Glotov 2001), sendo que cada estágio pode ser definido pelo aparecimento de novas estruturas ou pela perda de estruturas que estavam presentes nos estádios anteriores (Gatsuk *et al.* 1980). As características anatômicas e morfológicas das plantas podem sugerir relações filogenéticas entre táxons (Metcalfe & Chalk 1979) e fornecendo prováveis sinapomorfias para clados gerados em análises com outros conjuntos de dados, como por exemplo, dados moleculares.

Estudos como o desenvolvimento floral ajudam a compreender o processo de diferenciação floral e podem ser utilizados para testar hipóteses filogenéticas e relações taxonômicas (Tucker 1992, 1997; Tucker *et al.* 1994; Moço *et al.*, 2009; Aizza, 2010). Já os frutos são o resultado do ovário ou ovários desenvolvidos e em estado de maturação podendo se agregar a ele outras partes da flor ou mesmo da inflorescência (Souza 2006), ou seja, representam o último estágio do desenvolvimento do gineceu fecundado ou partenocárpico (Barroso *et al.* 1999). As principais funções do fruto incluem proteger a semente, promover sua disseminação e armazenar reservas nutritivas (Vidal & Vidal 2000).

No fruto, a avaliação do padrão de desenvolvimento a partir do florescimento auxilia no estabelecimento de índices de maturidade que são baseados na aparência (formato, diâmetro, cor) e na composição química (sólidos solúveis, acidez titulável) (Biale & Young 1964; Kays 1991). As diferentes fases do desenvolvimento dos frutos são caracterizadas por alterações na estrutura, fisiologia e bioquímica das células, que culminam com a maturação, senescência e, finalmente, morte dos tecidos. De modo geral, o amadurecimento é caracterizado pelo amaciamento da polpa, por alterações na cor da casca e polpa, redução da adstringência e pelo desenvolvimento do aroma e sabor dos frutos (Chitarra & Chitarra 2005). Quanto aos critérios para classificação morfológica dos frutos ocorrem muita variação na literatura, porém a grande maioria abrange a origem e os mecanismos de deiscência que classificam os frutos como deiscentes, aqueles em que os tecidos da parede do ovário maduro (o pericarpo) se abrem liberando as sementes ou as expõem e frutos indeiscentes onde as sementes permanecem dentro do fruto mesmo depois dele ser liberado pela planta. (Raven *et al.* 2001). Dessa maneira as literaturas sobre classificação de frutos são baseadas principalmente na descrição morfológica (*e.g.* Spjut 1994; Barroso *et al.* 1999; Souza 2006), sem levar em conta a ontogenia do pericarpo, podendo levar a equívocos na descrição das partes dos frutos ou mesmo a erros na sua classificação.

RUTACEAE

A família Rutaceae Juss. é posicionada em Eurosídeas II, na ordem Sapindales segundo APG IV (2016) com sustentação de dados moleculares, junto com famílias, como Simaroubaceae, Sapindaceae e Meliaceae. Consiste em cerca de 150-164 gêneros e 1500-2000 espécies, com distribuição na região tropical e subtropical com maior representatividade na América tropical, sul da África e Austrália (Groppo *et al.* 2012). No Brasil, ocorrem 33 gêneros e cerca de 194 espécies com centros de diversidade na Amazônia e Mata Atlântica (Flora do Brasil 2020).

Rutaceae é formada por árvores, arbustos e ervas, perenes ou anuais, às vezes apresentando acúleos ou espinhos. As folhas são alternas, raramente opostas, simples ou compostas 1-3 foliadas, palmadas ou pinadas, sendo que a lâmina foliar pode apresentar pontuações translúcidas bem evidentes. As inflorescências são muito variadas, podendo ser terminais ou axilares, às vezes caulifloras, constituindo geralmente tirsos ou panículas, mais raramente racemos, espigas ou flores solitárias. As flores podem ser unissexuadas e/ou bissexuadas, geralmente 4-5 meras, actinomorfas ou zigomorfas, com sépalas livres ou concrecidas e pétalas livres, raramente unidas ou ausentes; o androceu pode ser haplo, iso, diplo ou polistêmone, sendo os estames livres, raramente coerentes a conatos entre si ou aderentes a adnatos às pétalas; apresentam disco nectarífero intra-estaminal bem desenvolvido, sendo este raramente reduzido ou ausente; o gineceu pode ser apocárpico ou sincárpico, com (1-)2-5(-muitos) carpelos e ovário súpero. Os frutos exibem grande variação, podendo ser indeiscente, do tipo sâmara, samarídeo, drupas ou bagas ou deiscentes, do tipo cápsula ou esquizocarpo. O número de semente também varia de 1-2-muitas por lóculo; o endosperma pode ser carnoso ou oleaginoso, ou ausente; os cotilédones são plano convexos ou planos, às vezes conduplicados e mais raro também plicados. Descrição baseada em Engler (1874, 1931), Pirani (2002), Groppo & Pirani (2007) e Groppo 2010.

Com toda essa variação em Rutaceae, a principal sinapomorfia morfológica da família é a presença de pontuações translúcidas nas folhas, que correspondem a cavidades glandulares multicelulares produtoras de óleos essenciais aromáticos (Groppo *et al.* 2012). De acordo com Van Thieghem (1885) essas glândulas estão espalhadas em tecidos parenquimáticos sendo ausente somente nas raízes.

Muitos representantes deste grupo possuem grande importância econômica, sendo as mais destacadas as do gênero *Citrus*, representado pelas frutas cítricas como as diversas variedades e cultivares de laranjas, limões, tangerinas e limas, além da fonte de óleos voláteis (Groppo *et al.* 2008); *Pilocarpus*, fonte de pilocarpina (alcalóide utilizado no tratamento de glaucoma); *Angostura* e *Galipea* (preparo das amargas angosturas, antifebris); espécies dos gêneros *Flindersia*, *Zanthoxylum*, *Balfourodendron* e *Euxylophora* utilizadas na indústria madeireira. Além desses, algumas espécies também são de uso ornamental como dos gêneros *Boronia*, *Choysia*, *Clausena*, *Correa*, *Murraya*, *Poncirus*, *Ravenia*, *Skimmia* e *Triphasia*, entre outras (Pirani 1999).

Em relação à sistemática de Rutaceae, em 1862, Bentham & Hooker apresentaram uma divisão da família Rutaceae em 7 tribos, que é bastante parecida à adotada por Engler em 1874, 1896 e 1931, primeiro na Flora Brasiliensis de Martius, e depois em Die Natürlichen Pflanzenfamilien (informações em Pirani 1999). Dada a sua grande diversidade de características morfológicas que incluem uma variedade de hábitos, flores e frutos, aliadas com uma ampla distribuição geográfica, Rutaceae têm sido tradicionalmente dividida em 7 subfamílias segundo as classificações descritas na obra de Engler (1931). Porém os resultados obtidos nos estudos filogenéticos vêm mostrando que antigas classificações infrafamiliares para esse grupo não estão, necessariamente, de acordo com as hipóteses filogenéticas baseadas em dados moleculares (Groppo *et al.* 2008; Groppo *et al.* 2012; Morton & Telmer 2014; Bruniera *et al.* 2015). Novos dados morfológicos podem muito bem corroborar novas classificações,

emergindo como poderosos aliados no entendimento da história do grupo (Cruz, 2013). Dessa maneira, desde o século XIX, os taxonomistas têm buscado caracteres anatômicos que possam auxiliar a identificação e classificação das espécies (Solereeder, 1908; Metcalfe & Chalk 1950; 1979).

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*). Mais recentemente, Groppo *et al.* (2012) propuseram uma classificação com apenas duas subfamílias, Cneoroideae e, a maior das duas subfamílias, Rutoideae. Rutoideae consiste em 10 tribos e 30 subtribos (Groppo *et al.* 2008). Morton & Telmer (2014), por outro lado, propõe o uso de três subfamílias: Amyridioideae, Aurantioideae e Rutoideae.

Dentre as tribos de Rutoideae, está inserida a tribo Galipeeae (cf. Kallunki & Pirani, 1998), que é um grupo exclusivamente neotropical e compreende duas subtribos: Pilocarpinae com 6 gêneros e ca. 60 espécies e Galipeinae, grupo mais diversos do neotrópico, com 28 gêneros e 130 espécies (Groppo *et al.* in prep.). Como delimitado por Engler (1931), Galipeeae possui representantes com frutos deiscentes, do tipo cápsula ou esquizocarpo, com um endocarpo rígido que se destaca e ejeta a semente em um mecanismo de dispersão autocórica. Análises filogenéticas contidas em Groppo *et al.* (in prep.) apontam que Galipeeae não é um grupo monofilético, pois gêneros tropicais com frutos indeiscentes (posicionados anteriormente em outra subfamília Toddalioidae) como *Hortia*, *Balfourodendron* e *Helietta* são parte da tribo Galipeeae. Além disso, dados filogenéticos atuais (Groppo *et al.* in prep.) apontam que os frutos deiscentes com endocarpo elástico são ancestrais em Galipeeae, sendo os frutos baga (em *Hortia*) e sâmara (em *Balfourodendron*) provavelmente derivados deste tipo ancestral.

Até o momento existem poucos trabalhos publicados sobre a anatomia dos frutos de representantes de Rutaceae dentro de um contexto evolutivo e também de estudos ontogenéticos tanto de órgãos vegetativos como reprodutivos (Cruz 2013). A tribo foi selecionada, pois representa a variação de frutos para este estudo.

Embora haja várias propostas de classificação para a família Rutaceae, as sinapomorfias para os grupos não são evidentes, sendo muitas vezes constituídos por caracteres homoplásticos (Groppo *et al.* 2008; Groppo *et al.* 2012; Morton & Telmer, 2014; Bruniera *et al.* 2015).

1.2. Objetivos:

- Objetivo geral: realizar estudo anatômico dos frutos de espécies selecionadas de Galipeae

-Objetivos específicos: conhecer a origem das camadas pericárpicas para futuro estabelecimento de homologias; verificar a presença de endocarpo lignificado; estabelecer possíveis diferenças estruturais entre frutos deiscentes e indeiscentes; verificar se os caracteres anatômicos de frutos podem auxiliar na identificação das sinapomorfias que sustentem os clados.

1.3. Hipótese:

As estruturas responsáveis pela dispersão da semente dos frutos deiscentes estudados da tribo Galipeae (endocarpo lignificado e elástico) são anatômica e ontogeneticamente diversas daquelas encontradas nos frutos indeiscentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material de estudo

Para este estudo, foram adotados os seguintes critérios para a escolha das espécies estudadas:

- a) abrangência da diversidade morfológica do grupo dentro de Galipeeae (Tabela 1);
- b) facilidade na obtenção de material, uma vez que, foram necessárias coletas de diversos estágios de desenvolvimento da flor e do fruto;

Dessa maneira conforme os dois critérios listados acima, as espécies estudadas foram: *Balfourodendron riedelianum* (Engl.) Engl., *Conchocarpus pentandrus* (A. St-Hil.) Kallunki & Pirani, *Ertela trifolia* Kuntze, *Esenbeckia febrifuga* (A. St-Hil.) A. Juss ex Mart, *Esenbeckia leiocarpa* Engl., *Galipea jasminiflora* (A. St-Hil.) Engl., *Helietta apiculata* Benth., *Hortia oreadica* Groppo, Kallunki & Pirani e *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (Rutoideae, tribo Zanthoxyleae), foi usado como grupo externo para comparação com os resultados pois representa um grupo distante filogeneticamente para a tribo (Groppo *et al.* in prep.).

Tabela 1. Tipo de deiscência e variação morfológica dos frutos que serão utilizados e neste estudo (Barroso *et al.* 1999):

Espécies	Deiscência	Tipo de Fruto
<i>Balfourodendron riedelianum</i>	Indeiscente	Nucáceo
<i>Conchocarpus minutiflorus</i>	Deiscente	Fruto múltiplo
<i>Conchocarpus pentandrus</i>	Deiscente	Fruto múltiplo
<i>Ertela trifolia</i>	Deiscente	Esquizocarpo (mericarpo)

<i>Esenbeckia febrifuga</i>	Deiscente	Cápsula loculicida
<i>Esenbeckia leiocarpa</i>	Deiscente	Cápsula loculicida
<i>Galipea jasminifolia</i>	Deiscente	Cápsula loculicida
<i>Helietta apiculata</i>	Indeiscente	Esquizocarpo (Samarídeo)
<i>Hortia oeradica</i>	Indeiscente	Baga
<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>	Deiscente	Esquizocarpo (fóliculo)

2.2 Coleta do material botânico

Durante o período do mestrado ocorreram expedições de coleta para obtenção de material botânico em vários estádios de desenvolvimento constando flores em pré-antese até frutos maduros para realização do estudo ontogenético, com exceção de *Helietta apiculata* e *Balfourodendron riedelianum* que foram utilizados os materiais das exsiccatas armazenados no herbário do Departamento de Biologia da Universidade de São Paulo (Herbário SPFR).

Para àqueles coletados todos os materiais testemunhos foram herborizados seguindo as técnicas convencionais e incorporados à coleção do Herbário SPFR – Tabela 02.

Tabela 2. Lista dos materiais testemunho (vouchers) depositados no Herbário SPFR (Herbário do Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP).

Espécie	Coletor e Número
<i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engl.) Engl.	Alcântara CFCRP 036
<i>Conchocarpus minutiflorus</i> Groppo & Pirani	Afonso 4
<i>Conchocarpus pentandrus</i> (A. St- Hil.) Kallunki & Pirani	Afonso 7
<i>Ertela trifolia</i> Kuntze.	Afonso 5
<i>Esenbeckia febrifuga</i> (A.St-Hil.) A.Juss ex Mart.	Afonso 3
<i>Esenbeckia leiocarpa</i> Engl.	Afonso 2
<i>Galipea jasminiflora</i> (A.St-Hil.) Engl.	Afonso 8
<i>Helietta apiculata</i> Benth.	Medri <i>et al.</i> 965
<i>Hortia oreadica</i> Groppo, Kallunki & Pirani	Afonso 1
<i>Zanthoxylum rhoifolium</i> Kallunki	Afonso 6

2.3 Estudos anatômicos

Para o estudo anatômico foram coletadas de todas as espécies flores em pré-antese, antese, pós antese e frutos em diferentes estágios de desenvolvimento.

As amostras coletadas foram fixadas em FAA 50 (formaldeído 37%, ácido acético glacial e etanol 50% 1:1:18 v/v), (Johansen 1940) por 48 horas no ato da coleta, e em seguida, foram estocadas em etanol 50% (Berlyn & Miksche 1976). Para os materiais retirados de exsicatas (*Helietta apiculata* e *Balfourodendron riedelianum*) ocorreu a reidratação em NaOH 5% durante 2 a 3 dias e fixação em etanol 50% (Anderson 1963).

As análises anatômicas de todos os materiais seguiram o processo de desidratação em série etanólica ascendente: e foram incluídos em resina plástica (Historesin[®] Leica Instruments, Heidelberg, Germany) seguindo as recomendações do fabricante. Após a inclusão os materiais foram seccionados em micrótomo rotativo manual com navalha de tungstênio, na espessura de 8µm. De maneira seriada, os cortes foram distendidos sobre a lâmina contendo uma gota de água.

Depois de secas em temperatura ambiente, as lâminas com cortes distendidos em uma cubeta de vidro foram coradas com Azul de Toluidina a 0,05% em tampão acetato (O' Brien et al. 1964 modificado). Para a realização da lâmina permanente foi utilizada entre lâmina e lamínula, usando-se como meio de montagem Entellan[®]. A documentação foi realizada em um fotomicroscópio Olympus BX51 (Japão).

O conceito adotado para descrição dos resultados foi a terminologia de Roth (1977), tanto para as camadas da parede ovariana quanto pericárpicas, onde a epiderme externa ovariana origina o exocarpo, o mesofilo ovariano constitui o mesocarpo e a epiderme externa ovariana origina o endocarpo. Para o tipo de fruto foi utilizada a terminologia de Barroso *et al.* 1999.

2.4.Reconstrução de estado de caracteres ancestrais

Para a reconstrução dos estados de caráter ancestral foram selecionadas três características presentes em frutos e em flores em estágio avançado de desenvolvimento utilizadas por Engler (1931) para reconhecer grupos taxonômicos infrafamiliares em Rutaceae. Estas características são a deiscência ou não do fruto, presença de endocarpo elástico e também o grau de conação dos carpelos nas flores plenamente desenvolvidas. Os estados de caráter foram coletados no presente estudo e também da literatura (e.g. Kaastra 1982; Pirani 1999). A análise de reconstrução de caracteres ancestrais foi realizada utilizando a filogenia de Groppo *et al.* (in prep.).

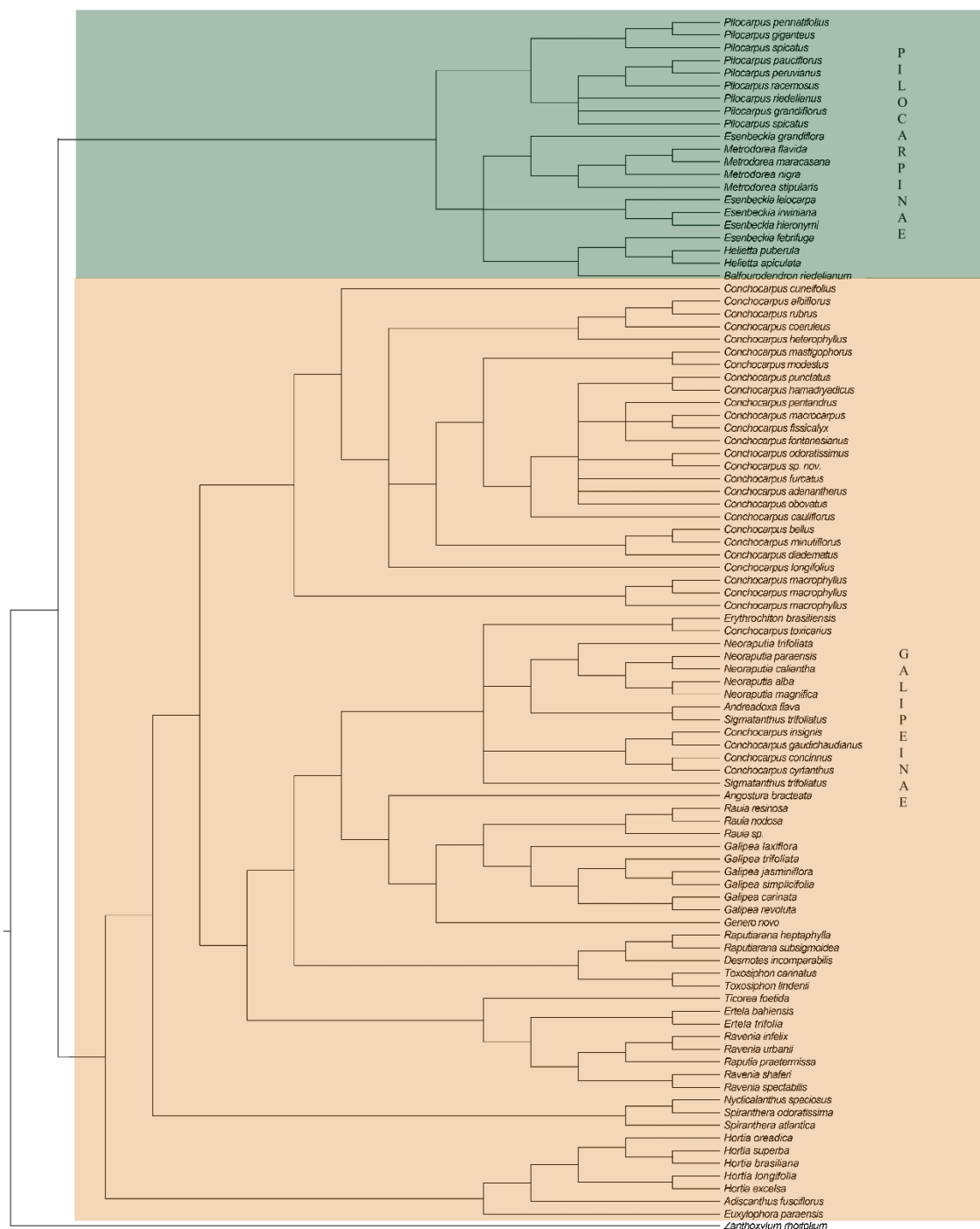


Figura 1: Distribuição atual da Tribo Galipeeae, mostrando Pilocarpaceae (verde) e Galipeeae (laranja) (Groppo et al in prep.) e grupo externo.

Os caracteres e seus estados de caráter utilizados nesta análise podem ser vistos na Tabela 3. A matriz morfológica incluindo os táxons, os caracteres e a codificação podem ser vistos na Tabela 4.

As análises de reconstrução dos estados de caráter ancestral foram realizadas no programa Mesquite versão 2.75 (Madison & Madison 2011), utilizando a máxima verossimilhança baseada no parâmetro “Markov k -state one-parameter model” (Lewis 2001). Os caracteres foram tratados de maneira não ordenada e com pesos iguais em todas as análises.

Tabela 3: Listagem dos caracteres morfológicos utilizados na análise de reconstrução dos estados de caráter ancestral.

1. Endocarpo “elástico”

0. Presença

1. Ausência

2. Tipo de fruto

0. Esquizocarpo - Folículo

1. Cápsula

2. Sâmara

3. Esquizocarpo - Samarídeo

4. Baga

3. Grau de conação dos carpelos

0. Livre

1. Conato pela base

2. Conato pelo estilete

3. Conato na base e estilete

4. Conato

Tabela 4: Matriz de caracteres morfológicos e terminais utilizados na análise de reconstrução de estados de caráter ancestral. ? = desconhecido.

Espécies	Endocarpo Elástico	Tipo de Fruto	Grau de conação dos carpelos
<i>Pilocarpus pennatifolius</i>	0	0	1
<i>Pilocarpus giganteus</i>	0	0	1
<i>Pilocarpus spicatus</i>	0	0	1
<i>Pilocarpus pauciflorus</i>	0	0	1
<i>Pilocarpus peruvianus</i>	0	0	1
<i>Pilocarpus racemosus</i>	0	0	1
<i>Pilocarpus riedelianus</i>	0	0	1
<i>Pilocarpus grandiflorus</i>	0	0	1
<i>Pilocarpus spicatus</i>	0	0	1
<i>Esenbeckia grandiflora</i>	0	1	4
<i>Metrodorea flavida</i>	0	1	4
<i>Metrodorea maracasana</i>	0	1	4
<i>Metrodorea nigra</i>	0	1	4
<i>Metrodorea stipularis</i>	0	1	4
<i>Esenbeckia leiocarpa</i>	0	1	4
<i>Esenbeckia irwiniana</i>	0	1	4
<i>Esenbeckia hyeronimi</i>	0	1	4
<i>Esenbeckia febrifuga</i>	0	1	4
<i>Helietta puberula</i>	1	3	4
<i>Helietta apiculata</i>	1	3	4

<i>Balfourodendron riedelianum</i>	1	2	4
<i>Conchocarpus cuneifolius</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus albiflorus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus rubrus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus coeruleus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus heterophyllus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus mastigophorus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus modestus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus punctatus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus hamadryacus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus pentandrus</i>	0	0	1
<i>Conchocarpus macrocarpus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus fissicalyx</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus fontanesianus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus odoratissimus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus sp nov</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus furcatus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus adenantherus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus obovatus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus cauliflorus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus bellus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus minutiflorus</i>	0	0	1
<i>Conchocarpus diadematus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus longifolius</i>	0	0	1
<i>Conchocarpus mac 2</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus mac 1</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus mac 3</i>	0	0	2
<i>Erythrochiton brasiliensis</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus toxicarius</i>	0	0	2
<i>Neoraputia trifoliata</i>	0	0	3
<i>Neoraputia paraensis</i>	0	1	3
<i>Neoraputia caliantha</i>	0	0	3
<i>Neoraputia alba</i>	0	0	3

Ontogenia de frutos em Galipeae (Rutoideae, Rutaceae)

<i>Neoraputia magnifica</i>	0	0	3
<i>Andreadoxa flava</i>	0	0	2
<i>Sigmatanthus trifoliolatus</i>	?	?	?
<i>Conchocarpus insignis</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus</i>			
<i>gaudichaudianus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus concinnus</i>	0	0	2
<i>Conchocarpus cyrtanthus</i>	0	0	2
<i>Sigmatanthus trifoliatus</i>	0	1	2
<i>Angostura bracteata</i>	0	0	2
<i>Rauia resinosa</i>	0	1	4
<i>Rauia nodosa</i>	0	1	4
<i>Rauia sp</i>	0	1	?
<i>Galipea laxiflora</i>	0	1	4
<i>Galipea trifoliata</i>	0	1	4
<i>Galipea jasminiflora</i>	0	1	4
<i>Galipea simplicifolia</i>	0	1	4
<i>Galipea carinata</i>	0	1	4
<i>Galipea revoluta</i>	0	1	4
<i>Gênero Novo</i>	0	1	?
<i>Raputiarana heptaphylla</i>	0	1	3
<i>Raputiarana subsigmoidea</i>	0	1	3
<i>Desmotes incomparabilis</i>	0	0	?
<i>Toxosiphon carinatus</i>	0	1	3
<i>Toxosiphon lindonii</i>	0	1	3
<i>Ticorea foetida</i>	0	0	3
<i>Ertela bahiensis</i>	0	0	2
<i>Ertela trifolia</i>	0	0	2
<i>Ravenia infelix</i>	0	0	4
<i>Ravenia urbanii</i>	0	0	4
<i>Raputia praetermissa</i>	0	0	3
<i>Ravenia shaferi</i>	0	0	4
<i>Ravenia spectabilis</i>	0	0	4

<i>Nycticalanthus speciosus</i>	0	0	3
<i>Spiranthera odoratissima</i>	0	0	3
<i>Spiranthera atlantica</i>	0	0	3
<i>Hortia oreadica</i>	1	4	4
<i>Hortia superba</i>	1	4	4
<i>Hortia brasiliana</i>	1	4	4
<i>Hortia longifolia</i>	1	4	4
<i>Hortia excelsa</i>	1	4	4
<i>Adiscanthus fusciflorus</i>	0	0	3
<i>Euxylophora paraensis</i>	0	0	3
<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>	0	0	0

3. RESULTADOS

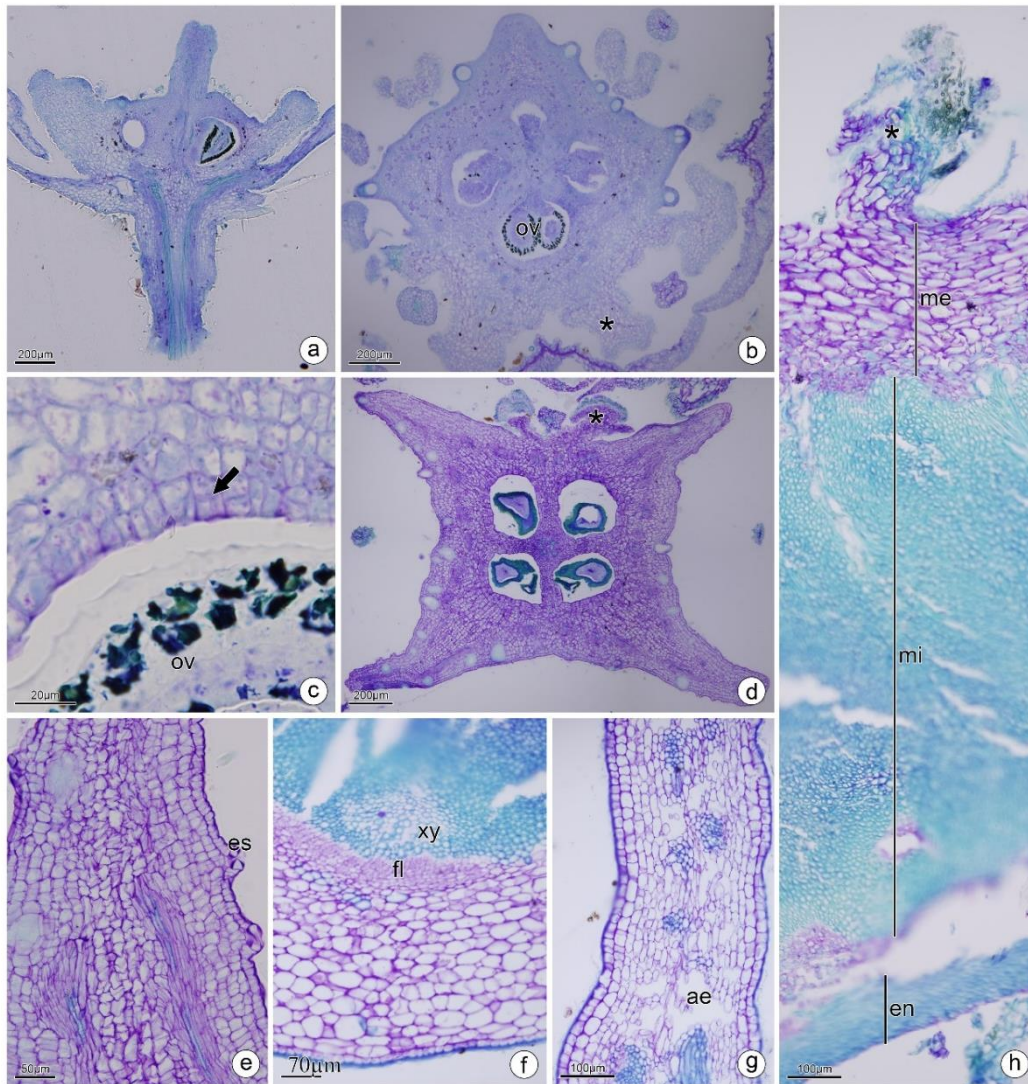
3.1. Ontogenia de frutos

A ontogenia e as estruturas foram descritas para 10 espécies. Os processos ontogenéticos são descritos de acordo com as principais variações ocorridas nos diferentes estádios. Na Tabela 5 foram elencadas de maneira comparativa o pericarpo das espécies estudadas em Galipeeae para esse trabalho, e mais sete espécies da família encontradas na literatura.

Balfourodendron riedelianum (Engl.) Engl. - (Fig. 2)

O ovário de *Balfourodendron riedelianum* é súpero, (Fig. 2A) composto por 4 carpelos conatos com placentação axial (Fig. 2B). Em secção transversal são observadas saliências ao longo de todo ovário. A parede ovariana é composta por epiderme externa, mesofilo ovariano e epiderme interna. A epiderme externa é unisseriada com células justapostas de formato cuboide e núcleo evidente e com a presença de tricomas tectores e estômatos (Fig. 2B, 2D). As saliências são compostas por epiderme e mesofilo ovariano (Fig. 2B, 2D). O mesofilo é composto por cerca de 15 camadas de células parenquimáticas, com cavidades secretoras na camada externa, feixes vasculares colaterais imersos no parênquima, idioblastos contendo drusas (Fig. 2B, 2C). Na epiderme interna ocorrem divisões anticlinais e periclinais (Fig. 2C). Em pré antese inicia-se a formação das alas com divisões da região dorsal de cada carpelo. As células do mesofilo próximo à epiderme externa encontram-se justapostas e a região central possui arranjo mais laxo (Fig. 2D, E). No fruto imaturo, a região mais interna aos feixes vasculares sofre intensa lignificação (Fig. 2F). Na região das alas o mesocarpo contém cerca de 20 camadas de células parenquimáticas com a presença de fibras e desenvolvimento de aerênquima na região central (Fig. 2F, 2G). No fruto maduro o mesocarpo interno é fibroso e o endocarpo lignificado (Fig. 2H).

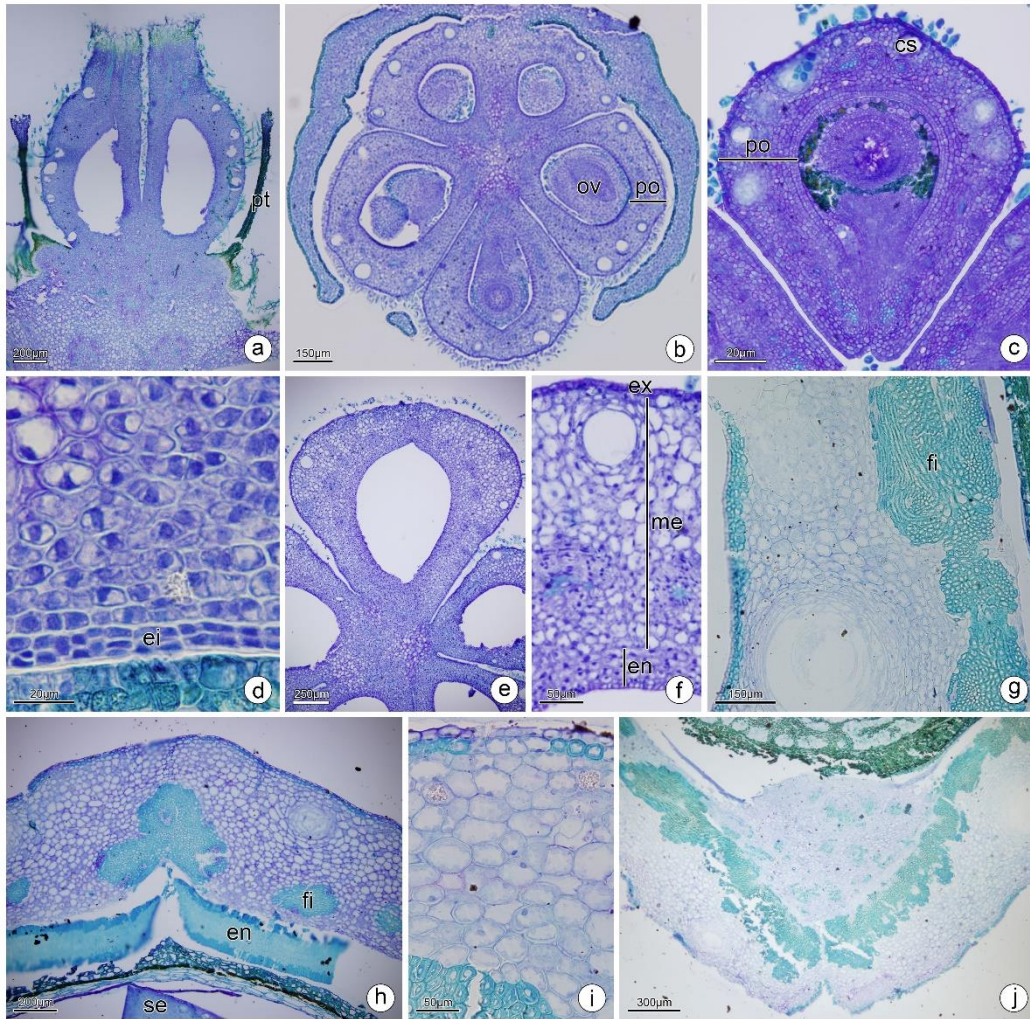
Fig. 2. *Balfourodendron riedelianum*. A, b: pré antese. c: antese. d, e: pós antese. f, g: fruto imaturo. h: Fruto maduro. Secção transversal (b–h). Secção longitudinal (a). **(a)** Aspecto geral da flor. **(b)** Região mediana do ovário. **(c)** Detalhe da região da epiderme interna ovariana. Notar as divisões anticlinais e periclinais. **(d)** Região mediana mostrando o início do desenvolvimento das alas. **(e)** Detalhe da ala. Notar os estômatos no exocarpo **(f)** Pormenor do mesocarpo. Notar fibras no mesocarpo interno. **(g)** Região da ala. Notar fibras e aerênquima no mesocarpo. **(h)** Detalhe do mesocarpo interno fibroso e endocarpo lignificado. Notar proeminência no exocarpo. **ae:** aerênquima; **es:** estômato; **en:** endocarpo; **fl:** floema; **me:** mesocarpo externo; **mi:** mesocarpo interno; **ov:** óvulo; **xy:** xilema; **seta:** divisões anticlinais e periclinais, *****: Protuberância.



Conchocarpus minutiflorus Groppo & Pirani e *Conchocarpus pentandrus* (A. St- Hil.)
Kallunki & Pirani – (Fig. 3)

O ovário de *Conchocarpus* é súpero, (Fig. 3A) composto por cinco carpelos unidos na base e com placentação axial (Fig. 3B). A parede ovariana é composta por epiderme externa, mesofilo ovariano e epiderme interna. A epiderme externa é unisseriada, com células justapostas de formato cubóide e núcleo evidente e com a presença de tricomas tectores por toda a sua extensão (Fig. 3B, 3C). O mesofilo é composto por cerca de 10 camadas de células parenquimáticas, com cavidades secretoras na camada externa, feixes vasculares colaterais imersos no parênquima, idioblastos contendo cristais e drusas (Fig. 3B, 3C). Na epiderme interna ocorrem divisões periclinais (Fig. 3D). No fruto imaturo o mesocarpo contém cerca de 20 camadas de células parenquimáticas (Fig. 3E, 3F) e no endocarpo há uma contínua divisão periclinal (Fig. 3F). No fruto maduro o mesocarpo possui fibras logo abaixo do exocarpo na região entre os carpelos (Fig. 3G) apresenta agrupamentos de fibras em vários sentidos (Fig. 3G, 3H, 3J) por toda sua extensão e o endocarpo é lignificado em diferentes direções (Fig. 3H). Na região dorsal de cada carpelo, há a formação da linha de deiscência (Fig. 3H; 3J).

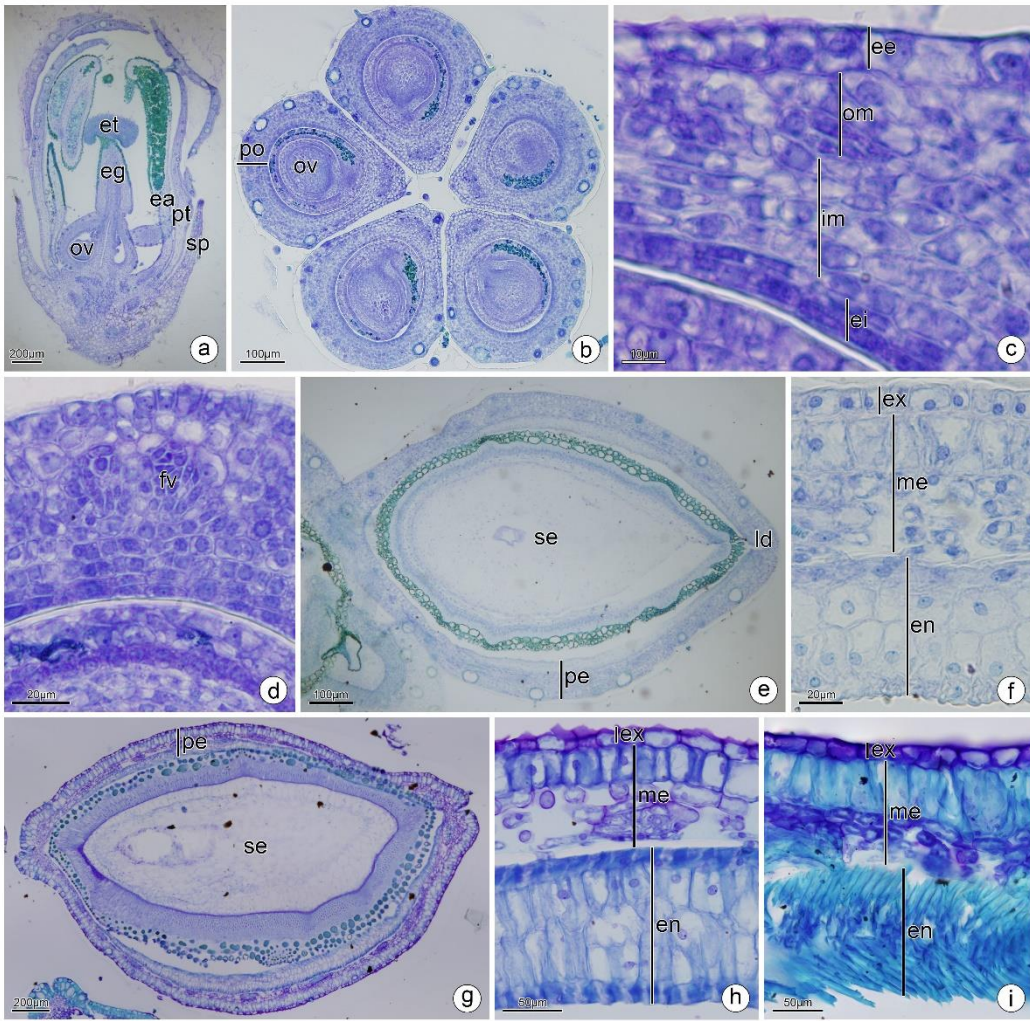
Fig. 3. *Conchocarpus minutiflorus* (b, c, d, e, f). *C. pentandrus* (a, g, h, i, j). a–c: Antese. d: Pós antese. e, f: Fruto imaturo. g–j: Fruto maduro. Secção transversal (b–j). Secção longitudinal (a, g). **(a)** Aspecto geral da flor mostrando carpelos concrecidos na base e livres na porção mediana. **(b)** Região basal do ovário. Notar os carpelos unidos na região central. **(c)** Detalhe da região do mesofilo, notar os tricomas, idioblastos contendo drusas, feixes vasculares e cavidades secretoras. **(d)** Detalhe da divisão periclinal da epiderme interna. **(e)** Detalhe do fruto imaturo. **(f)** Pormenor do pericarpo jovem. **(g)** Região do mesocarpo. Notar as fibras dispostas em sentidos variados. **(h)** Detalhe do endocarpo lignificado. **(i)** Detalhe dos cristais no mesocarpo e região de fraqueza mecânica. **(j)** Região ventral do fruto. **cs:** cavidade secretora; **ei:** epiderme interna; **en:** endocarpo; **ex:** exocarpo; **fi:** fibras; **fv:** feixe vascular; **me:** mesocarpo; **ov:** óvulo; **pt:** pétala; **po:** parede ovariana; **se:** semente.



Ertela trifolia Kuntze.- (Fig. 4)

O ovário de *Ertela trifolia* é súpero (Fig. 4A) composto por cinco carpelos conatos na base e com placentação axial (Fig. 4B). A parede ovariana é composta por epiderme externa, mesofilo ovariano e epiderme interna. A epiderme externa é unisseriada com células achatadas no sentido periclinal, com núcleo evidente e presença de tricomas glandulares (Fig. 4B). O mesofilo ovariano externo é composto por 3 a 4 camadas de células parenquimáticas de formatos variados e o mesofilo ovariano interno é formado de 3 a 4 camadas de células achatadas no sentido periclinal com cavidades secretoras na camada subepidérmica e presença de feixes vasculares imersos no parênquima (Fig. 4B–4D). Na epiderme interna ocorre divisão periclinal de células (Fig. 4C, 4D). No fruto imaturo as células do mesocarpo apresentam espaços intercelulares, as células do endocarpo aumentam de tamanho e ocorre a formação da linha deiscência (Fig. 4E, 4F). O fruto maduro possui mesocarpo externo lignificado, mesocarpo interno aerenquimático e endocarpo lignificado na região lateral do mericarpo (Fig. G-I).

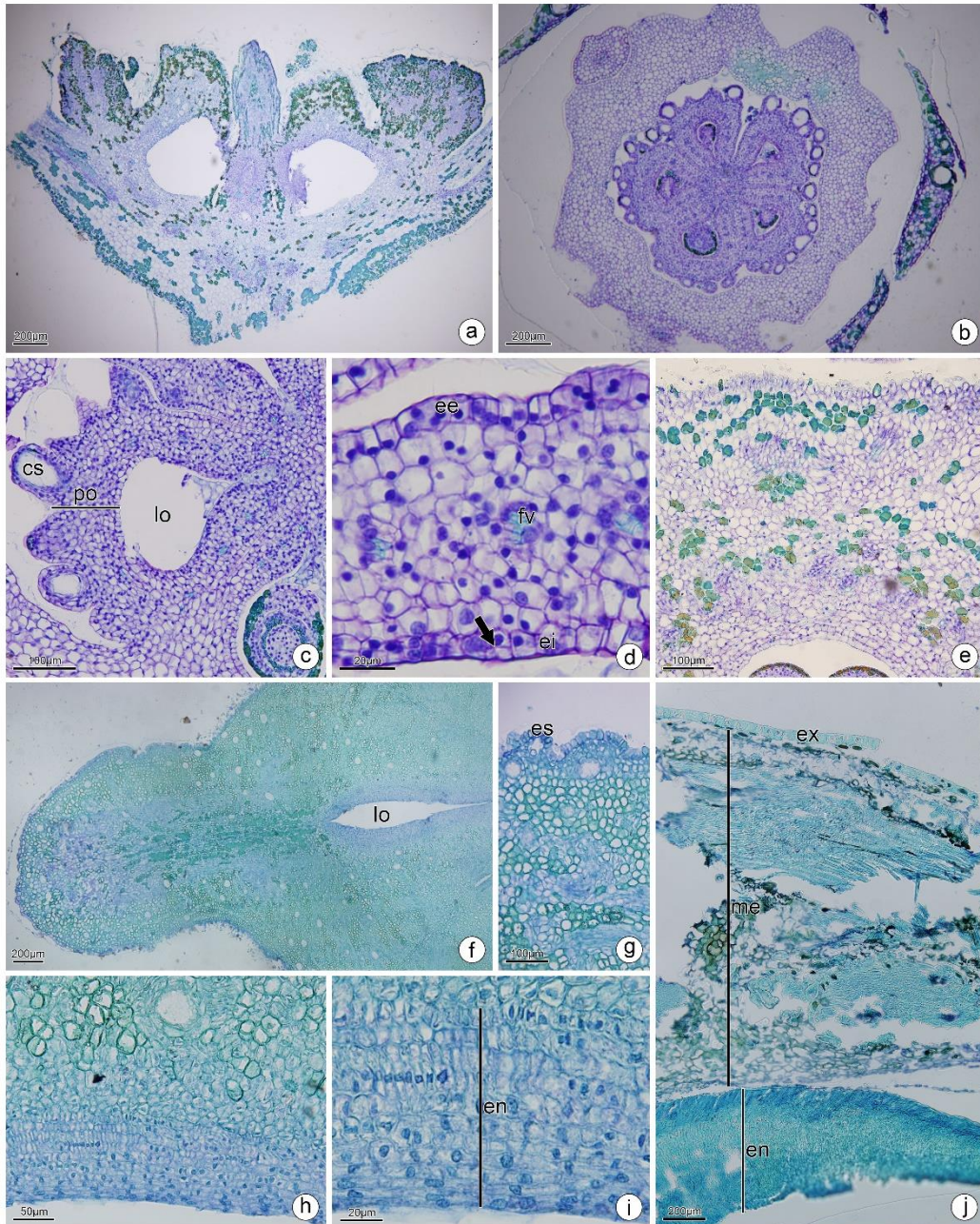
Fig. 4. *Ertela trifolia* Kuntze. a, b: Antese. c, d: Pós antese. e, f: Fruto imaturo. g, h: Fruto maduro. i: Fruto em dispersão. Secção transversal (b–i). Secção longitudinal (a). **(a)**. Aspecto geral da flor. **(b)** Região mediana do ovário. Notar os carpelos separados entre si. **(c)** Parede ovariana evidenciando as divisões na epiderme interna. **(d)** Parede ovariana com feixes colaterais imersos no mesofilo. **(e)** Aspecto geral do fruto imaturo evidenciando a linha de deiscência e semente. **(f)** Detalhe do pericarpo mostrando o aumento dos espaços no mesocarpo interno. **(g)** Fruto maduro. **(h)** Detalhe do pericarpo mostrando o início da lignificação do mesocarpo externo e endocarpo **(i)** Detalhe do pericarpo em fase de dispersão. **ea:** estame; **ee:** epiderme externa; **eg:** estilete; **ei:** epiderme interna; **en:** endocarpo; **et:** estigma; **fv:** feixe vascular; **ex:** exocarpo; **im:** mesofilo interno; **ld:** linha de deiscência; **me:** mesocarpo; **om:** mesofilo externo; **ov:** óvulo; **pt:** pétala; **pe:** pericarpo; **po:** parede ovariana; **se:** semente; **sp:** sépala.



Esenbeckia febrifuga (A. St-Hil.) A.Juss ex Mart. e *Esenbeckia leiocarpa* Engl – (Fig. 5)

O ovário de *Esenbeckia* é semi-ínfero (Fig. 5A) composto por 5 carpelos conatos e placentação axial (Fig. 5B). A parede ovariana é composta por epiderme externa, mesofilo ovariano e epiderme interna. A epiderme externa é unisseriada, com células justapostas em formato cuboide e núcleo evidente, em *E. leiocarpa* ocorrem tricomas glandulares e a presença de substâncias lipídicas (Fig. 5A, 5E) e em *Esenbeckia febrifuga* a epiderme externa apresenta saliências que comportam cavidades secretoras (Fig. 5B, 5C). O mesofilo é composto por feixes vasculares colaterais imersos no parênquima e cavidades secretoras. Em *E. febrifuga* o mesofilo é composto por cerca de 10 camadas de células parenquimáticas (Fig. 5C, 5D) e em *E. leiocarpa* por cerca de 25 camadas de células sendo encontrados no mesofilo externo idioblastos contendo cristais e drusas (Fig. 5E). A epiderme interna sofre divisões anticlinais e periclinais (Fig. 5D, 5E). No fruto imaturo o exocarpo possui estômato, tricomas glandulares por toda a extensão em *E. leiocarpa* (Fig. 5F, 5G); o mesocarpo é formado por compostos fenólicos, cavidades secretoras e feixes vasculares imersos no parênquima e contém cerca de 30 camadas de células parenquimáticas. São encontrados também feixes com fibras para a formação da linha de deiscência no mesocarpo. O endocarpo do fruto imaturo sofre divisão anticlinal e periclinal. (Fig. 5F–5I). No fruto maduro o exocarpo é lignificado, o mesocarpo parcialmente fibroso e o endocarpo lignificado com as células dispostas de maneira cruzada (Fig. 5J).

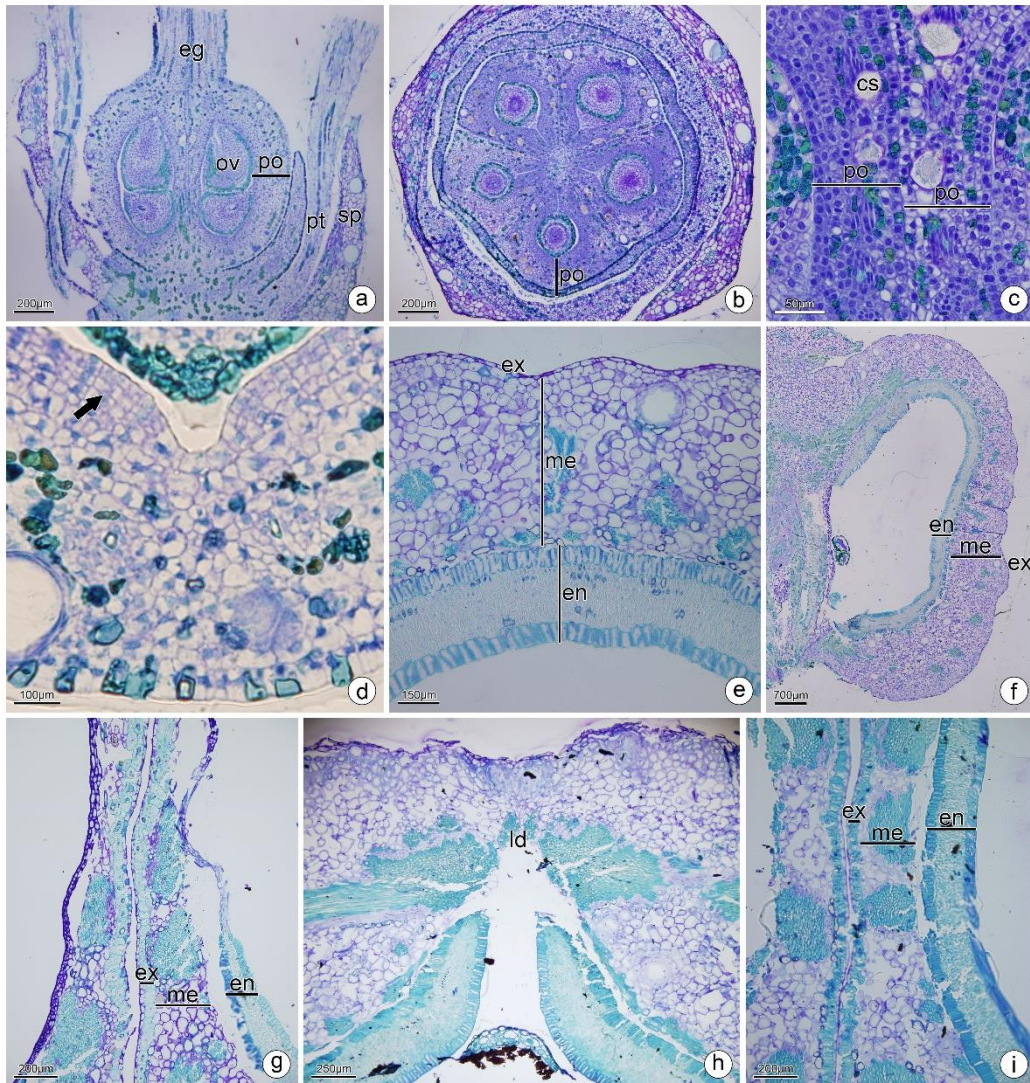
Fig. 5. *Esenbeckia febrifuga* (b,c,d). *E. leiocarpa* (a,e,f,g,h,i,j). a–d Antese. e: Pós antese. f–i: Fruto imaturo. j: Fruto maduro. Secção transversal (b–j). Secção longitudinal (a). **(a)** Aspecto geral da flor. **(b)** Região mediana do ovário. **(c)** Detalhe de um carpelo. Notar as cavidades secretoras na região subepidérmica. **(d)** Parede ovariana evidenciando as divisões na epiderme interna. **(e)** Detalhe da parede ovariana evidenciando os compostos fenólicos no mesofilo. **(f)** Detalhe do pericarpo. **(g)** Detalhe do estômato no exocarpo. **(h)** Detalhe do endocarpo multisseriado. **(i)** Endocarpo em divisão anticlinal e periclinal. **(j)** Detalhe do pericarpo em fase de dispersão. **cs:** cavidade secretora; **ee:** epiderme externa; **ei:** epiderme interna; **en:** endocarpo; **es:** estômato; **ex:** exocarpo; **fv:** feixe vascular; **lo:** lóculo; **me:** mesocarpo; **po:** parede ovariana; **seta:** divisões periclinais e anticlinalis.



Galipea jasminiflora (A.St-Hil.) Engl. – (Fig. 6)

O ovário de *Galipea jasminiflora* é súpero (Fig. 6A) composto por cinco carpelos conatos com placentação axial (Fig. 6B). A parede ovariana é dividida em epiderme externa, mesofilo ovariano e epiderme interna. A epiderme externa é unisseriada composta por células cuboides, justapostas com núcleo evidente e idioblasto fenólico (Fig. 6B–D). O mesofilo ovariano é composto por cerca de 10 camadas de células parenquimáticas, presença de cavidades secretoras principalmente na camada subepidérmica além de feixes vasculares colaterais imersos no parênquima, idioblastos fenólicos, principalmente na região ventral (Fig. 6A–D). A epiderme interna é composta por células achatadas periclinalmente e sofre divisões periclinais (Fig. 6D). No fruto imaturo há um aumento no número de células parenquimáticas para cerca de 20 camadas, também são encontrados agrupamentos de fibras, os idioblastos fenólicos e as cavidades são encontrados em menor número (Fig. 6E, 6F). No fruto maduro o endocarpo é lignificado e composto por fibras dispostas em sentidos antagônicos. Estas fibras ocupam a região lateral do carpelo (Fig. 6G–I) e vão diminuindo em direção à região ventral (Fig. 6F, 6G). Na região ventral a parede celular das células do endocarpo é mais espessa e péctica. Na região dorsal, em torno da linha de deiscência são encontrados agrupamentos de fibras (Fig. 6H).

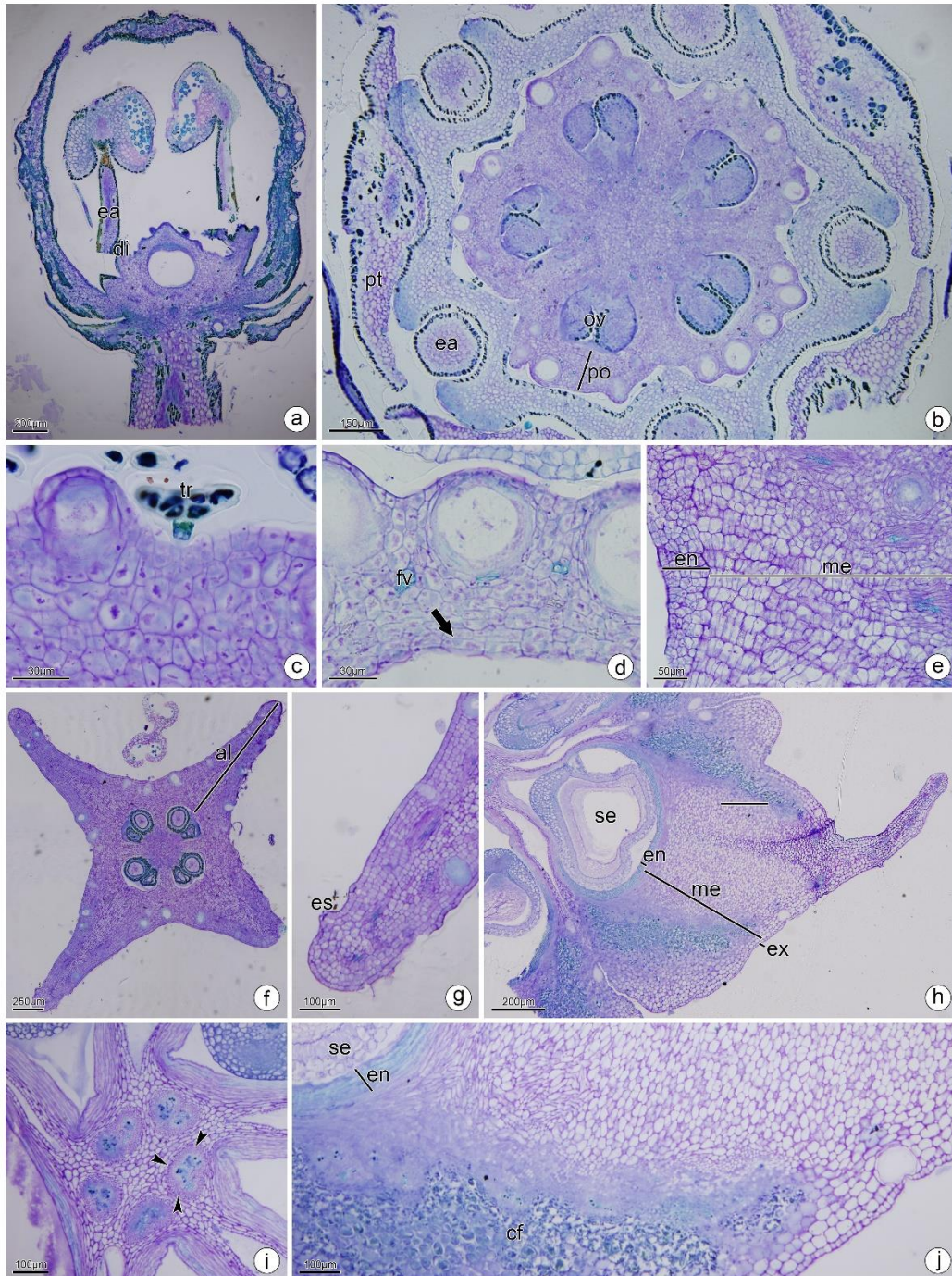
Fig. 6. *Galipea jasminiflora* (A. St-Hil.) Engl. a, b, c: Antese. d: Pós antese. e, f: Fruto imaturo. g, h, i : Fruto maduro. Secção transversal (b, c, d, e, g, h, i). Secção longitudinal (f). **a.** Aspecto geral da flor. **b.** Detalhe da região mediana do ovário. **c.** Região entre carpelos evidenciando as paredes ovarianas. **d.** Detalhe da parede ovariana mostrando divisões periclinais na epiderme interna. **e.** Detalhe do pericarpo evidenciando o endocarpo lignificado. **f.** Secção longitudinal de um carpelo. **g.** Detalhe da região ventral. **h.** Detalhe da região dorsal do fruto evidenciando a linha de deiscência. **i.** Região entre carpelos evidenciando partes do mesocarpo e endocarpo lignificado. **cs:** cavidade secretora; **eg:** estilete; **en:** endocarpo; **ex:** exocarpo; **ld:** linha de deiscência; **me:** mesocarpo; **ov:** óvulo; **pt:** pétala; **po:** parede ovariana; **sp:** sépala; **seta:** divisões periclinais.



Helietta apiculata Benth. (Fig. 7)

O ovário de *Helietta apiculata* é semi ínfero (Fig. 7A), composto por 4–5 carpelos conatos e com placentação axial (Fig. 7B). A parede ovariana é composta pela epiderme externa, mesofilo ovariano e epiderme interna. A epiderme externa é unisseriada, formada por células cuboides, justapostas com núcleo evidente e presença de tricomas glandulares (Fig. 7C). O mesofilo ovariano é composto por cerca de 8 camadas de células parenquimáticas, com idioblastos contendo cristais e drusas e compostos fenólicos, feixes vasculares colaterais imersos no parênquima e cavidades secretoras localizadas na camada subepidérmica (Fig. 7D). A epiderme interna é composta por células achatadas periclinamente e que dá início a divisões periclinais (Fig. 7D, E). Em antese as divisões do mesofilo e da epiderme interna se intensificam (Fig. 7E). No fruto imaturo ocorrem divisões em todos os planos do mesocarpo sendo mais intensas nas regiões dorsais dos carpelos (Fig. 7F) formando as alas do fruto (Fig. 7F, G). No fruto maduro é possível verificar uma região de fraqueza por onde o samarídeo será destacado (Fig. 7I), há a lignificação do endocarpo e o acúmulo de compostos fenólicos nas regiões laterais dos carpelos (Fig. 7H, J).

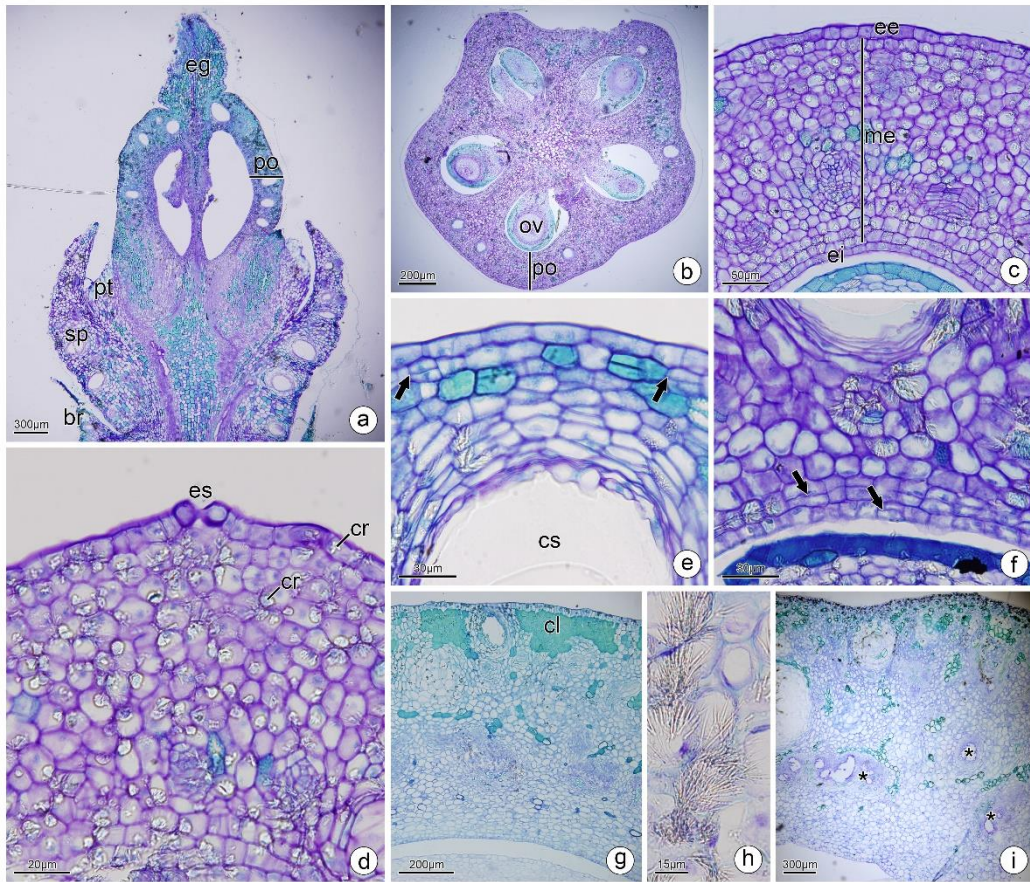
Fig. 7. *Helietta apiculata* Benth. a,b,c,d : Antese. e: Pós antese. f,g: Fruto imaturo. h–j: Fruto maduro. Secção transversal (b–h). Secção longitudinal (a). **(a)** Aspecto geral da flor **(b)** Região mediana-superior do ovário. **(c)** Detalhe do tricoma multicelular na epiderme externa e da cavidade secretora. **(d)** Detalhe da parede ovariana evidenciando as cavidades secretoras e feixes vasculares colaterais imersos no mesofilo e divisões na epiderme interna. **(e)** Divisão do mesofilo para a formação da ala. **(f)** Região mediana do fruto imaturo evidenciando quatro alas. **(g)** Detalhe da ala **(h)** Fruto maduro. **(i)** Região ventral do fruto. **(j)** Pormenor do pericarpo evidenciando o endocarpo lignificado. **al:** ala; **cf:** composto fenólico; **di:** disco nectarífero; **ea:** estame; **en:** endocarpo; **es:** estômato; **ex:** exocarpo; **fv:** feixe vascular; **me:** mesocarpo; **ov:** óvulo; **pt:** pétala; **po:** parede ovariana; **se:** semente; **tr:** tricoma; **seta:** divisões periclinais; **ponta de seta:** região de destacamento do fruto.



Hortia oreadica Groppo et al. (Fig. 8)

O ovário de *Hortia oreadica* é súpero (Fig. 8A) composto por cinco carpelos unidos com placentação axial (Fig. 8B). A parede ovariana é composta pela epiderme externa, mesofilo e epiderme interna. A epiderme externa é unisseriada, com células achatadas no sentido periclinal, núcleos evidentes, cristais prismáticos e estômatos (Fig. 8C, D). O mesofilo ovariano tem cerca de 15 camadas de células parenquimáticas com cavidades secretoras na periferia, cristais prismáticos, compostos fenólicos e feixes vasculares colaterais (Fig. 8C–E). A epiderme interna possui células achatadas periclinamente (Fig. 8C; F). São encontradas divisões anticlinais e periclinais na camada mais interna do mesofilo e da epiderme interna (Fig. 8F). No fruto imaturo as divisões do mesocarpo interno e endocarpo são mais evidentes, aumentando o número de camadas em cerca de 30 (Fig. 8G), os cristais prismáticos passam a ser ramificados com terminações pontiagudas (Fig. 8H). O fruto maduro é uma baga com mesocarpo com 50 camadas de células parenquimáticas, os cristais são mais conspícuos próximo às cavidades secretoras (Fig. 8I). Compostos fenólicos são encontrados principalmente na camada subepidérmica (Fig. 8I). Nesta fase, é possível verificar o início da degradação da parede celular do mesocarpo (Fig. 8I).

Fig. 8. *Hortia oreadica* Groppo et al. a, b, c: Antese. d, e, f: Pós antese. g, h: Fruto imaturo. i: Fruto maduro. Secção transversal (b–i). Secção longitudinal (a). **a.** Aspecto geral da flor. **b.** Região mediana do ovário. **c.** Parede ovariana com feixes vasculares colaterais imersos no mesofilo. **d.** Detalhe da parede ovariana evidenciando cristais no mesofilo e epiderme. **e.** Detalhe da região externa do ovário mostrando divisões na região subepidérmica. **f.** Detalhe da região interna do ovário evidenciando as divisões na epiderme interna e região subepidérmica. **g.** Fruto imaturo com idioblastos contendo conteúdo fenólico concentrados na região mais externa do mesocarpo. **h.** Detalhe dos cristais com ramificações pontiagudas no mesocarpo do fruto imaturo. **i.** Fruto maduro e o início da degradação da parede celular de células do mesocarpo. **br:** bráctea; **cf:** composto fenólico; **cs:** cavidade secretora; **cr:** cristal; **eg:** estilete; **ee:** epiderme externa; **ei:** epiderme interna; **es:** estômato; **fv:** feixe vascular; **me:** mesofilo; **ov:** óvulo; **po:** parede ovariana; **pt:** pétala; **sp:** sépala; **seta:** divisões periclinais, *: aerênquima.



Zanthoxylum rhoifolium Kallunki - (Fig. 9)

O ovário de *Zanthoxylum rhoifolium* é súpero (Fig. 9A), composto por um carpelo com placentação parietal (Fig. 9B). A parede ovariana possui epiderme externa, mesofilo e epiderme interna. A epiderme externa apresenta células cuboides, justapostas, com núcleo evidente e presença de estômato (Fig. 9C–E) e o mesofilo ovariano contém cerca de 14 camadas de células parenquimáticas, idioblastos contendo cristais, taninos e mucilagens (Fig. 9C–F). A epiderme interna é composta por células achatadas no sentido periclinal e sofre divisões periclinais (Fig. 9F). No fruto imaturo, há um aumento na camada de células parenquimáticas no mesocarpo para cerca de 20 camadas e uma contínua divisão periclinal e anticlinal das células do endocarpo (Fig. 9G–H). No fruto maduro, o endocarpo se apresenta em várias camadas lignificadas que se encontram em diferentes sentidos (Fig. 9I). Na região lateral estas camadas são mais proeminentes do que nas regiões dorsal e ventral do fruto (Fig. 9G–I).

Fig. 9. *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. a, b, c, d: Antese. e, f: Pós antese. g, h: Fruto imaturo. i: Fruto maduro. Secção transversal (b–i). Secção longitudinal (a). **(a)**. Aspecto geral da flor. **(b)**. Região mediana do ovário. **(c)**. Parede ovariana com cavidade secretora no mesofilo e divisões na epiderme interna. **(d)**. Parede ovariana com cristais na epiderme externa e a formação da linha de deiscência. **(e)**. Detalhe da região externa do ovário evidenciando o estômato e cristais na epiderme externa e composto fenólico no mesofilo. **(f)**. Detalhe da região interna evidenciando mucilagem no mesofilo e divisões na epiderme interna. **(g)**. Região mediana do fruto maduro. Notar a linha de deiscência. **(h)**. Detalhe do pericarpo. Notar o endocarpo lignificado. **(i)**. Detalhe do pericarpo maduro evidenciando o endocarpo lignificado. **cf**: composto fenólico ; **cr**: cristal; **cs**: cavidade secretora; **ee**: epiderme externa; **eg**: estilete; **ei**: epiderme interna; **en**: endocarpo; **es**: estômato; **et**: estigma; **ex**: exocarpo; **ld**: linha de deiscência; **lo**: lóculo; **me**: mesocarpo; **mo**: mesofilo ovariano; **mu**: mucilagem; **ov**: óvulo; **pt**: pétala; **pe**: pericarpo; **po**: parede ovariana; **se**: sépala.

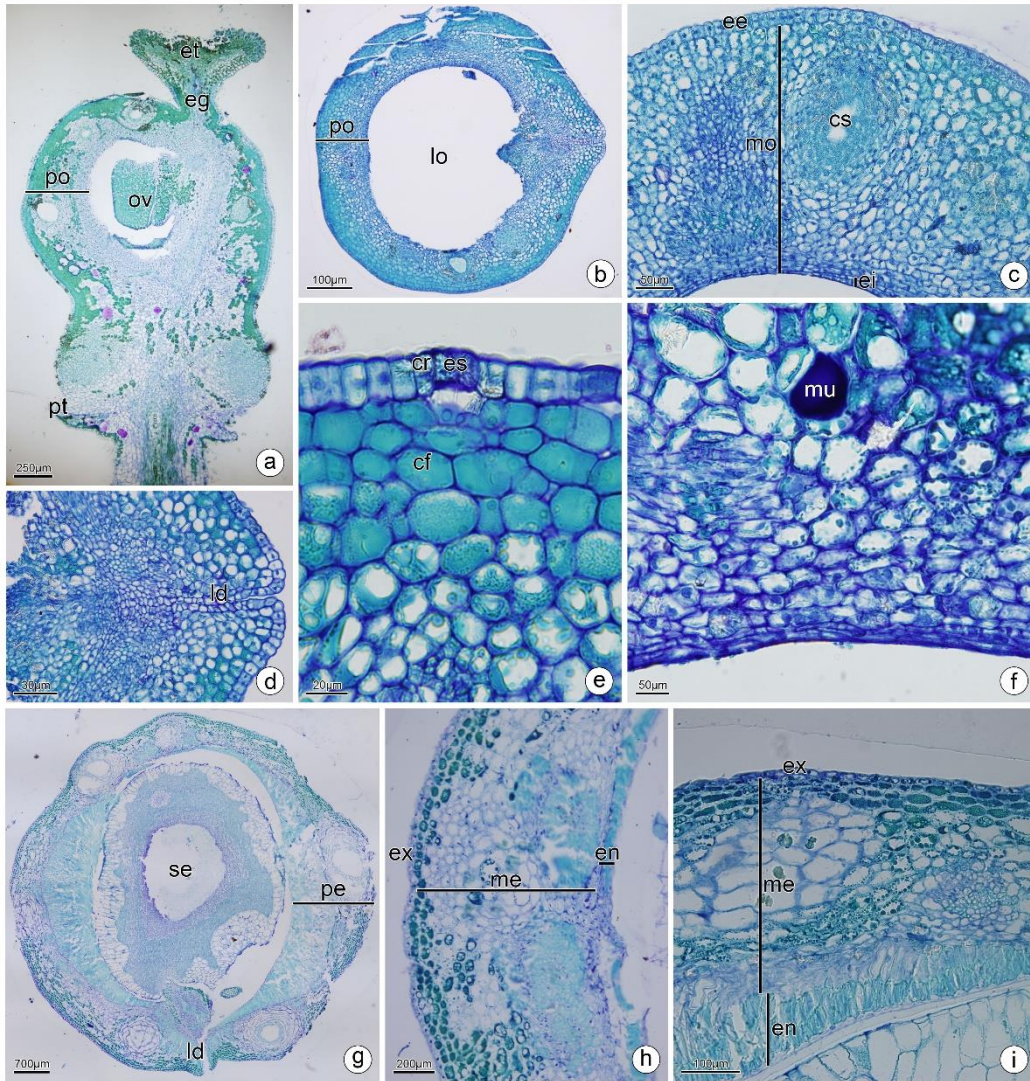


Tabela 5: Características do pericarpo das diferentes espécies estudadas em Galipeeae e de espécies descritas na literatura.

Pericarpo								
Espécies	Exocarpo	Mesocarpo						Endocarpo
		externo	interno	cavidade secretora	cristais	compostos fenólicos	Mucilagem	
<i>Balfourodendron riedelianum</i>	Unisseriado Estômato Tricoma tector	Multiplicativo Parenquimático	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibras	+	+	-	-	Multiplicativo Lignificado
<i>Conchocarpus minutiflorus</i>	Unisseriado	Multiplicativo Parenquimático	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibras	+	+	-	-	Multiplicativo Lignificado

<i>Conchocarpus pentandrus</i>	Unisseriado	Multiplicativo Parenquimático	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibras	+	+	-	-	Multiplicativo Lignificado
<i>Ertela trifolia</i>	Unisseriado Lignificado	Multiplicativo lignificado	Multiplicativo parenquimático	+	-	-	-	Multiplicativo Lignificado
<i>Esenbeckia febrífuga</i>	Unisseriado Lignificado Estômatos	Multiplicativo parenquimático feixes de fibras	Multiplicativo parenquimático feixes de fibras	+	-	+	-	Multiplicativo Lignificado
<i>Esenbeckia leiocarpa</i>	Unisseriado Lignificado estômatos tricomias glandulares	Multiplicativo parenquimático feixes de fibras	Multiplicativo parenquimático feixes de fibras	+	-	+	-	Multiplicativo lignificado

<i>Galipea jasminifolia</i>	Unisseriado Lignificado nas laterais do carpelo	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibras	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibras	+ 	- 	+ 	- 	Multiplicativo Lignificado
<i>Helietta apiculata</i>	Unisseriado Estômato	Multiplicativo Parenquimático	Multiplicativo Parenquimático	+ 	- 	+ 	- 	Multiplicativo Lignificado
<i>Hortia oeradica</i>	Unisseriado Estômatos	Multiplicativo parenquimático	Multiplicativo Parenquimático	+ 	+ 	+ 	- 	Multiplicativo Parenquimático
<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>	Unisseriado Estômatos	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibras	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibras	+ 	+ 	+ 	+ 	Multiplicativo Lignificado
<i>Casimiroa edulis</i> La Llave (Roth 1977)	Unisseriado estômato	Multiplicativo Parenquimático	Multiplicativo Parenquimático	+ 	- 	+ 	- 	Multiplicativo Lignificado

<i>Dictamnus albus</i> L. (Brückner 1991)	Unisseriado Estômato Tricomas	Multiplicativo Parenquimático com feixe de fibras	Multiplicativo Parenquimático com feixe de fibras	+	+	-	-	Multiplicativo Lignificado
<i>Metrodorea nigra</i> A. St. -Hil. (Souza et al. 2008)	Unisseriado	Multiplicativo Parenquimático	Multiplicativo Lignificado	+	-	-	-	Multiplicativo Lignificado
<i>Pilocarpus pennatifolius</i> Lem. (Souza et al. 2005)	Unisseriado	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibra	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibra	+	-	+	-	Multiplicativo Lignificado
<i>Ptelea trifoliata</i> L. (Brückner 1991)	Unisseriado Estômato	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibra	Multiplicativo Parenquimático com feixes de fibra	+	+	+	-	Multiplicativo Lignificado

<i>Ruta graveolans</i> L. (Brückner 1991)	Unisseriado	Multiplicativo	Multiplicativo					Multiplicativo
	Estômato	Parenquimático	Parenquimático	+	+	+	-	Lignificado
	Tricoma							
<i>Zanthoxylum simulans</i> Hance. (Brückner 1991)	Unisseriado	Multiplicativo	Multiplicativo					Multiplicativo
	Estômato	Parenquimático com feixes de fibra	Parenquimático com feixes de fibra	-	-	+	-	Lignificado

3.2.Reconstrução de estado de caráter ancestral

O caráter endocarpo elástico apresentado nas análises de máxima verossimilhança (Fig. 10) indica que a presença de endocarpo elástico está presente no ancestral comum de Galipeeae (94 Bootstrap - BP). A análise da evolução de caracteres mostrou que a ausência de endocarpo elástico (com suas posteriores modificações) é uma novidade evolutiva em relação à presença de endocarpo elástico, surgindo de maneira independente em *Helietta* (94 BP) e *Hortia* (100 BP) e para a espécie *Balfourodendrom riedelianum*.

Para o caráter “tipo de fruto” (Fig.11) a presença de esquizocarpo do tipo folículo está presente no ancestral comum de Galipeeae (100 BP). Na análise de evolução dos caracteres ancestrais mostrou que os tipos de frutos: cápsula, esquizocarpo do tipo samarídeo e sâmara são uma novidade evolutiva para o grupo em relação ao esquizocarpo do tipo folículo. O estado de caráter nucáceo é uma autapomorfia para *Balfourodendron riedelianum*. O estado de caráter esquizocarpo do tipo samarídeo surgiu apenas uma vez no ancestral comum de *Helietta* (100 BP), sendo uma sinapomorfia para o gênero. O estado de caráter cápsula, surgiu quatro vezes na história evolutiva do grupo: no ancestral comum do clado *Metrodorea*, *Esenbeckia Balfourodendrum* e *Helietta* (100 BP), sendo uma sinapomorfia para os gêneros *Metrodorea* (100 BP) e *Esenbeckia* (100 BP); no ancestral comum do clado *Rauia*, *Galipea* e Gênero Novo (100); no ancestral comum do clado de *Raputiarana*, *Toxosiphon* e *Desmotes* (49 BP), com reversão em *Desmotes*; e de maneira independente em *Neoraputia paraensis*.

O caráter “grau de conação dos carpelos” (Fig. 12) apresentado nas análises de máxima verossimilhança propõe que o estado de caráter “conato na base e estilete” está presente no ancestral comum de Galipeeae (52 BP). A análise de evolução desses caracteres propôs que os estados de caráter carpelos conatos pela base, conatos pelo

estilete e conatos são uma novidade evolutiva para o grupo. O caráter “carpelos conatos pela base” surgiu três vezes: no ancestral comum de *Pilocarpus* e de maneira independente para *Conchocarpus pentandrus*, *C. minutiflorus*, e *C. longifolius*. O caráter conato pelo estilete surgiu no ancestral comum e sinapomorfico para *Conchocarpus* (96 BP); no ancestral comum de *Ertela* e *Ticorea* (100 BP), sendo uma sinapomorfia para *Ertela*; no ancestral comum do clado *Erythrochiton*, *Neoraputia*, *Andreadoxa*, *Sigmathantus*, *Conchocarpus*, *Rauia* e *Galipea* (92 BP), sendo uma sinapomorfia para o clado *Erythrochiton* e *Conchocarpus toxicarius* (100 BP), e para os gêneros *Conchocarpus* (100 BP) e *Ertela* (100).

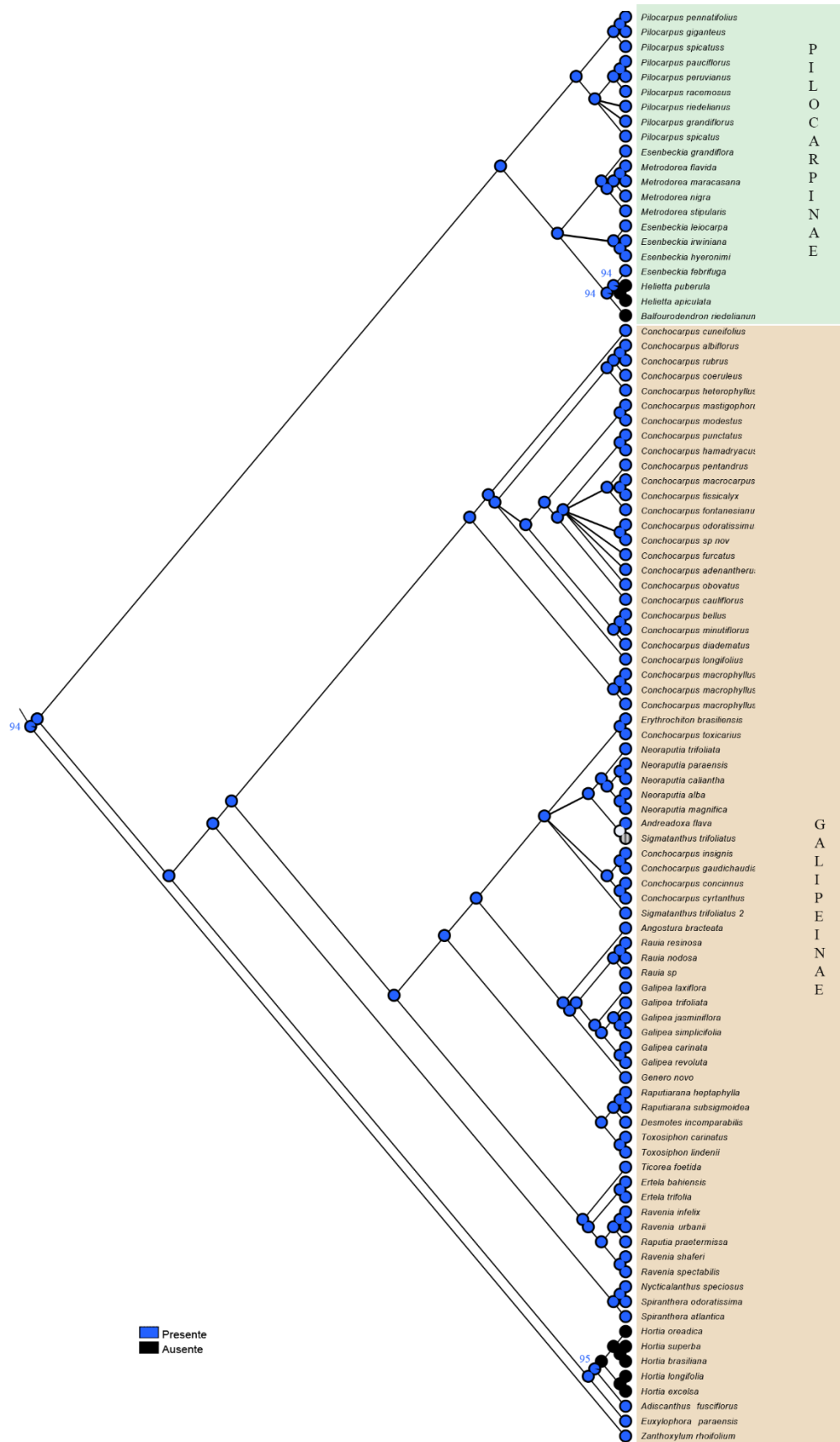


Figura 10: Análise de reconstrução dos estados de caráter ancestral obtidas por máxima verossimilhança mostrando a evolução de caráter 1-Endocarpo elástico.

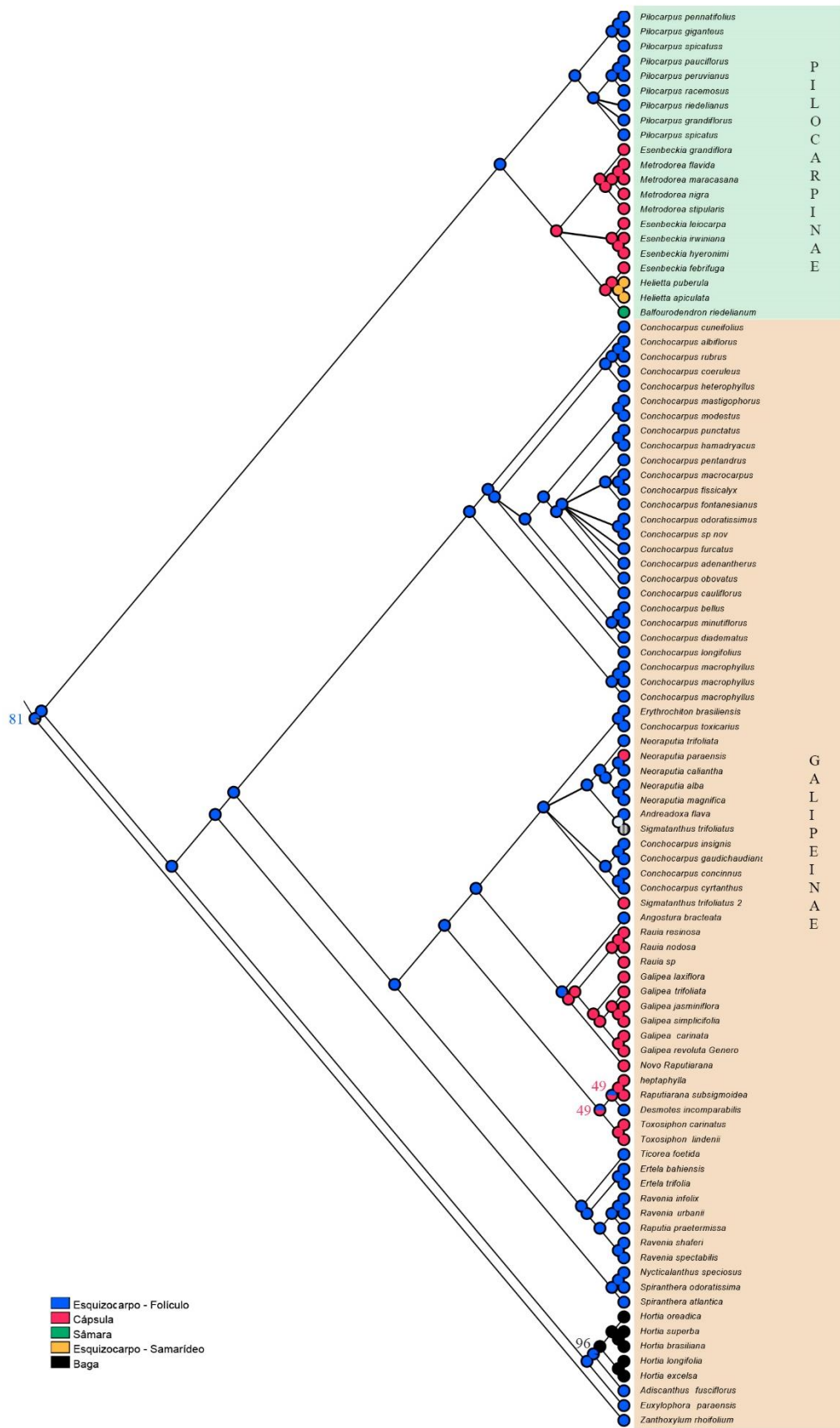


Figura 21: Análise de reconstrução dos estados de caráter ancestral obtidas por máxima verossimilhança mostrando a evolução de caráter 2- Tipo de fruto.

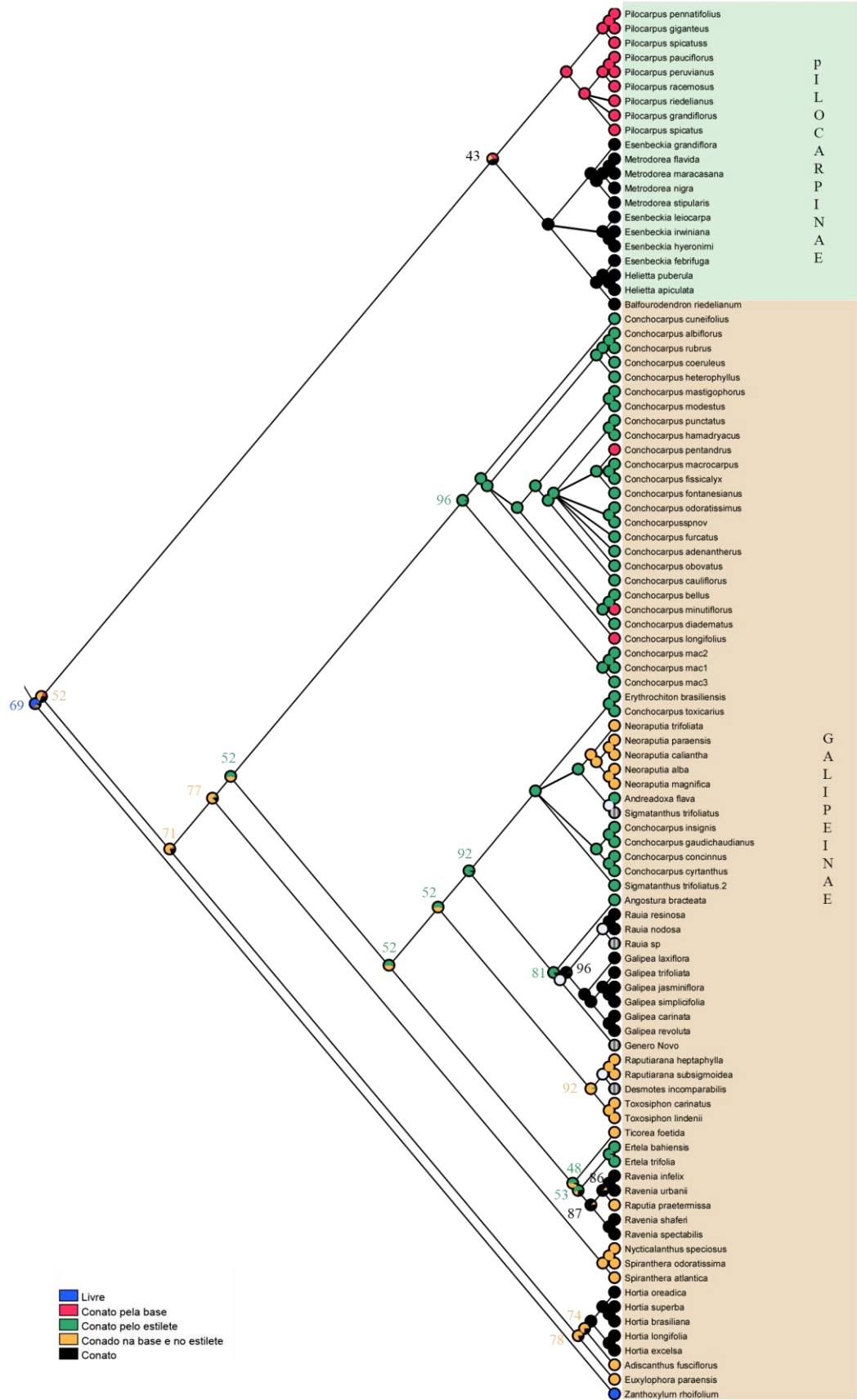


Figura 32: Análise de reconstrução dos estados de caráter ancestral obtidas por máxima verossimilhança mostrando a evolução de caráter 3- Grau de conação de carpelos.

4. DISCUSSÃO

4.1.Ontogenia:

De acordo com Cronquist (1981) os frutos em Rutaceae são diversos, mas ainda que haja variabilidade morfológica nos frutos em Galipeae, especialmente com relação ao tipo de fruto, tamanho e com alguns caracteres anatômicos, que podem inclusive auxiliar na identificação e caracterização das espécies, os frutos apresentaram grande similaridade, com muitos caracteres homogêneos o que indica um padrão de desenvolvimento e anatômico para a tribo.

A posição do ovário em *Esenbeckia febrifuga*, *E. leiocarpa* e *Helietta apiculata* é semi-ínfero. Diferente por descrito por Engler (1931), que considera ovário súpero como o único tipo em Rutaceae. Segundo Stevens (2001) o ovário de Rutaceae possui desde diferentes níveis de conação até carpelos totalmente livres. Essa variação reportada por Stevens foi observada nas espécies estudadas. Em *Balfourodendron riedelianum*, *Helietta apiculata* e *Hortia oreadica* os carpelos são conatos. Já em *Conchocarpus minutiflorus*, *Conchocarpus pentandrus*, *Esenbeckia febrifuga*, *Esenbeckia leiocarpa* e *Galipea jasminiflora* os carpelos são conatos somente na base. Em *Ertela trifolia* os carpelos são conatos somente no estilete e em *Zanthoxylum rhoifolium* é unicarpelar.

Os frutos pentacarpelares deiscetes de *Conchocarpus pentandrus*, *C. minutiflorus* são conatos na região basal e expõem as sementes pela abertura na região dorsal. Segundo Barroso et al. (1999) *Conchocarpus minutiflorus* e *Conchocarpus pentandrus* possuem fruto do tipo múltiplo, pois são originados de um gineceu "apocarpóide". Para os autores, essa é uma condição de frutos que são originados de

ovários conatos em sua base. Ainda considerando Barroso et al. (1999), o fruto de *Esenbeckia febrifuga*, *E. leiocarpa* e *Galipea jasminiflora* se enquadraria como cápsula loculicida, pois se origina de ovário sincárpico. Com relação a abertura dos frutos, Barroso et al (1999) afirmam que a região ventral seria responsável. O que não foi observado neste estudo para as espécies estudadas de *Conchocarpus*, *Esenbeckia* e *Galipea*. Já a definição de fruto múltiplo proposta por Barroso et al (1999) para o fruto unicarpelar de *Zanthoxylum rhoifolium* é apropriada, inclusive em relação a sua abertura, que ocorre na região ventral do carpelo.

Os frutos indeiscentes nas espécies estudadas são divididos em carnosos (*Hortia oreadica*) e secos (*Balfourodendron riedelianum* e *Helietta apiculata*). Segundo Barroso et al. (1999), *Hortia oreadica* enquadra-se no tipo drupa (nuculânio). Para justificar essa classificação, relatam a presença pirênio em frutos deste gênero. Em *Hortia oreadica* não houve desenvolvimento de camada lignificada na região mais interna do fruto. Assim, o termo mais correto segundo esses autores seria bacáceo. Em *Balfourodendron riedelianum* a estrutura madura permanece unida e com a formação de alas. Segundo Barroso et al. (1999) esse tipo de fruto é enquadrado como nucáceo. Já os frutos *Helietta apiculata* segundo Barroso et al (1999) são liberados em mericarpos, mais especificamente samarídeos, pois em cada mericarpo há o desenvolvimento de uma ala.

O endocarpo lignificado de Rutaceae é derivado das divisões da epiderme interna do ovário. Isso foi observado neste trabalho e em Beltrati (1991) com *Esenbeckia febrifuga*, Brückner (1991) com *Dictamnus albus*, *Ruta graveolens* e *Zanthoxylum simulans*, de Souza et al. (2005) com *Pilocarpus pennatifolius* e de Souza et al. (2008) com *Metrodorea nigra*. Diferentemente do que ocorre em frutos de *Manihot* (Euphorbiaceae) em que a camada lignificada é originada a partir do mesofilo interno e epiderme interna (Oliveira & Oliveira 2009).

Dentre as espécies estudadas, somente *Hortia oreadica* não possui endocarpo lignificado. Todas as outras espécies (independente de sua condição deiscente ou indeiscente) possuem endocarpo multiplicativo lignificado como já reportado por Roth (1977) para *Casimiroa edulis*, Brückner (1991) para *Dictamnus albus*, *Ptelea trifoliolata*, *Ruta graveolans* e *Zanthoxylum simulans*. A estrutura do endocarpo lignificado é semelhante para todos os frutos que o possuem. Na porção dorsal e ventral do carpelo, a lignificação é menos desenvolvida, já nas porções laterais do carpelo há um maior desenvolvimento da camada lignificada. Entretanto, há uma diferença na disposição das fibras do endocarpo entre os frutos deiscentes e indeiscentes deste estudo. Nos frutos deiscentes estudados (*Conchocarpus minutiflorus*, *C. pentandrus*, *Esenbeckia febrifuga*, *E. leiocarpa*, *Galipea jasminiflora*, *Ertela trifolia* e *Zanthoxylum rhoifolium*), o endocarpo possui suas fibras marginais dispostas de maneira alongada em sentido periclinal e suas fibras mais internas alongadas longitudinalmente. Segundo Fahn e Zohary (1955) a disposição de fibras em diferentes planos de orientação são responsáveis pela abertura de frutos deiscentes de Leguminosae. Em Rutaceae, o posicionamento das fibras do mesocarpo e do endocarpo pode promover a abertura em frutos deiscentes.

A abertura explosiva dos frutos causando a dispersão das sementes é um movimento rápido encontrado em muitas plantas com flores (Hofhuis *et al.* 2016). Na maioria dos frutos deiscentes de Rutoideae, que expulsam suas sementes, a epiderme interna dos ovários sofre divisões periclinais e produz endocarpo dorsilateral fino e seco (Hartl 1957). O endocarpo de *Conchocarpus minutiflorus*, *C. pentandrus*, *Ertela trifolia*, *Esenbeckia febrifuga*, *E. leiocarpa* e *Galipea jasminiflora* é expelido juntamente com a semente, participando ativamente na dispersão autocórica. Em *Zanthoxylum rhoifolium*, por outro lado, o endocarpo não é ejetado para fora do fruto e a semente permanece exposta, pêndula pelo funículo, até ser levada por um dispersor. Essa última característica

foi observada por Kubtziki *et al.* (2011) para os gêneros *Geijera*, *Tetradium*, *Melicope*, *Tetractomia* e *Perryodendron* (todos da Ásia e Oceania) . Trabalhos com espécies de Galipeae como de Beltrati (1991) com *Esenbeckia febrifuga*, Brückner (1991) com *Dictamnus albus*, *Ruta graveolens* e *Zanthoxylum simulans*, de Souza *et al.* (2005) com *Pilocarpus pennatifolius* e Souza *et al.* (2008) com *Metrodorea nigra* descrevem também o endocarpo como responsável pela dispersão das sementes. Em Brassicaceae, Hofhuis *et al.* (2016) verificou que no fruto de *Cardamine hirsuta* ocorre um mecanismo explosivo para dispersar sua semente através de uma tensão no pericarpo gerando a energia elástica necessária para explosão. Essa tensão é gerada por uma contração diferencial dos tecidos da parede do fruto através de um mecanismo envolvendo pressão de turgor, geometria celular e propriedades da epiderme, onde o endocarpo, controlado por uma deposição de lignina de maneira assimétrica, desempenha um papel mecânico para a quebra explosiva do fruto.

Os frutos indeiscentes (com exceção de *Hortia oreadica*) possuem endocarpo lignificado, mas a direção das fibras não é divergente como nos frutos deiscentes. Em *Balfourodendron riedelianum* as fibras do endocarpo são todas levemente oblíquas e o mesocarpo é bastante lignificado quando maduro. Já *Helietta apiculata* possui fibras achatadas no sentido periclinal e não possui mesocarpo lignificado. Talvez nestes dois casos a disposição das fibras do endocarpo ser diferente das espécies deiscentes não promova a devida tração para a abertura do fruto. *Hortia oreadica* não possui lignificação no fruto maduro, reafirmando sua inclusão na terminologia bacáceo (segundo Barroso *et al.* 1999) ou baga (Segundo Roth 1977).

Dentre os frutos deiscentes estudados, há um claro padrão anatômico em *Conchocarpus*, *Esenbeckia*, *Galipea* e *Zanthoxylum*. Nessas espécies, além do padrão do endocarpo discutido anteriormente, o mesocarpo parenquimático possui feixes de fibras

dispostos em diferentes direções. Já *Ertela trifolia* possui uma variação significativa, onde o mesocarpo externo é lignificado, o mesocarpo interno parenquimático por todo o fruto e o endocarpo possui fibras em sentidos antagônicos. Foram observadas também a presença de cavidades secretoras em todas as espécies. Essa é uma característica comum para a família (MetCalfe & Chalk 1979, Cronquist 1981, Souza 2003).

O exocarpo é unisseriado assim como em *Dictamnus albus*, *Ptelea trifoliata*, *Ruta graveolans*, *Zanthoxylum simulans* (Brückner 1991), *Metrodorea nigra* (Souza et al. 2008) e *Pilocarpus pennatifolius* (Souza et al. 2005). A lignificação do exocarpo foi verificada em *Esenbeckia febrifuga*, *E. leiocarpa* e nas laterais do carpelo de *Galipea jasminiflora*. Estômatos foram encontrados em *Esenbeckia febrifuga*, *Esenbeckia leiocarpa*, *Helietta apiculata*, *Hortia oreadica* e *Zanthoxylum rhoifolium*. Para Roth (1977) a ocorrência de estômato no exocarpo é comum, sendo a função dessa estrutura de controlar a temperatura e balanço hídrico por meio da evapotranspiração.

O mesocarpo de *Esenbeckia leiocarpa*, *Galipea jasminiflora*, *Hortia oreadica* e *Zanthoxylum rhoifolium* é formado por parênquima com idioblastos fenólicos. Estes idioblastos também são encontrados no mesocarpo de *Casimiroa edulis* (Roth 1977), *Pilocarpus pennatifolius* (Souza et al. 2003), *Ptelea trifoliolata*, *Ruta graveolens* e *Zanthoxylum simulans* (Brückner 1991). Idioblastos secretores estão presentes na maioria dos frutos (Roth 1977) e a presença de compostos fenólicos tem como função auxiliar no mecanismo de interação entre plantas e animais, agindo como dissuasivo alimentar e podendo reduzir a herbivoria (Castro et al. 2006).

Outro componente encontrado no mesocarpo são os idioblastos contendo cristais prismáticos em *Conchocarpus minutiflorus*, *Conchocarpus pentandrus*, *Hortia oreadica*, e *Zanthoxylum rhoifolium*. Drusas foram encontradas nas espécies estudadas de *Conchocarpus* e cristais, provavelmente de hesperidina, com formato pontiagudo

dispostos próximos às cavidades secretoras e de maneira concêntrica no mesocarpo de *Hortia oreadica* e *Zanthoxylum rhoifolium*. A possível natureza flavonídica destes cristais indicam prováveis cristais de hesperidina, que segundo Nogata *et al.* (2006), ocorrem em Rutaceae e Apiaceae. Pouco se sabe sobre a função desses cristais, porém a provável indicação de flavonóide demonstra que são sinalizadores nas interações planta-planta e planta-microorganismo (Inoue *et al.* 2014). A presença de cristais agrupados no mesofilo de Rutaceae foi descrita por Solereder (1908) e Metcalfe & Chalk (1957) que, de um modo geral, possuem a função de suporte estrutural, proteção contra herbívoros e manutenção do balanço iônico, pelo armazenamento de oxalato e cálcio nos idioblastos que os contém (Franceschi & Horner Jr. 1980).

4.2.Reconstrução de caracteres:

A família Rutaceae possui história sistemática muito confusa e e com bastante divergências entre os autores da época . A primeira classificação infrafamiliar para Rutaceae foi apresentada por Engler em 1874, primeiramente na Flora Brasiliensis e depois em Die natürlichen Pflanzenfamien (Engler 1896, 1931). Na classificação proposta em 1931 Engler propôs 7 subfamílias baseados principalmente em grau de conação e números de carpelos, caracteres de frutos e histologia das glândulas. Entretanto trabalhos baseados em dados moleculares (Chase *et al.* 1999, Groppo *et al.* 2008) apontaram as subfamílias como grupos não monofiléticos (exceto Aurantioideae).

Nesse contexto o presente trabalho focou em representantes das subfamílias Rutoideae e Toddalioideae .Para Engler (1931) Rutoideae apresentava como caracteres diagnósticos frutos deiscentes, com uma conação variável e endocarpo elástico enquanto que Toddalioideae apresentava caracteres como carpelos sincárpicos, frutos indeiscentes e ausência de endocarpo elástico.

Os caracteres diagnósticos como endocarpo elástico, tipos de fruto e grau de conação de carpelos propostos por Engler (1931) para delimitar grupos como Toddalioideae, Rutoideae ou Galipeeae foram avaliados separadamente nas análises de reconstrução dos estados de caráter ancestral (Fig. 10 – 12). Os resultados inferidos nessa análise corroboram os estudos de Groppo *et al.* (2008) e Groppo *et al.* (in prep.) que os estados de caráter presença de endocarpo elástico, esquizocarpo (folículo) e carpelos conatos na base e estilete são características plesiomórficas e não podem ser utilizados para a delimitação de grupos como Galipeeae.

5. CONCLUSÃO:

Em Galipeeae foi encontrada grande variabilidade morfológica nos tipos de fruto (*Balfourodendron riedelianum*: nucáceo; *Conchocarpus minutiflorus*, *C. pentandrus*: fruto múltiplo; *Esenbeckia febrifuga*, *E. leiocarpa*, *Galipea jasminiflora*: cápsula loculicida; *Ertela trifolia*: esquizocarpo – mericarpo; *Helietta apiculata*: esquizocapo-samaróide; *Hortia oreadica*: baga). Porém, foi também encontrada homegeneidade anatômica em padrões anatômicos em grande parte das espécies, como no caso de *Conchocarpus minutiflorus*, *C. pentandrus*, *Esenbeckia febrifuga*, *E. leiocarpa*, *Galipea jasminiflora* e o grupo externo *Zanthoxylum rhoifolium* que apresentaram mesocarpo parenquimático com feixes de fibras dispostos em diferentes direções. Todas as espécies com frutos deiscentes e indeiscentes (exceto *H. oreadica*) apresentaram endocarpo multiplicativo lignificado, porém foram observadas diferenças na disposição das fibras do endocarpo entre os frutos deiscentes e indeiscentes, evidenciando-se as estruturas que distinguem os frutos que ejetam a semente dos indeiscentes. Nos frutos deiscentes foram encontrados características como linha de deiscência que representa uma região de

fraqueza por onde o fruto se abre e endocarpo com disposição cruzada que funciona como um mecanismo de ejeção da semente, enquanto nos frutos indeiscentes com endocarpo lignificado a direção das fibras não é divergente e em *Hortia oreadica* o endocarpo não apresenta lignificação. A observação da anatomia e ontogenia do endocarpo nas Galipeae mostrou também que a formação destas estruturas é também diversa de famílias como Euphorbiaceae, que apresentam dispersão autocórica por deiscência explosiva. Finalmente a análise de reconstrução de caracteres ancestrais demonstrou que características ligadas ao fruto que foram utilizadas para delimitar grupos como as subfamílias Toddalioideae e Rutoideae ou tribos como Galipeae não correspondem muitas vezes à estados de caráter sinapomórficos e, portanto, não podem ser utilizados na inferência de filogenias ou na delimitação de grandes clados em Rutaceae. Entretanto, o estudo anatômico e ontogenético conduzido foi importante na reinterpretação das características morfológicas ligadas ao fruto em Galipeae e no entendimento das mudanças evolutivas ligadas ao desenvolvimento do fruto e nos processos de dispersão.

6. REFERÊNCIA

- AIZZA LCB (2010) Desenvolvimento da corona em flores do gênero *Passiflora* (Passifloraceae). Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal)- Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, p. 62.
- ANDERSON LC (1963). Studies on *Petradoria* (Compositae): anatomy, cytology, taxonomy. Transactions of the Kansas Academy of Science 66: 632-684.
- AGUIAR S, CARMELLO-GUERREIRO SM & KINOSHITA LS. (2008). Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll.Arg.) Markgr. (Apocynaceae). Acta Botanica Brasilica 23: 729-737
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP (APG) (2016) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. Botanical Journal of the Linnean Society 181: 1-20.
- BARROSO GM, MORIM MP, PEIXOTO AL, ICHASO CLF (1999) Frutos e Sementes – Morfologia aplicada à Sistemática de Dicotiledôneas. Editora da Universidade Federal de Viçosa. p. 443.
- BELTRATI CM (1991). Estudo morfo-anatômico das sementes e plântulas de *Esenbeckia febrifuga* (St. Hill.) A. Juss. ex Mart. (Rutaceae). Naturalia 16:161-169.
- BERLYN GP & MIKSCHE JP (1976). Botanical microtechnique and cytochemistry. The Iowa State University Press, Ames (Iowa).
- BIALE JB, YOUNG RE (1964). Growth, maturation and senescence in fruits. Science, Washington, v. 146, n. 3646, p. 880-888.
- BENTHAM G, HOOKER JD (1862) Genera Plantarum. Vol.1.L. Reeve & Co., London.
- BOESEWINKEL FD (1977). Development of ovule and testa in Rutaceae I: *Ruta*, *Zanthoxylum*, and *Skimmia*. Acta Botanica Neerlandica 26:193-211.

- BRÜCKNER C (1991). Fruchtanatomische Studien na *Dictamnus albus* L., *Zanthoxylum simulans* HANCE, *PTELEA trifoliata* L. und *Ruta graveolens* L. (*Rutaceae*). — Feddes Repert.102: 541–570.
- BRUNIERA CP, GROppo M, KALLUNKI JA (2015) *Almeidea* A. St.-Hil. Belongs to *Conchocarpus* J.C. Mikan (Galipeinae, Rutaceae): Evidence from Morphological and Molecular Data, with a First Analysis of Subtribe Galipeinae. PLOS ONE 10(5): e0125650. doi:10.1371/journal.pone.0125650
- CHASE MW, MORTON CM, KALLUNKI JA (1999) Phylogenetic relationship of Rutaceae: a cladistics analysis of the subfamilies using evidence from RBC and ATP sequence variation. *American Journal of Botany*. 86: 1191-1199.
- CHITARRA MIF, CHITARRA AB (2005) Pós colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2 ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA.
- CRONQUIST, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- CRUZ, RS (2013) Caracteres morfoanatômicos e ontogenéticos foliares de *Metrodorea* A.St.-Hil. e espécies relacionadas (Rutaceae) sob uma perspectiva filogenética. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- CUTLER D.F., STEVENSON D.W. (2011) Anatomia Vegetal – Uma abordagem aplicada. Artmed, Porto Alegre.
- ENGLER HGA (1874) Rutaceae. In: Martius C.F.P., Eichler A.G. (eds) Flora brasiliensis, v 12, Frid. Fleischer, Lepzig, Munich, p.75-196.
- ENGLER HGA (1896) Rutaceae. In: Engler H.G.A., Prantl K. (eds) Die natürlichen Pflanzenfamilien, ed 1, Leipzig, Wilhelm Engelmann, p.95-201,357.
- ENGLER HGA (1931) Rutaceae. In: Engler H.G.A., Prantl K.(eds.) Die natürlichen Pflanzenfamilien ed. 2, 19a. Wilhelm Engelmann. Leipzig p. 187-359.

- FAHN A (1990). Plant anatomy. Pergamon Press, Oxford
- FLORA DO BRASIL 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 21 Fev. 2017
- FRANCESCHI VR, HORNER JR HT (1980). Calcium oxalate crystals in plants. *Bot Rev* 46: 361-427
- GATSUK E, SMIRNOVA OV, VORONTZOVAL I, ZALGONOVA LB, ZHUKOVA LA (1980). Age States of plants of various growth forms: a review. *Journal of Ecology* 68: 675-696.
- GROPPO M, PIRANI JR (2007). Rutaceae. In T.B. Cavalcanti *et al.* (eds) Flora do Distrito Federal, p. 65-86, Embrapa Cenargen.
- GROPPO, M.L. & PIRANI (2012). A revision of *Hortia* (Rutaceae). *Systematic Botany* 31(1); 197-212.
- GROPPO M, KALLUNKI JA, PIRANI JR, ANTONELLI A (2012) A Chilean *Pitavia* more close related to Oceania and Old World Rutaceae than to Neotropical groups: evidence from two cpDNA non-coding regions, with a new subfamilial classification of the family. *Phytokeys*. 19: 9–29. doi:10.3897/phytokeys.19.3912PMID:23717188
- GROPPO M, PIRANI JR, SALATINO MLF, BLANCO SR, KALLUNKY JÁ (2008) Phylogeny of Rutaceae based on two non-coding regions from cpDNA. *American Journal of Botany*. 95(8): 985-1005.
- GROPPO M (2010) Rutaceae (Neotropikey page, Royal Botanic Gardens, Kew); Disponível em: <<http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Rutaceae.html>> Acesso em: 04 de Novembro de 2015.

- GROPPO M, KALLUNKI JA, PIRANI, JR, ANTONELLI A (2012) Chilean *Pitavia* more close related to Oceania and Old World Rutaceae than to Neotropical groups: evidence from two cpDNA non coding regions, with a new subfamilial classification of the Family. *Phytokeys*, 19, 9-29.
- HARTL D. (1957). Struktur und herkunft des endokarps der Rutaceen. *Beitr ä ge zur Biologie der Pfl anzen* 34: 35 – 49 .
- HOFHUIS H. and HAY A. (2017). Explosive seed dispersal. *New Phytologist*. 216: 339-342.
- INOUE T, YOSHINAGA A, TAKABE K, YOSHIOKA T, OGAWA K, SAKAMOTO M, AZUMA J, HONDA Y (2014). *In situ* detection and identification of hesperidin crystals in satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) peel cells. *Phytochem anal* 26:105–10.
- JOHANSEN DA (1940) Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company Inc., New York.
- KAASTRA RC (1982) Pilocarpinae (Rutaceae). Pp. 471-488. In: *Flora Neotropica* Monograp 33. New York Botanical Garden, New York
- KALLUNKI JA, PIRANI JR (1998) Synopses of *Angostura* Roem. & Schult. and *Conchocarpus* J.C. Mikan. *Kew Bulletin*, 53, 257-334.
- KALLUNKI JA (2004) Rutaceae. In: N. Smith, S.A. Mori, A. Henderson, D.W. Stevenson & S.V. Heald (eds.). *Flowering Plants of the Neotropics*. Princeton University Press, Princeton and Oxford, p. 333-335.
- KAYS SJ (1991) Postharvest physiology of perishable plant products. Athens: Avi. p. 532
- KUBITZKI K, KALLUNKI JA, DURETTO M, WILSON PG (2011) in: Kubitzki K, editor. *The families and genera of vascular plants*. Vol. 10. *Flowering Plants*:

- Eudicots (Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae). Berlin and Heidelberg: Springer Heidelberg; pp. 276–356.
- LEWIS PO (2001). A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Sys.Biol.* 50:913-925.
- MADISON WP & MADISON DR (2011). Mesquite: A modular system for evolutionary analysis, version 2.75. [http:// mesquiteproject.org](http://mesquiteproject.org).
- MELO FPL & TABARELLI M (2003). Seed dispersal and demography of pioneer trees: The case of *Hortia arborea*. *Plant Biology* 5: 359-365
- METCALFE CR, CHALK L (1950). Anatomy of the dicotyledons. Vol II. Oxford: Oxford Clarendon Press.
- METCALFE CR & CHALK L (1957). Anatomy of the dicotyledons. Vol II. Oxford: Oxford Clarendon Press.
- METCALFE CR, CHALK, L (1972). Anatomy of the dicotyledons. Clarendon Press, Oxford.
- METCALFE CR, CHALK L (1979) Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. 2. ed. Oxford: Clarendon Press.
- MOÇO MCC, MARIATH JEA (2009). Comparative floral ontogeny in *Adesmia* (Leguminosae: Papilionoideae: Dalbergiae) *Australian Journal of Botany*, Melbourne, v. 57, p. 65-75.
- MORTON CM, TELMER C (2014) New subfamily classification for the Rutaceae. *Ann. Missouri Bot Gard.*: 99: 620–641. doi:10.3417/201003416.
- NOGATA Y, SAKAMOTO K, SHIRATSUCHI H, ISHII T, YANO M, OHTA H. (2006). "Flavonoid Composition of Fruit Tissues of Citrus Species." *Biosci. Biotechnol. Biochem*70 (1): 178-192.

- OLIVEIRA JHG, OLIVEIRA DMT (2009). Morfoanatomia e ontogênese do pericarpo de *Manihot caerulescens* Phol. e *Manihot tripartita* Müll. Arg. (Euphorbiaceae). Revista Brasileira de Botânica, v. 32, n. 01, p. 117-119.
- O'BRIEN TP, FEDER N, MCCULLY ME (1964) Polychromatic staining of plant cell wall by toluidine blue. Protoplasma 59: 368-373.
- PIRANI JR (1999) Estudos taxonômicos em Rutaceae: Revisão de *Hellietta* e *Balfourdendron* (Pteleinae), análise cladística de Pteleinae, sinopse de Rutaceae do Brasil. Tese de Livre-Docência. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- PIRANI JR (2002). Rutaceae. In Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo (M.G.L. Wanderley, G.J. Shepherd, A.M. Giulietti, T.S. Melhem, V. Bittrich & C. Kameyama, eds.). Fapesp, Hucitec, São Paulo, v.2, p. 281-308
- RAVEN PH, EVERT RF, EICHHORN SE (2001). Biologia Vegetal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- ROTH I (1977) Fruits of angiosperms. In Handbuch der Pflanzenanatomie (K. Linsbauer, ed.) v.10. Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- SCHOLZ, H (1964) Rutales. In: MELCHIOR, H., WEDERMANN, E. (Eds.). A Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien, 12. ed. vol.2. Berlin: Borntrager. p. 262-277.
- SMIRNOVA OV, PALENOVA MM, KOMAROV AS (2002). Ontogeny of different life forms of plants and specific features of age and spatial structure of their populations. Russian Journal of Development Biology 33: 1-10.
- SOLEREDER H (1908) Systematic anatomy of the dicotyledons. Vol.I. Oxford, Clarendon Press.
- SOUZA LA, MOURÃO KSM, MOSCHETA IS & ROSA SM (2003). Morfologia e anatomia da flor e antese de *Pilocarpus pennatifolius* Lem. (Rutaceae). Revista Brasileira de Botânica 26:175-184.

- SOUZA LA (2006) *Morfologia e Anatomia Vegetal: técnicas e práticas*. Ponta Grossa: Ed. UEPG.
- SOUZA, A., MOURÃO, K.S.M. & SOUZA, L.A. 2005. *Morfologia e anatomia do fruto e da semente em desenvolvimento de Pilocarpus pennatifolius Lem. (Rutaceae)*. *Revista Brasileira de Botânica* 28:745-754.
- SOUZA LA (2006) *Anatomia do fruto e da semente*. Ponta Grossa, UEPG.
- SOUZA LA, MOURÃO KSM, MOSCHETA IS, ROSA, SM (2003) *Morfologia e anatomia da flor de Pilocarpus pennatifolius Lam. (Rutaceae)*. *Rev. Bras. Bot.*, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 174-184.
- SOUZA LA, ROSA SM, MOSCHETA IS (2008). *Anatomy of the Developing Fruit of Metrodorea nigra A. St.-Hil. (Rutaceae)*. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 51: 1171-1179.
- SPJUT RW (1994). *A systematic treatment of fruit types*. *Memoirs of New York Botanical Garden* 70:1-182.
- TUCKER SC (1992). *The developmental basis for sexual expression in Ceratonia siliqua (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cassieae)*. *American Journal of Botany*, New York, v. 79, p. 318-327.
- TUCKER SC (1997). *Floral evolution, development, and convergence: the hierarchical-significance hypothesis*. *International Journal of Plant Sciences*, Chicago, v. 156, p. 143-161.
- TUCKER SC, DOUGLAS AW (1994). *Ontogenetic evidence and phylogenetic relationships among basal of legumes*. *Advances in legumes systematics*. Part 6. Kew: Royal Botanic Gardens, p. 11-32.
- VAN THIEGUEM P (1885) *Second mémoire sur les canaux sécreteurs des plantes*. *Ann.Sci.Nat.Bot.sér.7.1:1-96*.

VIDAL WN, VIDAL MRR (2000). Botânica organografia: quadros sinóticos ilustrados de fanerógamos. 4 ed. Viçosa: UFV.

ZHUKOVA LA, GLOTOV NV (2001). Morphological polyvariance of ontogeny in natural plants populations. Russian Journal Development Biology. 32: 381-387.