

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

ONTOGÊNESE DO FRUTO EM DALBERGIOID *SENS. STR.*
(FABACEAE: FABOIDEAE)

Pós-Graduanda: Flavia Trzeciak Limeira

() Mestrado (X) Doutorado

Data de ingresso: 03/2012

Data provável de defesa: 03/2016

Orientadora: Dra. Káthia Socorro Mathias Mourão

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

ONTOGÊNESE DO FRUTO EM DALBERGIOID *SENS. STR.*
(FABACEAE: FABOIDEAE)

**Projeto apresentado ao curso de Doutorado
do Programa de Pós-Graduação em
Biologia Comparada, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Doutor.**

Ontogênese do fruto em *Dalbergioid sens. str.* (Fabaceae: Faboideae)

RESUMO

Dalbergioid sens. str. é um grupo pantropical de Fabaceae/Faboideae, que inclui todos os gêneros anteriormente pertencentes a Aeschynomeneae, Adesmieae, a Bryinae de Desmodieae e a Dalbergieae, com exceção de alguns gêneros. Este grupo foi circunscrito por análise filogenética de dados moleculares. Todas as dalbergióides pertencem a um dos três subgrupos, Adesmia, Dalbergia e Pterocarpus. *Dalbergioid* e seus três subgrupos não são bem delimitados por dados não moleculares. A presença de nódulos radiculares do tipo aeschynomenóide é sinapomorfia do grupo. Com o objetivo de fornecer valiosos novos caracteres não moleculares que contribuirão para sistemática de *Dalbergioid* e *Zornia*, um de seus gêneros, e que corroborarão as análises moleculares que apontam a monofilia destes taxa, botões florais, flores e frutos em diferentes fases de desenvolvimento de onze espécies de *Dalbergioid sens. str.*, incluindo-se seis espécies de *Zornia*, serão fixados e processados de acordo com métodos usuais para microscopia de luz, e as diferenças morfoanatômicas do desenvolvimento dos pericarpos e sementes serão descritas.

Palavras-chave: Legumes, dalbergióides, morfoanatomia, pericarpo, semente, *Zornia*.

Introdução

O clado Dalbergioid *sens. lat - sensu* Wojciechowski et al. (2004), inclui Amorpheae e “Dalbergioid *sens. str.*” - *sensu* Lavin et al. (2001) (WOJCIECHOWSKI, 2006).

Amorpheae consiste de oito gêneros com 240 espécies de pequenas árvores e herbáceas perenes e anuais, distribuídas nas regiões de clima temperado quente a clima desértico do hemisfério norte americano, sendo mais diversificadas e abundantes no México (BARNEBY, 1977 *apud* WOJCIECHOWSKI, 2006).

Dalbergióides foram descritas pela primeira vez por Lavin et al. (2001), reconhecidas com base em análises moleculares e morfológicas. Este grupo de Fabaceae/Faboideae pantropicais, com árvores, arbustos, herbáceas perenes e herbáceas anuais, foi circunscrito a incluir 44 gêneros, com 1.100 espécies, anteriormente pertencentes à Aeschynomeneae *sensu* Rudd (1981), Adesmieae *sensu* Polhill (1981a), a Bryinae de Desmodieae *sensu* Ohashi et al. (1981), a Dalbergieae *sensu* Polhill (1981b), com exceção dos gêneros *Andira*, *Hymenolobium*, *Vatairea* e *Vataireopsis*, mais *Diphysa* de Robinieae *sensu* Polhill e Souza (1981). O grupo inclui gêneros de importância econômica como *Dalbergia* e *Pterocarpus*, que fornecem madeira de lei, *Stylosanthes*, utilizadas como forrageiras e *Arachis*, conhecidas como amendoins.

Dalbergioid *sens. str.* foi dividido em três subclados informais: Adesmia, Dalbergia e Pterocarpus. Adesmia com 360 espécies inclui *Adesmia*, *Poiretia*, *Amicia*, *Zornia*, *Chaetocalyx* e *Nissolia*. Com exceção de *Zornia* que é pantropical, Adesmia é um clado de espécies neotropicais. Dalbergia apresenta 706 espécies pantropicais, centralizadas na África, incluídas em *Dalbergia*, *Machaerium*, *Aeschynomene*, *Soemmeringia*, *Cyclocarpa*, *Kotschya*, *Smithia*, *Humularia*, *Bryaspis*, *Geissaspis*, *Weberbauerella*, *Diphysa*, *Pictetia*, *Ormocarpum*, *Ormocarpopsis* e *Peltiera*. Pterocarpus, com 200 espécies centralizadas nas regiões neotropicais do globo, inclui *Pterocarpus*, *Tipuana*, *Platypodium*, *Reideliella*, *Centrolobium*, *Grazilodendron*, *Paramachaerium*, *Ramorinoa*, *Inocarpus*, *Etaballia*, *Platymiscium*, *Cascaronia*, *Fissicalyx* e *Geoffroea*, *Brya*, *Cranocarpus*, *Fiebrigiella*, *Chapmannia*, *Stylosanthes*, *Arachis* e *Discolobium* (LAVIN et al., 2001; KLITGAARD e LAVIN, 2005).

O conjunto de caracteres usados em análises filogenéticas pode ser obtido de fontes diversas, com base na estrutura dos diversos órgãos de uma planta, nos diferentes estágios de desenvolvimento destes órgãos, e mais recentemente, em dados de sequências de DNA. Este último constitui, atualmente, a ferramenta mais escolhida para gerar hipóteses filogenéticas (JUDD et al., 2009).

O clado Dalbergioid e os seus subclados informais são bem suportados por dados moleculares, mas dados não moleculares, até agora analisados, não conseguem delimitá-los eficazmente. A presença de nódulos radiculares do tipo aesquinomenóides é sinapomorfia do grupo; tricomas com base glandular em órgãos vegetativos e reprodutivos e o lobo abaxial bem desenvolvido do cálice, também o são, entretanto, em alguns taxa, estes últimos traços foram secundariamente transformados. Ramos curtos e cálice bilabiado são indicadores, não moleculares, das relações filogenéticas entre gêneros de Dalbergioid *sens. str.* (LAVIN et al. 2001).

Zornia J.F. Gmel. contém 75 espécies, das quais 35 ocorrem na América do Sul, centralizadas no Brasil (LAVIN et al., 2001; KLITGAARD e LAVIN, 2005). Têm sido reconhecidos, para o gênero, dois subgêneros: *Zornia* subg. *Myriadena* (Desv.) Mohlenbr. e *Zornia* subg. *Zornia* e, esse último está dividido em três seções: *Zornia* sect. *Zornia*, *Zornia* sect. *Isophylla* Mohlenbr. e *Zornia* sect. *Anisophylla* Mohlenbr. (MOHLENBROCK, 1961 *apud* Perez, 2009). Perez (2009) realizou estudos de filogenia utilizando dados moleculares, a fim de testar a monofilia do gênero, elucidar suas relações infragenéricas e compreender sua biogeografia; os resultados dessas análises sustentam o monofiletismo de *Zornia*, porém seus subgêneros e seções aparecem como para ou polifiléticos.

A ontogênese floral tem se mostrado útil em apresentar semelhanças compartilhadas por grupos monofiléticos em todos os níveis de Fabaceae (TUCKER, 2003), no entanto Klitgaard (1999) estudando a ontogênese floral de árvores dalbergiídes brasileiras não encontrou evidências que pudessem fortalecer a monofilia de Dalbergioid.

Não se tem utilizado a ontogênese do fruto como fonte de evidências taxonômicas capazes de auxiliar na construção de hipóteses de relacionamentos filogenéticos ou corroborar dados moleculares utilizados em análises filogenéticas, entretanto, apesar da estrutura geral do pericarpo de Fabaceae ser extremamente uniforme, as dimensões, a localização e a orientação das células de cada tecido, bem como, a natureza de outros elementos mostram considerável variação (FAHN & ZOHARY, 1955) e estas variações somadas as que aparecem durante o desenvolvimento do pericarpo podem oferecer evidências dos relacionamentos filogenéticos entre os grupos de Fabaceae e suas subcategorias taxonômicas, e ser uma alternativa para agregar caracteres não moleculares aos estudos filogenéticos em Dalbergioid.

Trabalhos de ontogênese de fruto de Faboideae são trabalhos descritivos que não tem objetivo sistemático, exemplos são: morfoanatomia do fruto em desenvolvimento de *Macroptilium atropurpureum* (D.C.) URB. (SOUZA e CARNEIRO, 1984), de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassler (SOUZA, 1984), de *Dalbergia nigra* (Vell.) FR. All. (PAOLI, 1992),

de *Pterocarpus violaceus* Vogel (NAKAMURA e OLIVEIRA, 2005), de *Tipuana tipu* (Benth.) O. Kuntze (MARTINS e OLIVEIRA, 2001) e de *Dalbergia miscolobium* Benth. e *Machaerium acutifolium* Vog. (PINTO, 2005).

Cervi et al. (2007) estudaram a vegetação do Parque Estadual de Vila Velha, localizado no município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil, e apresentaram um levantamento florístico deste local. Neste estudo foram registradas 1.376 espécies, das quais 108 são Fabaceae, 19 pertencem a Dalbergioid *sens. str.* e seis representam *Zornia*.

Justificativas

Pesquisas sobre a evolução e a sistemática de Fabaceae são de grande interesse da comunidade acadêmica, dos agricultores e dos governos, devido à sua grande importância ecológica e econômica (Wojciechowski, 2003).

A descrição das diferenças morfoanatômicas do desenvolvimento do fruto de onze espécies pertencentes ao clado *Dalbergioid sens. str.*, distribuídas em seus três subclados, pode fornecer valiosos novos caracteres não moleculares que contribuirão para a sistemática do grupo e que corroborarão as análises moleculares que apontam sua monofilia.

Considerando, ainda, que das 11 espécies de *Dalbergioid* selecionadas, seis são de *Zornia*, gênero que segundo Perez (2009) é monofilético, mas não teve esta monofilia sustentada para seus subgêneros e seções, este estudo pode contribuir para uma melhor compreensão das relações infragenéricas do grupo.

Objetivos geral e específicos

O objetivo geral é o estudo da ontogênese comparada do fruto de onze espécies de *Dalbergioid sens. str.* incluídas nos seus três subclados: *Adesmia*, *Dalbergia* e *Pterocarpus*.

Os objetivos específicos são:

- Fornecer novos caracteres ontogenéticos de pericarpo e semente.
- Corroborar a monofilia de *Dalbergioid sens. str.* e de *Zornia*, através do estabelecimento de novos estados de caracteres ontogenéticos diagnósticos.
- Discutir sobre a contribuição destes novos caracteres na reavaliação sistemática infragenérica em *Zornia*.

Hipóteses

A comparação entre o desenvolvimento dos pericarpos e das sementes das onze espécies Dalbergioid fornecerá novos estados de caracteres não moleculares, capazes de afirmar a monofilia de Dalbergioid e de *Zornia* e, úteis para compreensão das relações filogenéticas infragenéricas em *Zornia*.

Metodologia

Área de coleta, preparação de exsicatas e identificação das espécies

A coleta do material botânico (ramos com botões florais, flores e frutos em diferentes fases de desenvolvimento), das espécies abaixo listadas, será realizada em diferentes formações que ocorrem no Parque Estadual de Vila Velha, município de Ponta Grossa (25° 14' 09" S e 50° 00' 17" W). Com os ramos e informações sobre a planta coletada, como ambiente, nome vulgar, época de floração e frutificação, dentre outras, serão montadas exsicatas e depositadas/registradas no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM) e Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (HUPG), que deverão ser encaminhadas para a confirmação de identificação para especialistas no grupo.

O material coletado para os estudos morfoanatômicos será acondicionado em sacos plásticos umedecidos e levado para o Laboratório de Botânica Estrutural da UEM.

Espécies selecionadas para o estudo

Clado Adesmia

Adesmia paranensis Burkart

Zornia cryptantha var. *latibracteata* Vanni

Zornia diphylla (L.) Pers.

Zornia gemella Vogel

Zornia latifolia Sm.

Zornia reticulata Sm.

Zornia ramboiana Mohlenbr.

Clado Dalbergia

Dalbergia frutescens (Vell.) Britton

Aeschynomene histrix Poir.

Clado Pterocarpus

Stylosanthes bracteata Vogel

Stylosanthes gracilis Kunth

Fixação

O material coletado será fixado em formaldeído, ácido acético e álcool etílico em grau 50% (FAA₅₀) e armazenado em álcool 70% (JOHANSEN, 1940).

Preparo de lâminas

O material botânico coletado será incluído em historesina (GUERRITS, 1991), seccionado transversal e longitudinalmente em micrótomo de rotação, os cortes serão corados com azul de toluidina em tampão fosfato 0,1 M e pH 4,7 (O' BRIEN et al., 1964) e as lâminas montadas em resina sintética (Permout) (JOHANSEN, 1940).

Testes histoquímicos

Testes histoquímicos serão realizados em seções obtidas a mão livre para que sejam detectadas algumas substâncias. Para lipídios, será utilizado Sudan IV; para compostos fenólicos, cloreto férrico (JOHANSEN, 1940; RUZIN, 1999); para amido, lugol; para lignina, floroglucina em meio alcoólico e ácido (BERLYN e MIKSCHE, 1976); para substâncias pécticas, vermelho de rutênio (JOHANSEN, 1940; JENSEN, 1962) e para proteínas totais, azul mercúrio de bromofenol (MAZIA et al., 1953).

Ilustrações

Fotomicrografias serão obtidas por captura de imagem em microscópios Olympus BX50 e Leica ICC50 e as escalas referentes às ilustrações obtidas com lâmina micrométrica nas mesmas condições óticas utilizadas para cada caso.

Descrição anatômica e morfológica

A terminologia que será utilizada na descrição anatômica e morfológica basear-se-á na literatura botânica, como Roth (1977), Radford (1986), Spjut (1994), Barroso et al. (1999) e Souza (2006). O critério “*stricto sensu*” (ROTH, 1977) será utilizado para delimitar o exocarpo, mesocarpo e endocarpo.

Referências

- BARNEBY, R.C. Daleae Imagina, uma revisão ilustrada de Errazurizia Filipos, Rydberg Psorothamnus, Liebmann Marina, e Lucanus Dalea emend. Barneby, incluindo todas as espécies de leguminosas da tribo Amorpheae Borissova já referido Dalea. **Memórias do New York Botanical Garden**. v. 27, p.1-892. 1977.
- BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: UFV, 1999.
- BERLYN, G.P.; MIKSCHE, J.P. **Botanical microtechnique and citochemistry**. Ames, The Iowa State University Press, 1976.
- CERVI, A.C.; LINSINGEN, L.; HATSCHBACH, G.; RIBAS, O.S. A vegetação do Parque Estadual de Vila Velha, município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. **Bol. Mus. Bot. Mun.** Curitiba, v. 69, p. 01-52, 2007.
- FAHN, A.; ZOHARY, M. On the pericarpial structure of the legume, its evolution and relation to dehiscence. **Phytomorphology**, v. 5, n. 1, p. 99-111, 1955.
- GUERRITS, P.O. **The application of glycol methacrylate in histotechnology: some fundamental principles**. Netherlands, University Groningen, 1991.
- JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry, principles and practice**. San Francisco, W.H. Freeman, 1962.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1940.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético**. Porto Alegre: Artmed, 2009.
- KLITGAARD, B.B. Floral ontogeny in tribe Dalbergieae (Leguminosae: Papilionoideae): *Dalbergia brasiliensis*, *Machaerium villosum* s.l., *Platymiscium floribundum*, *Pterocarpus rotundifolius*. **Plant Syst. Evol.** v. 219, p.1-25, 1999.
- KLITGAARD, B.B.; LAVIN, M. Tribe Dalbergieae *sens. lat.* In LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. (eds.). **Legumes of the world**. Kew, Royal Botanic Gardens, 2005. p. 307- 335.

LAVIN, M.; PENNINGTON, T.; KLITGARD, B.B.; SPRENT, J.I.; LIMA, H.C.; GASSON, P.E. The dalbergioid legumes (Fabaceae): delimitation of a pantropical monophyletic clade. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 3, p. 503–533, 2001.

MARTINS, M.A.G.; OLIVEIRA, D.M.T. Morfo-anatomia e ontogênese do fruto e da semente de *Tipuana tipu* (Benth.) O. Kuntze (Fabaceae: Faboideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 1, p. 109-121, 2001.

MAZIA D.; BREWER P.A.; ALFERT, M. The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. **The Biological Bulletin**, v.104, p. 57-67, 1953.

MOHLENBROCK, R. A monograph of the Leguminous genus *Zornia*. **Webbia**, v.16, n. 1, p. 1- 141, 1961.

NAKAMURA, A.T.; OLIVEIRA, D.M.T. Morfologia e ontogênese da sâmara de *Pterocarpus violaceus* Vogel (Fabaceae: Faboideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 2, p. 375-387, 2005.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma**, v. 59, p.368-373, 1964.

OHASHI, H.; POLHILL, R.M.; SCHUBERT, B.G. Desmodieae. In POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. (eds.) **Advances in Legumes Systematics 1**. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981. p. 292-300.

PAOLI, A.A.S. Desenvolvimento morfo-anatômico do fruto de *Dalbergia nigra* (Vell) Fr.All. (Leg. Papilionoideae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 6, n. 1, p. 65-72, 1992.

PEREZ, A.P.F. **O gênero *Zornia* J.F. Gmel. (Leguminosae, Papilionoideae, Dalbergieae): Revisão taxonômica das espécies ocorrentes no Brasil e filogenia**. Campinas: UNICAMP, 2009. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

PINTO, D. D. **Morfologia e ontogênese do fruto e semente de *Dalbergia miscolobium* Benth. e *Machaerium acutifolium* Vog. (Fabaceae: Faboideae)**. Botucatu: UNESP, 2005. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu. 2005.

- POLHILL, R.M. Adesmieae. In POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. (eds.), **Advances in Legumes Systematics 1**. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981a. p. 355-356.
- POLHILL, R.M. Dalbergieae. In POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. (eds.), **Advances in Legumes Systematics 1**. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981b. p. 233-242.
- POLHILL, R.M.; SOUSA, M. Robinieae. In POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. (eds.) **Advances in Legumes Systematics 1**. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981. p. 283-288.
- RADFORD, A.E. **Fundamentals of Plant Systematics**. New York: Harper & Row, 1986
- ROTH, I. Fruits of Angiosperms. In: LINSBAUER, K.; TISCHLER, F.G.; PASCHER, A. (eds.). **Encyclopedia of Plant Anatomy**. Berlin: Gebrüder Borntraeger, 1977.
- RUDD, V.E. Aeschynomeneae. In POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. (eds.) **Advances in Legumes Systematics 1**. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981. p. 347-354.
- RUZIN, S.E. **Plant microtechnique and microscopy**. New York, Oxford University Press, 1999.
- SOUZA, L. A. Anatomia do desenvolvimento do pericarpo de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassler (Leguminosae-Faboideae). **Revista Unimar**. v. 6, n. 1, p. 5-19, 1984.
- Souza, L.A. **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa: UEPG, 2006.
- SOUZA, L.A.; CARNEIRO, J.W.P. Desenvolvimento morfoanatômico do fruto de *Macroptilium atropurpureum* (D.C.) URB. (Leguminosae). **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 13, n. 3, p. 409-417, 1984.
- SPJUT, R. W. A systematic treatment of fruit types. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, v. 70, p. 1-182, 1994.
- TUCKER, S.C. Floral Development in Legumes. **Plant Physiology**, v. 131, p. 911-926, 2003.
- WOJCIECHOWSKI, M.F. Reconstructing the phylogeny of legumes (Leguminosae): an early 21st century perspective. In: KLITGAARD, B.B.; BRUNEAU, A. (eds.) **Advances in Legume Systematics 10**. Kew, Royal Botanic Gardens, 2003. p. 5-35.

WOJCIECHOWSKI, M.F. **Dalbergioid *sensu lato* clade**. The Tree of Life Web Project, 2006. Disponível em <http://tolweb.org/Dalbergioid_sensu_lato_clade/60336/2006.06.14>. Acesso em: 19 set. 2012.

WOJCIECHOWSKI, M.F.; LAVIN, M.; SANDERSON, M.J. A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matk gene resolves many well-supported subclades within the family. **American Journal of Botany**. v. 91, n. 11, p. 1846–1862, 2004.

Dra. Káthia Socorro Mathias Mourão

Orientadora

Flavia Trzeciak Limeira

Doutoranda