Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Renan Rangel Moraes

Anatomia e micromorfologia foliar comparada de espécies de Rubiaceae ocorrentes no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi, RJ, Brasil

Rio de Janeiro

2017

Renan Rangel Moraes

Anatomia e micromorfologia foliar comparada de espécies de Rubiaceae ocorrentes no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi, RJ, Brasil

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de Concentração: Conservação e Utilização da Biodiversidade

Orientadora: Drª Maura Da Cunha

Co-orientadora: Drª Helena Regina Pinto Lima

Rio de Janeiro

2017

CATALOGAÇÃO NA FONTE

UERJ/ REDE SIRIUS/ BIBLIOTECA CTC/A

M828
Tese

Moraes, Renan Rangel.
Anatomia e micromorfologia foliar comparada de espécies de Rubiaceae ocorrentes no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi, RJ, Brasil / Renan Rangel Moraes, - 2017.
94f. ; il.
Orientadora: Drª Maura da Cunha
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal.
1. Rubiacea – Rio de Janeiro (Estado). 2. Biologia vegetal – Teses. I. Cunha, Maura da. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes. III. Título.

CDU 581.54(815.3)

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução parcial desta tese desde que citada a fonte.

_____ _____

Assinatura Data

Renan Rangel Moraes

Anatomia e micromorfologia foliar comparada de espécies de Rubiaceae ocorrentes no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi, RJ, Brasil

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de Concentração: Conservação e Utilização da Biodiversidade

Aprovada em 04 de abril de 2017.

Banca examinadora:

_____

Profª. Drª. Claudia Franca Barros - Titular
Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro - JBRJ

_____

Profª. Drª. Cátia Henriques Callado - Titular
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

_____

Prof. Dr. Sebastião José da Silva Neto - Titular
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

Rio de Janeiro

2017

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Aldifax e Angela
À minha avó Almerinda (*in memoriam*)
Ao meu padrinho Sérgio (*in memoriam*)
A todos os meus familiares e amigos
Pelo amor incondicional que fazem acreditar
mais em mim do que eu mesmo.

Com muito carinho,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação é fruto de um longo trabalho de solidariedade. São tantos que devo agradecer, mas acima de todos devo agradecer a Deus que sempre soube me sustentar em todos os momentos e mandou esses espíritos de luz para me guiar quando estava perdido.

A minha família que soube entender, respeitar e apoiar minhas escolhas. Participando de forma sutil, mas significante neste trabalho. Sem esse suporte eu não teria chegado aonde cheguei. Obrigado por este amor incondicional, fortalecedor e acolhedor.

Agradeço à profª Drª Maura Da Cunha, que aceitou esse desafio de me orientar mesmo com mais de 100 km nos separando. E, soube me conduzir de forma leve, tranquila e brilhante.

À profª Drª Helena Regina Pinto Lima, por sempre acreditar em mim e por ser a grande culpada por me fazer desde a graduação me apaixonar por esta ciência. Sem seu apoio esse trabalho não existiria, sem sombra de dúvidas devo muito a ti.

À profª Drª Cláudia França Barros, que me acolheu em seu laboratório para que esta dissertação se tornasse realidade. Muito obrigado por esse sentimento altruísta, gentil que tem sido raro no mundo de hoje, que Deus te conserve sempre assim.

À profª Drª Vânia Gonçalves Lourenço Esteves que a cada dia fico mais admirado pelo seu coração generoso. Não tenho como agradecer a tudo que fez por mim nesse mestrado, se hoje eu consegui concluir foi graças a sua ajuda. Muito obrigado!

À Profº Dr. Ricardo Pereira Louro, pelos seus ensinamentos que até hoje me rendem frutos. Só consegui concluir este trabalho por todo o tempo que investiu em mim. Muito obrigado.

À profª Drª Bianca Ortiz, que foi um anjo por abrir as portas do seu laboratório e me ajudar quando eu estava completamente perdido. Você foi fundamental pra mim, muito obrigado pelo seu ato de generosidade e sensibilidade.

À Prof. Msc. Caio Graco, que me ajudou com as análises estatísticas até durante o fim de semana via whatsapp. Aprendi muito e devo muito a essa enorme generosidade.

Ao Msc. Thiago Amorim que sem seu compromisso, dedicação e amor à pesquisa esta dissertação não teria bases sólidas para ser concebida. Obrigado pelos conselhos, pelas idas a campo voluntariamente pressionado. Aprendi muito contigo.

Ao Msc. Thiago Costa que tenho certeza que foi enviado por Deus para me guiar em situações em que eu não tinha base. Obrigado pela sua tranquilidade e alegria confortadora que sem sombras de dúvidas foram significantes para o desenvolvimento desse projeto.

À equipe do laboratório de Anatomia, Prof. Rafael Ribeiro Pimentel, Msc. Kathlyn, Msc. Rodrigo, Msc. João, Sabrina, Natália, Ane e Gabriele que me acolheram e me ajudaram muito durante todo esse projeto.

À Drª Paula Souza que sempre me orienta extraoficialmente em todos os campos da minha vida, obrigado pelos sábios conselhos, sempre muito oportunos.

À Msc. Camila Lopes que desde que comecei a pleitear o mestrado me apoiou e me incentivou, viu e ver em mim um potencial que às vezes eu não acredito ter. Obrigado por me ajudar a ver além dos meus olhos.

À Prof.ª Sandra Cardoso por ser um dos meus mais importantes alicerces nessa vida e tenho certeza que em todas as outras que tive.

À Msc. Ariane Carvalho e Msc. Karine Luiz que foram de fundamental apoio e impulsionadoras para que esta dissertação acontecesse. Minhas revisoras prediletas!

À bióloga Ana Cláudia Braga, pela amizade sincera e companheirismo incondicional. Seus conselhos, incentivos, autoestima e alegria foram muito importante para me ajudar a chegar aonde cheguei. Essa dissertação é nossa!

À minha família, não de sangue, mas de alma, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando me incentivando a ir além dos meus limites. Meus irmãos, Roberto Abrantes, Rodrigo Antunes, Simone Magalhães e Carol Coelho, obrigado por estarem sempre ao meu lado.

Às minhas diretoras que foram compreensivas com meus surtos e desesperos que levaram a algumas ausências em prol de algo melhor. Muito obrigado por serem seres

humanos tão iluminados e sensíveis à realidade de cada um. São educadores como vocês que me encorajam a continuar nesta profissão tão desacreditada. Muito Obrigado!

Ao meu amigo André Vieira que se estivesse entre nós com certeza estaria vibrando com essa minha conquista, que Deus te guarde no melhor lugar que tiver.

Aos amigos do laboratório de química da madeira, Gisele, Bruno e Fernanda que sempre se disponibilizaram em me ajudar, colocando a disposição seu tempo e o equipamento sempre que foi necessário.

Ao Prof. Júlio Cláudio que mesmo longe sempre preocupado e me impulsionando a ir mais longe. Obrigado por acreditar tanto em mim.

Aos amigos que fiz antes e durante o mestrado, vocês foram a melhor parte do curso, me ajudaram muito. Em especial a Priscila Freitas, que cedeu seu órgão auditivo para horas e horas de desabafos, lamúrias e dramatizações dignas dos grandes atores. Você foi mais que um anjo durante todo esse mestrado, ser humano incrível com uma empatia gigantesca capaz de se doar incondicionalmente para ajudar o outro. Muito do que está nesse trabalho foi com sua ajuda. Essa dissertação com certeza é sua também. Muito obrigado por me ajudar quando eu mais precisei, e por me dar forças quando eu já estava desistindo.

À coordenação do PGBV e suas secretárias por estarem sempre prontos a nos ajudar com muita educação, respeito e carinho.

À Associação Pró-Gestão das Águas da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul pelo apoio financeiro para o desenvolvimento desse projeto.

À Prefeitura de Paracambi pelo apoio no desenvolvimento da pesquisa no Parque Natural Municipal do Cuiró de Paracambi.

Aos membros da banca examinadora pela compreensão e colaboração prestada.

A todos, muito obrigado!

PENSAMENTO

"O período de maior ganho em conhecimento
e experiência é o período mais difícil da vida de alguém."

Dalai lama

RESUMO

MORAES, R.R. Anatomia e micromorfologia foliar comparada de espécies de Rubiaceae ocorrentes no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi, RJ, Brasil. 2017. 94f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2017.

A família Rubiaceae é uma das famílias botânicas com maior número de espécies na Mata Atlântica, sendo considerado um dos principais centros de dispersão de espécies e elevado número de representantes endêmicos. O presente trabalho tem como objetivo comparar a anatomia, micromorfologia e histoquímica foliar de seis espécies da família, a fim de identificar caracteres diagnósticos adicionais à taxonomia do grupo. Foram coletadas amostras de indivíduos localizadas ao longo de duas trilhas no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi, Paracambi - RJ. Fragmentos de folhas foram processados e analisados de acordo com as técnicas usuais para observação em microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura. Os dados foram submetidos à análise de agrupamento UPGMA, utilizando o coeficiente de distância de Jaccard para a construção de dois fenogramas, um com as seis espécies selecionadas e outro com adição de oito espécies descritas na literatura. As espécies apresentaram os seguintes caracteres anatômicos comuns à família Rubiaceae: folha hipoestomática, mesofilo dorsiventral, epiderme unisseriada, estômatos paracíticos e paralelocíticos e idioblastos de cristais de oxalato de cálcio. Os testes histoquímicos revelaram presença gotas lipídica em *Amaioua intermedia*, *Coussarea nodosa*, *Rudgea minor* e *R. reticulata*. A análise estatística possibilitou a delimitação intrafamiliar de grupos hierárquicos. A subfamília Ixoroideae, representada exclusivamente pela espécie *A. intermedia*, diferiu da subfamília Rubioideae por apresentar tricomas tectores longos de superfície ornamentada. O gênero *Rudgea*, da tribo Psychotrieae, possui similaridades morfológicas com representantes da tribo Coussareeae e o gênero em questão separou-se de Coussareeae por possuir sistema vascular em arco aberto contínuo no pecíolo mediano. O gênero *Coussarea* distinguiu-se de *Faramea* por apresentar feixe colateral em arco fletido na nervura principal. As espécies foram separadas pelos tipos e superfícies ornamentadas dos tricomas, estrutura do sistema vascular, tipos e localização das inclusões minerais, e sinuosidade da parede anticlinal das células epidérmicas. A análise comparativa dos caracteres anatômicos foliares identificados neste trabalho mostrou que os mesmos contribuem na delimitação de taxa nos diferentes níveis hierárquicos e reiteram o sistema de classificação atual, proposto para a família.

Palavras-chave: Histolocalização, Inclusões Minerais, Mata Atlântica, Microscopia Óptica e Eletrônica, Taxonomia.

ABSTRACT

MORAES, R.R. Comparative leaf anatomy and micromorphology of Rubiaceae species occurring in the Curió Municipal Natural Park of Paracambi, RJ, Brazil. 94f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2017.

Rubiaceae is one of the richest families in the Atlantic Forest, which is considered an important center of dispersion of species with a high number of endemic representatives. The present work aims to compare the anatomy, micromorphology and leaf histochemistry of six species of that family, and to search for additional diagnostic features to this group. Samples were collected from individuals located along two trails in the Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi, Paracambi - RJ. Leaf fragments were processed and analyzed based on usual techniques of optical and scanning electron microscopy. The data were submitted to the UPGMA cluster analysis, using the Jaccard distance coefficient to construct two phenogram, one with six selected species and other combining the species described in the literature. The species presented the following anatomical features common to the Rubiaceae family: hypoestomatic leaf, dorsiventral mesophyll, uniseriate epidermis, paracytic and paralelocytic stomata and idioblasts of calcium oxalate crystals. Histochemical tests detected the presence of lipid droplets in *Amaioua intermedia*, *Coussarea nodosa*, *Rudgea minor* and *R. reticulata*. Hierarchical clustering analysis allowed an intrafamiliar delimitation. The subfamily Ixoroideae, exclusively represented by the species *A. intermedia*, differed from the subfamily Rubioideae by presenting long tector trichomes with ornamented surface. Despite the morphological similarities between the genus *Rudgea* (tribe Psychotrieae) with representatives of the tribe Coussareea, that genus differed from Coussareea by presenting the vascular system with a central continuous opened arc in the middle region of the petiole. The genus *Coussarea* differed from *Faramea* by presenting collateral bundle in the form of a flattened arc of the midrib. Species have differed from each other by types and the presence or not of ornamented surface in the trichomes, vascular system structure, types and specific location of mineral inclusions, and sinuous of the anticlinal cell wall. The comparative analysis of leaf anatomy in this study suggested that anatomical features have supported the delimitation of different hierarchical levels, and have corroborated the current classification used for that family.

Key words: Atlantic Forest, Histocalization, Mineral inclusions, Light and electronic microscopy, Taxonomy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa da distribuição das fitosionomias da Mata Atlântica. 19

Figura 2 - Mapa da Bacia Hidrográfica do Rio Guandu. 22

Figura 3 - Filogenia de Rubiaceae, destacando a posição das três subfamílias (Cinchonoideae, Ixoroideae e Rubioideae) e suas respectivas tribos. 27

Figura 4 - Estrutura e composição da cutícula. 32

Figura 5 - Mapa da distribuição espacial das espécies estudadas nas trilhas dos Bugios e dos Escravos no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi. 37

Figura 6 - Anatomia e micromorfologia do pecíolo de *Amaioua intermedia*. 50

Figura 7 - Anatomia do pecíolo de *Coussarea nodosa*. 51

Figura 8 - Anatomia do pecíolo de *Faramea multiflora*. 52

Figura 9 - Anatomia do pecíolo de *Faramea truncata*. 53

Figura 10 - Anatomia do pecíolo de *Rudgea minor*. 54

Figura 11 - Anatomia do pecíolo de *Rudgea reticulata*. 55

Figura 12 - Anatomia da nervura principal de *Amaioua intermedia*, *Coussarea nodosa* e *Faramea multiflora*. 56

Figura 13 - Anatomia da nervura principal de *Farmea rivularis*, *Rudgea minor* e *Rudgea reticulata*. 57

Figura 14 - Morfologia e micromorfologia domácias de três espécies coletadas. 58

Figura 15 - Vista frontal da epiderme dissociada das espécies estudadas. 59

Figura 16 - Micromorfologia da epiderme de *Amaioua intermedia*, *Faramea multiflora* e *Faramea truncata*. 60

Figura 17 - Micromorfologia da epiderme de *Rudgea minor* e *Rudgea reticulata*. 61

Figura 18 - Anatomia da região intercostal de *Amaioua intermedia*, *Coussarea nodosa* e *Faramea multiflora*. 62

Figura 19 - Anatomia da região intercostal de *Faramea truncata*, *Rudgea minor* e *Rudgea reticulata*. 63

Figura 20 - Anatomia do bordo das espécies estudadas. 64

Figura 21 - Metabólitos especiais das espécies estudadas identificadas por testes histoquímicos. 65

Figura 22 - Identificação de metabólitos por testes histoquímicos e microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura. 66

Figura 23 - Análise de agrupamento UPGMA das seis espécies estudadas. 69

Figura 24 - Análise de agrupamento UPGMA das 14 espécies estudadas. 71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação das espécies estudadas, registro nos herbários da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HRJ) e da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (RBR), altura dos indivíduos, altitudes e hábito. 36

Tabela 2 - Relação das espécies utilizadas na base de dados e a sua localização no sistema de classificação da família Rubiaceae. 40

Tabela 3 - Lista de caracteres anatômicos e micromorfológicos utilizados neste trabalho. 41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PA	Para Análise
PNMCP	Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
RBR	Herbário da Universidade Federal do Rio de Janeiro
HRJ	Herbário da Universidade do Estado do Rio de Janeiro
ST	Secção Transversal

LISTA DE SÍMBOLOS

º	Grau
ºC	Grau Celsius
ha	Hectare
m	Metro
mm	Milímetro
’	Minuto
µm	Micrômetro
M	Molar
%	Porcentagem
"	Segundo
S	South
W	West

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	18
1.1.	**Mata Atlântica**	18
1.2.	**Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi**	20
1.3.	**Família Rubiaceae**	23
1.4.	**Anatomia foliar**	31
2.	**OBJETIVOS**	34
2.1.	**Objetivo geral**	34
2.2.	**Objetivos específicos**	34
3.	**MATERIAIS E MÉTODOS**	35
3.1.	**Sítio de coleta**	35
3.2.	**Material botânico**	35
3.3.	**Análise anatômica**	38
3.4.	**Análise micromorfológica**	39
3.5.	**Levantamento de dados**	40
3.6.	**Análise estatística**	43
4.	**RESULTADOS**	45
4.1.	**Pecíolo**	45
4.2.	**Lâmina foliar**	47
4.3.	**Análise de Agrupamento**	67
4.3.1.	**Análise de Agrupamento UPGMA das seis espécies descritas**	68
4.3.2.	**Análise de agrupamento UPGMA das 14 espécies selecionadas**	69
5.	**DISCUSSÃO**	72
	CONCLUSÃO	78
	REFERÊNCIAS	79
	ANEXO A	90
	ANEXO B	93

1. INTRODUÇÃO

1.1. Mata Atlântica

A Mata Atlântica foi enquadrada como uma das áreas brasileiras prioritárias para a conservação da biodiversidade devido ao seu alto índice de endemismo, sendo considerada uma das 25 áreas de maior concentração de biodiversidade do planeta (MYERS, 2000; STEHMANN et al., 2009). A constante degradação deste bioma, o levou a ser considerado a quinta floresta mais ameaçada do planeta pela organização *Conservation International*, por restar apenas 8 % da sua extensão original na América do Sul, situada na Argentina, Brasil e Paraguai (BERGEN, 2011).

A partir da colonização europeia, datada no final do século XVI, este bioma vem sofrendo intensa degradação, causada principalmente pela ocupação humana desordenada (RIBEIRO et al., 2009). Sua área foi completamente fragmentada, e se calcula que, somando todos os fragmentos existentes, restam apenas 22 % da área original, sendo desses 7 % de remanescentes florestais bem conservados e 15 % provenientes de atividade de recuperação e regeneração, apesar da maior parte dessas áreas não estarem protegidas na forma de unidade de conservação (MMA, 2017).

O termo “Mata Atlântica”, desde 1993, através do decreto federal nº 750 - ratificado na lei nº 11.428 em 2006, englobou todas as diversas fitofisionomias presentes no domínio Mata Atlântica, como: Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Aberta, Floresta Ombrófila Mista – também denominada Mata de Araucárias – Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Estacional Decidual, manguezais, restingas, campos de altitude, brejos interioranos e encraves florestais do Nordeste (Fig. 1). O englobamento dessas fitofisionomias no domínio Mata Atlântica visa favorecer a proteção e a preservação desse bioma proibindo o corte, a exploração e a supressão de vegetação primária ou nos estágios avançado e médio de regeneração deste bioma.

Figura 1 - Mapa da distribuição das fitosionomias da Mata Atlântica.

Fonte: IBGE, 2008.

Este bioma apresenta uma elevada biodiversidade gerada principalmente pelas altas variações de temperatura, pluviosidade e altitude, o que acarreta no alto índice de espécies endêmicas e famílias botânicas bem representativas como a família Rubiaceae. Essa família apresenta boa distribuição nesse bioma, sendo mais abundante no estrato arbustivo (LIMA; GUEDES-BRUNI, 1996). Porém, a constante degradação das florestas afeta a distribuição e a sobrevivência de todas as espécies, como no caso do estado do Rio de Janeiro que possui 15 espécies de Rubiaceae ameaçadas de extinção, sendo 11 dessas do bioma Mata Atlântica. (TABARELLI; MANTOVANI, 1999; MMA, 2007; MMA, 2008; MARTINELLI; MORAES, 2013).

A preservação da Mata Atlântica não tem importância apenas na proteção da biodiversidade, ela se faz necessária pela importância socioeconômica, devido ao complexo sistema de bacias hidrográficas que possui, destacando-se os rios: Doce, Guandu, Paraíba do Sul, Paraná, São Francisco e Tietê. Sendo os rios Guandu e Paraíba do Sul, primordiais para o abastecimento hídrico nos estados do sudeste, principalmente no Rio de Janeiro, onde também são utilizados para produção de energia elétrica (LEMOS et al., 2009; GTZ, 2010).

No bioma em questão foram identificadas 70 áreas de elevada importância para a conservação de espécies de plantas ameaçadas de extinção, situadas principalmente na região sudeste (LOYOLA et al., 2014). Nessa região encontram-se dois dos maiores remanescentes de Mata Atlântica do país, preservados no Parque Natural da Serra do Bocaina e na Reserva Biológica Federal do Tinguá (GTZ, 2010). Na tentativa de conectar essas duas unidades de conservação federal foi criado o Corredor da Biodiversidade Tinguá-Bocaina situado na área de nove municípios: Paty do Alferes, Miguel Pereira, Mendes, Engenheiro Paulo de Frontin, Vassouras, Barra do Pirai, Piraí, Rio Claro e Paracambi. (GTZ, 2010; FRAGA; PEREIRA, 2012).

Três fatores tornam a restauração e a conservação dos remanescentes florestais presentes no Corredor da Biodiversidade Tinguá-Bocaina extremamente importantes; a grande biodiversidade, as numerosas espécies endêmicas, e inúmeros mananciais que abastecem a bacia hidrográfica do rio Guandu. Por este motivo, em 2005 foi elaborado o Programa de Gestão Bioregional Corredor de Biodiversidade Tinguá-Bocaina com três áreas estratégicas: gestão compartilhada, conservação da biodiversidade e geração de emprego e renda. Fato que estimulou a criação de novas unidades de conservação e o fortalecimento das unidades já existentes, levando a criação de pelo menos uma unidade de conservação em cada município presente no corredor ecológico, como foi o caso do Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi (GTZ, 2010).

1.2. Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi

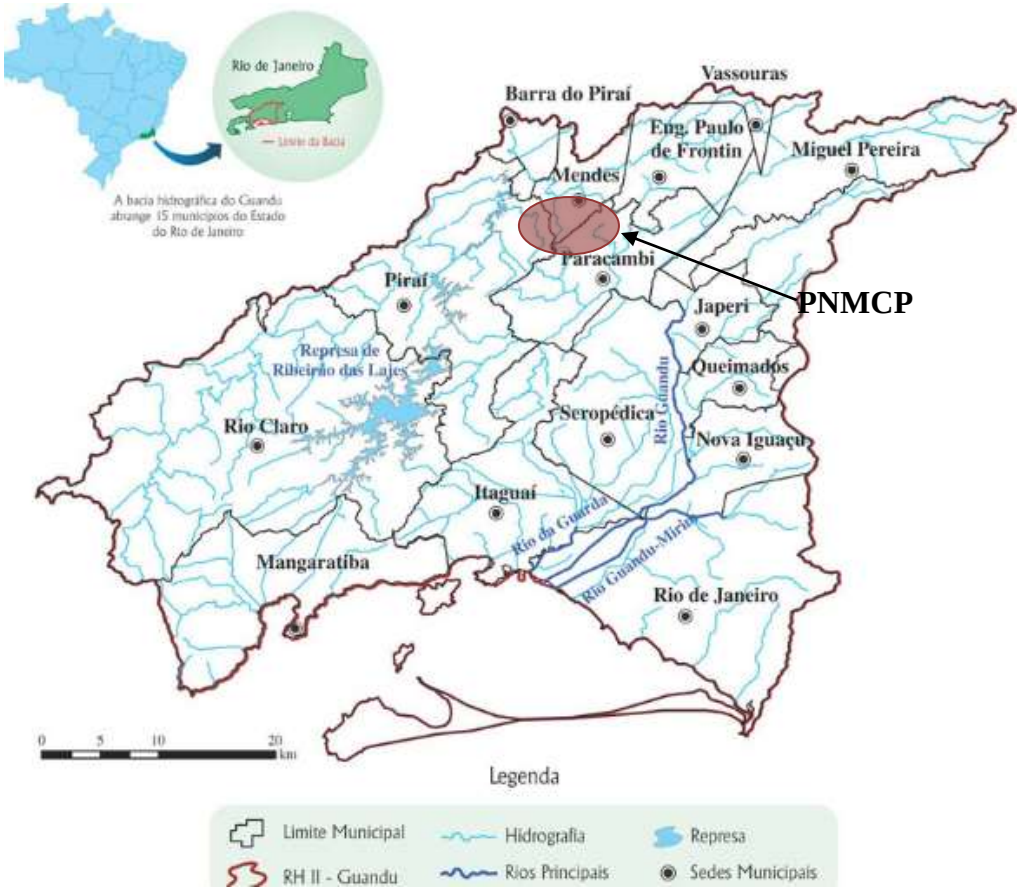
Diversos remanescentes de floresta atlântica estão situados na bacia hidrográfica do rio guandu, no município de Paracambi, um desses fragmentos encontra-se protegido pelo

decreto municipal nº 1001, de 29 de janeiro de 2002 e modificado pela lei municipal 921, de 30 de abril de 2009, através da criação do Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi (PNMCP), localizado na divisa com os municípios de Engenheiro Paulo de Frontin e Mendes (Fig. 2). O Parque em questão está situado na sub-bacia hidrográfica do Rio dos Macacos que desemboca no Rio Ribeirão das Lages, um dos formadores da Bacia Hidrográfica do Rio Guandu, responsável por abastecer e gerar energia para mais de sete milhões de pessoas no município de Paracambi e na região metropolitana do Estado do Rio de Janeiro (LEMOS et al., 2009; GTZ, 2010).

O nome da unidade é em homenagem a ave curió (*Oryzoborus angolensis* Linnaeus), de origem tupi guarani, significa "amigo do homem", visto que a ave tinha o hábito de viver próximo à aldeia dos índios. A mesma era bastante comum na região, devido à presença de habitats ideais para a sua multiplicação, porém, a espécie se tornou rara no local, consequência de sua demasiada captura. Uma das características marcantes da unidade é a grande diversidade de avifauna, mesmo reduzida ao longo do tempo (SEMADES, 2010). O parque possui um extenso histórico de ocupação desde o período colonial do país, iniciada entre o final do século XVII e início do século XVIII, período do Ciclo do Ouro, conectando Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo. A região foi utilizada como local de descanso por viajantes. E a partir do século XVIII, houve a degradação completa da região pela agricultura e pecuária, destacando-se a produção de cereais, café, farinha, açúcar e aguardente, nesse período a área do parque natural estava inserida na fazenda Ribeirão dos Macacos. Em 1867, a região foi visitada por um grupo de ingleses que ficaram deslumbrados pela beleza da região e seu potencial hídrico, decidindo construir um fábrica têxtil no local.

Em 23 de julho de 1870, no decreto n° 4.552, foi autorizada a construção da Companhia Têxtil do Brasil Industrial, que teve seu alvará de funcionamento assinado pela princesa Isabel em 13 de setembro de 1871. Nos mananciais ao redor da fábrica foram construídas barragens, e em 1875, o açude da cascata com o objetivo de abastecer a região em períodos de seca. Com isso, houve proibições no uso do solo dessa região e o início da preservação da vegetação, que pode se regenerar naturalmente desde então (SEMADES, 2010, SOUZA, 2011; AMORIM, 2012).

Figura 2 - Mapa da Bacia Hidrográfica do Rio Guandu.



Fonte: http://www.comiteguandu.org.br/hidrografica.php, 08 de outubro de 2015.

A localização da fábrica na região mais baixa da topografia ocorreu para aproveitar o potencial hidroelétrico dos mananciais, que foram canalizados em direção a central elétrica da fábrica. Foram feitas trilhas que permitiam acesso a tais canalizações, a Trilha dos Escravos e a Trilha dos Bugios, e em seu percurso pode ser encontrado vestígios das tubulações e ruínas dos aquedutos (SEMADES, 2010; SOUZA, 2011; AMORIM, 2012).

Em 1985 a fábrica foi desativada, hoje o antigo prédio da Companhia foi nomeado como “Fábrica do Conhecimento” e abriga instituições como a Fundação de Apoio à Escola Técnica do Estado do Rio de Janeiro (FAETEC), o Instituto Superior Tecnológico de Paracambi, o Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ), o Centro de Educação a Distância do Rio de Janeiro (CEDERJ), a Companhia Municipal de Balé, o Espaço Cinema e Arte, o núcleo da Escola de Música Villa-Lobos, o Planetário, o Espaço da Ciência e uma brinquedoteca. Além das secretarias municipais de cultura, turismo, meio ambiente e desenvolvimento sustentável (PMP, 2016).

Parte da floresta em regeneração da Companhia Têxtil do Brasil Industrial foi protegida no PNMCP, exatos 913.96 ha, sendo o segundo maior parque municipal do estado do Rio de Janeiro (SEMADES, 2010; FRAGA et al., 2012). Apresenta elevada riqueza de espécies vegetais, mas ainda não possui o quantitativo de pesquisas que contemplem toda a sua diversidade biológica (FRAGA et al., 2012).

Preserva um dos remanescentes de Floresta Ombrófila Densa submontana e montana, com áreas em estágio médio e avançado de sucessão ecológica, avaliado com o melhor nível de preservação do estado do Rio de Janeiro e está situado numa das regiões de maior degradação do bioma, entre o Parque Nacional da Serra da Bocaina e a Reserva Biológica do Tinguá. Sua localização o torna importante para a construção de um elo de conexão entre os fragmentos florestais do mosaico das unidades de conservação da Região da Serra da Bocaina e do Mosaico da Mata Atlântica Central Fluminense, sendo essencial para garantir o fluxo gênico neste corredor (GTZ, 2010; SEMADES, 2010; FRAGA; PEREIRA, 2012).

O Corredor de Biodiversidade Tinguá-Bocaina é a parte mais degradada de um corredor mais amplo, o Corredor da Mata Sul do Atlântico, também denominado Corredor da Serra do Mar, importante área de interligação entre as florestas de Minas Gerais, do Rio de Janeiro, de São Paulo e do Paraná (CYSNEIROS et al., 2015). O Corredor da Serra do Mar é um dos poucos da floresta atlântica realmente funcional para a manutenção e conservação das espécies da fauna e flora (RIBEIRO et al., 2009), por isso, a importância do estabelecimento de estudos científicos em diversas áreas, como ecológicos, florísticos, anatômicos e germoplasmas nessa região visando subsidiar informações que possam garantir o sucesso na preservação da Mata Atlântica.

1.3. Família Rubiaceae

Rubiaceae foi descrita por Antoine Laurent de Jussieu em seu trabalho titulado "*Genera plantarum: secundum ordines naturales disposita*", em 1789, e mantida como grupo por estudos filogenéticos (BREMER, 1996). O nome Rubiaceae é alusivo ao gênero *Rubia* L. quem vem do latim *rubium*, o qual se faz referência à tinta vermelha utilizada para tingir tecidos, produzida a partir das raízes de plantas deste gênero (CRONQUIST, 1981).

O valor econômico de várias espécies dessa família é historicamente conhecido, destacando *Coffea arabica* L., que durante um considerável período da história do Brasil sustentou a economia. *Genipa americana* L., popularmente conhecida como jenipapo, encontrada tanto na Floresta Amazônica quanto na Mata Atlântica, tem valor medicinal e bastante utilizado em etnias indígenas para pintura corporal e de tecidos, além da comercialização de sua madeira (RIZZINI; MORS, 1995). Espécies dessa família também possuem considerável valor ornamental como ixora (*Ixora* spp.), mussenda (*Mussaenda* spp.), jasmim-do-cabo (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) e pentas (*Pentas lanceolada* (Forsk.) Defler) (SOUZA; LORENZI, 2012).

Sobre o aspecto ecológico, as Rubiaceae são importantes para a recuperação da fauna, por atraírem grande número de polinizadores através dos nectários florais e estruturas odoríferas, além de, geralmente, possuírem frutos carnosos, tornando-as uma importante fonte de alimentos para diversos animais, desde insetos a mamíferos (CASTRO; OLIVEIRA, 2002; NOGALES, 2005).

A família Rubiaceae distribui-se por todo o mundo, sendo encontrados exemplares até em regiões subpolares do ártico e da antártica. Mas nos trópicos é que se encontra a maior biodiversidade, com 75 % de suas espécies ocorrendo em especial nas florestas úmidas de planície. Mesmo assim, não é possível identificar ao certo o seu centro de dispersão (CHIQUIERI et al., 2004; DAVIS et al., 2009).

É a quarta maior família de Angiospermae do mundo, considerada monofilética, com 13.673 espécies distribuídas em 609 gêneros (BREMER, 1996; DELPRETE; JARDIM, 2012; THE PLANT LIST, 2013). O Brasil possui mais de 1.394 espécies (mais 1848 com variações de subespécies) organizadas em 126 gêneros, sendo um dos grupos taxonômicos de maior riqueza, principalmente no bioma Mata Atlântica (CHIQUIERI et al., 2004; SOUZA; LORENZI, 2012; DE OLIVEIRA, 2013; REFLORA, 2017).

A família é composta por ervas, subarbustos, arbustos, árvores e, não muito frequentes, lianas, trepadeiras e hemiparasitas. Suas folhas são simples, opostas ou verticiladas, geralmente inteiras, com venação peninérvea e margem inteira. A estípula interpeciolar é uma das características marcantes da família. Estas podem estar modificadas em espinhos ou foliáceas com coléter na superfície adaxial. As flores são frequentemente

heterostílicas agregadas, com prefloração aberta e ovário ínfero (súpero apenas em *Pagamea* Steyerm.), com presença comum de disco nectarífero (STEVENS, 2001; BREMER; ERIKSSON, 2009; JUDD et al., 2009; SOUZA; LORENZI, 2012).

Cabe destacar a presença de estruturas especiais diferenciadas pelas espécies dessa família, como por exemplo, as domácias. Essas estruturas são cavidades situadas na superfície abaxial, na interseção da nervura principal com as nervuras secundárias que tem como função abrigar pequenos artrópodes que protegem a folha de danos bióticos. A presença ou ausência, além de seu tipo, são caracteres muito utilizados para a classificação e até a determinação de espécies na família Rubiaceae (METCALFE; CHALK, 1950; GOMES, 2003).

O sistema de classificação infrafamiliar de Rubiaceae vem sofrendo inúmeras modificações. A primeira proposta é datada de 1830 por De Candolle, na qual sugeriu a organização das espécies em 13 tribos e a subdivisão da família em duas subfamílias (Cinchonoideae e Coffeoideae), levando em consideração apenas o número de óvulos por lóculo.

Bremekamp (1954) propôs a subdivisão da família em oito subfamílias, tendo como um dos caracteres principais o tipo de apresentação do grão de pólen (BREMEKAMP, 1966). Entretanto, Verdcourt (1958) refutou parte dessa classificação ao analisar 104 gêneros representantes de todas as tribos aceitas pelos principais trabalhos da época, utilizando caracteres provenientes de diversas áreas de estudos, como: morfologia, anatomia, palinologia, embriologia, fisiologia, citologia, bioquímica, distribuição geográfica, habitat e forma de crescimento. O autor propôs uma nova organização das tribos em três subfamílias: Rubioideae, pela presença de ráfides nas folhas tricomas tectores septados e semente albuminosa; Cinchonoideae, ausência de ráfides nas folhas, podendo apresentar outros tipos de cristais de oxalato de cálcio, sementes albuminosas e tricomas não septados; e Guettardoideae, ausência de ráfides, sementes exalbuminosas ou com vestígios do albúmen (VERDCOURT, 1958).

Robbrecht (1988) questionou a classificação de Verdcourt por não utilizar todos os gêneros existentes e a de Bremekamp por apresentar escassez de dados para o sistema proposto, realizou uma nova revisão na família e sugeriu uma reorganização das espécies em

39 tribos distribuídas em quatro subfamílias (Ixoroideae, Cinchonoideae, Antirheoideae e Rubioideae).

O avanço dos estudos moleculares tem fortalecido a discussão e sugerindo modificações no sistema de classificação da família (BREMER; JANSEN, 1991). Bremer (1996) avaliou as subdivisões propostas e as análises indicaram a existência das subfamílias Cinchonoideae, Ixoroideae e Rubioideae. Nos trabalhos filogenéticos mais recentes, Bremer e Eriksson (2009) propõem uma filogenia para a família utilizando cinco diferentes regiões do material genético do cloroplasto (*rbc*L, *trn*T-F, *rps*16, *atp*B-rbcL, *ndh*F), que fortaleceu a organização das espécies nas três subfamílias contendo mais de 44 tribos (Fig. 3). É importante salientar que ainda existem gêneros que não foram contemplados nas análises moleculares o que as tornam incompletas diante da diversidade da família em estudo.

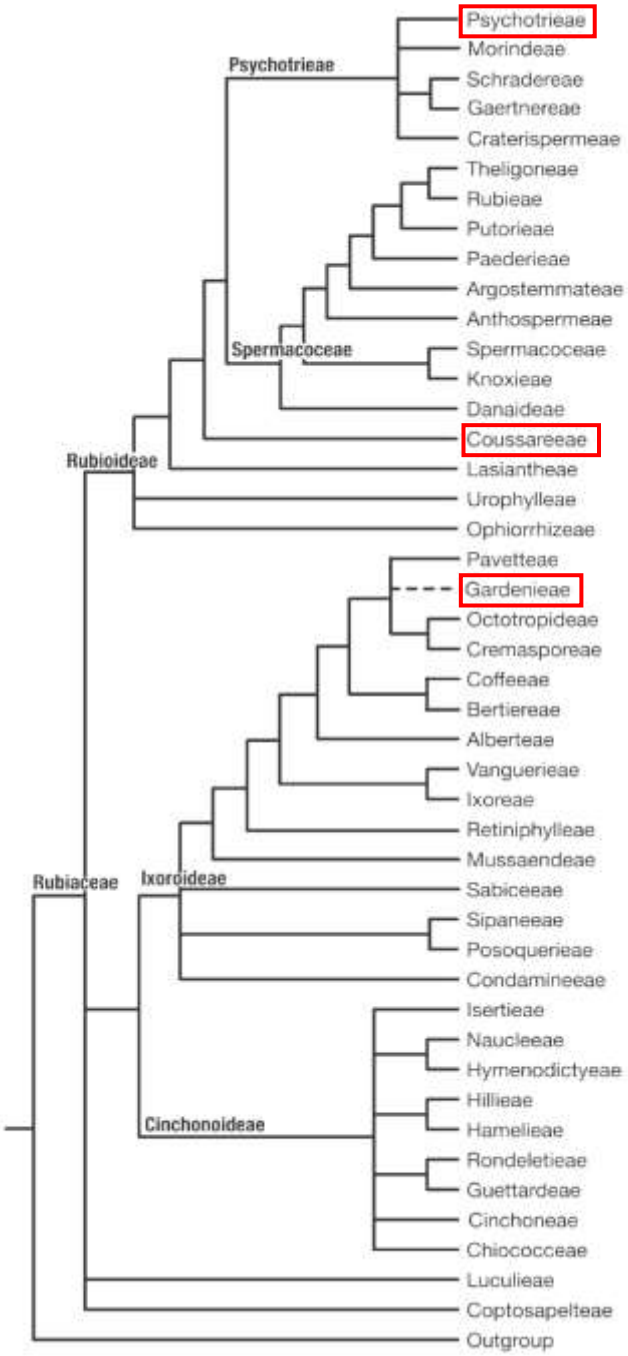
A subfamília Cinchonoideae é a menor subfamília com aproximadamente 1.500 espécies, se diferencia das demais por apresentar fruto seco, alcaloides abundantes, ausência de iridoides e ausência de idioblastos contendo ráfides (com exceção dos gêneros *Hillia* Jacq. e *Hamelia* Jacq.) (STEVENS, 2001; BREMER; ERIKSSON, 2009). Contém nove tribos bem definidos pelos estudos filogenéticos recentes, predominantemente neotropicais (BREMER; ERIKSSON, 2009).

Santa Catarina, no sul do Brasil. Até o momento, foram descritas dez espécies para esse gênero, sendo seis encontradas no Brasil (THE PLANT LIST, 2013; REFLORA, 2017). Especialistas do grupo têm sinalizado a dificuldade na delimitação correta de algumas espécies do gênero, sendo importantes estudos que possibilitem a identificação de caracteres diagnósticos para este fim. (PERSSON; VARGAS, 2015). O gênero pode ser reconhecido por apresentar indivíduos dióicos, pólen mônade, frutos pequenos e inflorescência com muitas flores femininas.

O gênero *Amaioua* Aubl. é neotropical, estendendo-se do México até o estado de Dentre espécies desse gênero, apenas *Amaioua guianensis* Aubl., possui valor econômico reconhecido pela indústria farmacêutica, devido as suas propriedades medicinais relacionadas à constipação, espasmo menstrual e verminoses (DA SILVA, 2013; DE OLIVEIRA et al., 2009). De Oliveira (2014) citou em seu estudo que *Amaioua intermedia* Mart. ex Schult. &

Schult.f. possui uma diversidade de metabólitos secundários, os quais não foram testados até o momento sob o ponto de vista biológico.

Figura 3 - Filogenia de Rubiaceae, destacando a posição das três subfamílias (Cinchonoideae, Ixoroideae e Rubioideae) e suas respectivas tribos.



Fonte: BREMER; ERIKSSON, 2009.

Rubioideae é a maior subfamília em número de espécies, possui distribuição cosmopolita, tendo a maior concentração de tribos e espécies nas regiões tropical e subtropical. Ela apresenta idioblastos contendo feixes de ráfides de oxalato de cálcio e indumento com tricomas septados e articulados, iridoides e alcaloides como marcadores químicos e grãos de pólen tricolpados (STEVENS, 2001; ROBBRECHT; MANEN, 2006; BREMER; ERIKSSON, 2009; MOULY et al., 2014). Dentre as tribos mais representativas, destaca-se Psychotrieae e Coussareeae.

Psychotrieae é a maior tribo da família, cosmopolita, contém gêneros neotropicais como *Rudgea* Salisb. que englobam 133 espécies, das quais 65 são encontradas no Brasil (DELPRETE; JARDIM, 2012; THE PANT LIST, 2013; TROPICOS, 2017; REFLORA, 2017). Essa tribo tem como caracteres diagnósticos a presença de estípula dividida ou raramente inteira, ovário geralmente bilocular com um óvulo, frutos carnosos e sementes com endosperma córneo (BREMER, 2000).

Rudgea Salisb. é um gênero que apresenta estípula apendicular interpetiolar ou intrapetiolar fundida, de formas variadas, mas nunca bífida ou triangular, geralmente apresenta domácia, estigma bífido, ovário bilocular uniovulado, frutos com duas sementes sulcadas na face adaxial (ZAPPI, 2003). Espécies desse gênero têm sido estudadas quimicamente por apresentarem grande diversidade de metabólitos secundários da classe dos taninos, flavonóides, triterpenos e saponinas com valor medicinal, como ocorre com *Rudgea viburnioides* (Cham.) Benth., a qual tem diversas propriedades, entre elas diurética e antirreumática (VIEIRA; MARTINS, 2000; ALVES et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007; DIAS, 2013).

No Brasil, as espécies do gênero *Rudgea* possuem similaridades morfológicas com representantes dos gêneros *Coussarea* Aubl. e *Faramea* Aubl. da tribo Coussareeae. O caracter disgnóstico do gênero basea-se no número de sementes por fruto. São necessários mais estudos para melhor delimitação dos gêneros em questão (ZAPPI, 2003).

A tribo Coussareeae possui oito gêneros nas Américas, concentrados na região tropical do continente. No Brasil, destacam-se, entre outros gêneros, *Coussarea* Aubl. e *Faramea* Aubl. (DELPRETE; JARDIM, 2012). Os caracteres comuns as especies da tribo são a presença de estípula inteira, ovário uni ou bilocular variando o número de óvulos, pólen

tricolparado ou com dois ou quatro poros e fruto indeiscente, globoso ou elupsóide, carnoso com pericaropo coiráceo (VERDCOURT, 1958; BREMER, 2000).

Segundo Bremer e Eriksson (2009) os gêneros *Coussarea* Aubl. e *Faramea* Aubl. formam um clado com espécies muito similares, o que tem gerado problemas de identificação. Delprete (2006) cita que os principais caracteres diagnósticos para a delimitação desses gêneros são: estípula triangular ou arredondada, fruto com uma semente e corola de cor branca em *Coussarea*; e estípula aristada, raramente triangular, fruto com uma ou duas sementes e corola de cor branca ou azul em *Faramea*.

Coussarea possui 122 espécies, 56 no Brasil e *Faramea* contém 212 espécies, 90 presentes na flora brasileira (THE PANT LIST, 2013; REFLORA, 2017). Ambos os gêneros possuem poucos relatos de espécies com importância econômica em comparação com o número de espécies que possuem, destacando-se *Coussarea hydrangeifolia* (Benth.) Müll. Arg. com valor medicinal relacionado aos metabólitos secundários que apresentam atividade antioxidante e *Faramea cyanea* Müll. Arg. com valor madeireiro (HAMERSKI et al., 2005; DIAS, 2013).

Devido à similaridade morfológica desse clado, revisões têm sido realizadas nesses gêneros para melhor delimitá-los e com isso novas espécies estão sendo descritas: *Coussarea granvillei* Delprete & B.M. Boom (DELPRETE; BOOM, 1999); *Faramea zamorensis* Al. Rodriguez (RODRÍGUEZ, 2002); *Coussarea longilaciniata* Delprete, *Coussarea spicata* Delprete e *Faramea sessiliflra* (Bremek.) Delprete (DELPRETE, 2006); *Faramea atlantica* J. G. Jardim & Zappi e *Faramea bicolor* J. G. Jardim & Zappi (JARDIM, 2008); e *Coussarea andrei* M.S. Pereira & M.R. Barbosa (PEREIRA; BARBOSA, 2009).

Gomes (2003) citou a necessidade de reavaliar algumas espécies dos gêneros *Faramea* e *Coussarea*, devido à falta de informações e ressalta a importância de estudos anatômicos visando fornecer caracteres diagnósticos que auxiliem na segregação das espécies. O mesmo observou em *Coussarea nodosa* (Benth.) Müll. Arg. a presença de minúsculas e numerosas pontuações translúcidas por toda superfície, as domácias em fenda circular, com cripta pouco desenvolvida e arredondada com tricomas tectores como caracteres diagnósticos importantes para delimitação da espécie.

A partir do exposto a cima, são objetos de estudo neste trabalho as espécies *Amaioua intermedia* Mart. ex Schult. & Schult. f., *Coussarea nodosa* (Benth.) Müll. Arg., *Faramea multiflora* A. Rich. ex DC., *Faramea truncata* DC., *Rudgea minor* (Cham.) Standl. e *Rudgea reticulata* Benth. Elas foram selecionadas pela ausência de estudos anatômicos e por estarem em grupos taxonômicos que necessitam de informações para melhor delimitação na sistemática e filogenia da família.

As espécies selecionadas têm distribuição bem variada. *Faramea multiflora* apresenta a maior distribuição, indo do México ao Brasil, com exceção de quatro estados brasileiros. Ela está presente no Cerrado lato sensu e na Floresta Ciliar, Floresta de Terra Firme e Floresta Ombrófila da Floresta Amazônia e da Mata Atlântica. *Amaioua intermedia* é encontrada apenas na Bolívia e Brasil, restrita aos estados onde se encontra o Cerrado (lato sensu) e Mata Atlântica (Floresta Estacional Semidecidual). *Coussarea nodosa*, *Faramea truncata*, *Rudgea minor* e *Rudgea reticulata* são exclusivas da flora brasileira, endêmicas do bioma Mata Atlântica. *Faramea truncata* ocorre apenas em Floresta Ombrófila nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Bahia e Ceará. *Coussarea nodosa* ocorre apenas em Floresta Ombrófila do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Bahia. *Rudgea minor* ocorre na Floresta Ombrófila e Restinga do Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Bahia. E *Rudgea reticulata* ocorre na floresta ombrófila e Restinga do Espírito Santo, Rio de Janeiro, leste de Minas Gerais, e sul da Bahia (THE PLANT LIST, 2013; REFLORA, 2017; TROPICOS, 2017).

Apenas *Coussarea nodosa*, *Rudgea reticulata* e *Rudgea minor* foram avaliadas sobre o risco de extinção e atualmente não se encontram ameaçadas. Mas, em 2007, *Coussarea nodosa* e *Rudgea reticulata* foram consideradas vulneráveis na flora de São Paulo e do Espirito Santo, respectivamente. Em 2008, *Rudgea minor* constava na lista de espécies com risco de extinção fornecida pelo Ministério do Meio Ambiente devido à falta de informações para caracterizar o real risco de extinção da mesma nos estados em que habita (CNCFLORA, 2017).

1.4. Anatomia foliar

A folha é o órgão do vegetal que apresenta maior diversidade estrutural em resposta as variações ambientais (FAHN, 1982; DICKISON, 2000). As adaptações e aclimatações impressas nesse órgão instigam a realização de trabalhos que visam compreender o seu desenvolvimento a fim de responder inúmeras questões taxonômicas, sistemáticas, filogenéticas e ecológicas (RIO et al., 2005; BREMER; ERIKSSON, 2009; BUNAWAN et al., 2011; MORAES et al, 2011; DELPRETE; JARDIM, 2012).

Estudos da anatomia e da ultraestrutura foliar tem ampliado a compreensão entre a forma e a fisiologia da planta, refletindo na distribuição das espécies nos diferentes microclimas de um ecossistema (BOEGER; WISNIEWSKI, 2003), e até mesmo determinando o nível de tolerância a determinadas mudanças climáticas (SANT'ANNA-SANTOS et al., 2006).

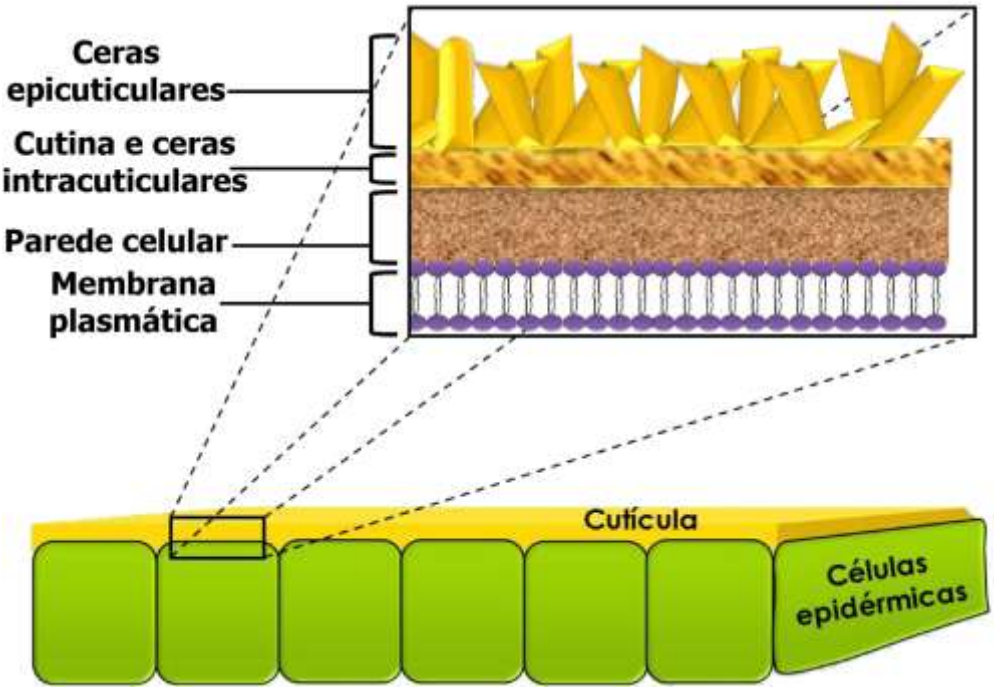
A epiderme é um tecido de revestimento primário que permite a interação planta-ambiente. Sobre a parede periclinal externa das células epidérmicas é comum a formação de uma camada extracelular de origem lipídica, a cutícula. Esta é sintetizada pelas células epidérmicas, sendo composta basicamente por cutina, cera, pectina e celulose; sua espessura varia entre espécies e pode variar entre indivíduos da mesma espécie que vivem em condições ambientais diferentes. Algumas espécies podem apresentar uma camada de cera sobre a cutícula, denominada cera epicuticular, com a principal função de evitar a perda de água para o ambiente (Fig. 4). Porém, a cutícula como um todo tem a função também de evitar o acúmulo de água e poeira sobre a folha, permitir a interação com insetos, controlar a mudança de temperatura, fornecer suporte mecânico, participar do processo de ativação de genes específicos, proteger contra radiação ultravioleta e organismos patogênicos (TAFOLLA-ARELLANO et al., 2013).

A forma de deposição da cera epicuticular gera padrões de ornamentação com alto valor taxonômico, que os permitem ser utilizados como caracteres para determinação de grupos. Accorsi (1948), por exemplo, realizou um grande estudo com 601 espécies da família Rubiaceae, caracterizando suas superfícies foliares e estudando a influência do meio sobre estas.

Outros caracteres anatômicos foliares contribuem consideravelmente para resolução de problemas taxonômicos, permitindo até mesmo a segregação de espécies morfologicamente muito semelhantes. Como foi observado para o gênero *Simira* Aubl., que teve a identificação das espécies baseadas nos seguintes caracteres anatômicos: presença ou ausência de tricomas, a sinuosidade da parede anticlinal das células epidérmicas e no tipo de domácia (MORAES et al., 2009).

A sinuosidade da parede anticlinal tem sido interpretada como uma resposta às condições ambientais, onde plantas que vivem em ambiente ensolarado têm a parede reta ou similar e plantas em ambientes sombreados tem parede sinuosa ou afim (WILKINSON, 1979). Mas essa hipótese é questionável, como Mantovani (1995) mostra em seu estudo ao comparar as espécies *Rudgea decipiens* Müll. Arg. e *R. macrophylla* Benth.

Figura 4 - Estrutura e composição da cutícula.



Fonte: Adaptado de TAFOLLA-ARELLANO et al., 2013.

O pecíolo também apresenta caracteres importantes para a identificação de táxons (METCALFE e CHALK, 1950). Martínez-Cabrera et al. (2009) utiliza o contorno do pecíolo,

o sistema vascular, o tipo e a distribuição do colênquima como caracteres importantes para caracterização de 23 espécies da tribo Hamelieae (Rubiaceae).

Metcalfe e Chalk (1950) indicam caracteres anatômicos diagnósticos para família Rubiaceae, como: folha hipoestomática; mesofilo dorsiventral; estômatos predominantemente paracíticos; presença de tricomas; cristais de oxalato de cálcio do tipo ráfide.

Diversos estudos da anatomia e micromorfologia foliar têm sido realizados nos diferentes gêneros de Rubiaceae, identificando significativos caracteres diagnósticos que auxiliam na sistemática da família, dentre os trabalhos realizados, destaca-se para os gêneros: *Coussarea* Aubl. (TAVARES; VIEIRA, 1994); *Psychotria* L. (GOMES et al., 1995; DA CUNHA; VIEIRA, 1997; MORAES et al., 2011); *Bathysa* C. Presl (NASCIMENTO et al., 1996; GOMES et al., 2000); *Rudgea* Salisb. (MANTOVANI et al., 1995; MANTOVANI; VIEIRA, 1997; LEO et al., 1997); *Rustia* Klotzsch (VIEIRA et al., 2001); *Rondeletia* L. (KOCSIS et al., 2004); *Simira* Aubl. (MORAES et al., 2009); *Uncaria* Schreb. (GATTUSO et al., 2004); e *Posoqueria* Aubl. (ARRUDA; GOMES, 2010).

Diante do exposto acima, o presente trabalho visa ampliar o conhecimento sobre a família Rubiaceae por meio do primeiro estudo comparativo da anatomia e micromorfologia foliar das espécies *Amaioua intermedia*, *Coussarea nodosa*, *Faramea multiflora*, *F. truncata*, *Rudgea minor* e *R. reticulata*.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Estudar a anatomia foliar de espécies da família Rubiaceae, ocorrentes na Floresta Ombrófila Densa montana do Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi, a fim de estabelecer caracteres diagnósticos para as espécies e ampliar o conhecimento sobre a família do ponto de vista taxonômico.

2.2. Objetivos específicos

- Descrever e comparar a anatomia e a micromorfologia foliar das espécies: *Amaioua intermedia*, *Coussarea nodosa*, *Faramea multiflora*, *Faramea truncata*, *Rudgea minor* e *Rudgea reticulata*.
- Identificar metabólitos especiais das espécies selecionadas.
- Estabelecer caracteres diagnósticos da anatomia e micromorfologia da folha que permitam a segregação das espécies.
- Identificar caracteres anatômicos e micromorfológicos que agrupam as espécies em subfamílias, tribos e gêneros.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Sítio de coleta

Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi (PNMCP)

O parque que possui 913,96 hectares está localizado no município de Paracambi, região metropolitana do estado do Rio de Janeiro. Esse sítio de coleta situa-se nas seguintes coordenadas geográficas: latitude 22º36’939"S e longitude 43º42’933"W. A fitofisionomia é de Floresta Ombrófila Densa submontana e montana, associada a um relevo ondulado, com elevações variando entre 100 m a 690 m (VELOSO, 1991; SEMADES, 2010). O clima varia de subtropical com inverno seco e verão quente e chuvoso nas regiões montanhosas, até tropical quente e úmido nas regiões de baixadas, com precipitação média de 1050 mm e temperatura média anual variando de 20 ºC a 27 ºC (SEMADES, 2010; SOUZA, 2011; AMORIM, 2012).

3.2. Material botânico

A seleção das espécies foi feita com base em estudos florísticos e fitossociológicos realizados na trilha dos Bugios e da trilha dos Escravos no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi (AMORIM, 2012). Todas as espécies pertencem à família Rubiaceae e até o momento não haviam sido estudadas sob o ponto de vista da anatomia foliar.

Foram realizadas dez expedições para a identificação, localização e marcação dos espécimes no período de outubro de 2015 a janeiro de 2017. A distribuição espacial dos indivíduos ao longo das trilhas do Bugio e dos Escravos do PNMCP está apresentada na Figura 5. As exsicatas foram depositadas no herbário da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HRJ) e no herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (RBR), sob os números de registro indicados na Tabela 1, assim como as respectivas alturas dos indivíduos, altitudes e hábito. Os hábitos foram determinados com base no REFLORA (2015).

Tabela 1 - Relação das espécies estudadas, registro nos herbários da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HRJ) e da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (RBR), altura dos indivíduos, altitudes e hábito.

Espécies	Número de registro	Altura	Altitude	Hábito
Amaioua intermedia Aubl.	HRJ- 12830 RBR-39215	3 – 6 m	376 m	Árbóreo
Coussarea nodosa (Benth.) Müll.Arg.	HRJ- 12829 RBR-39214	2 – 4 m	297 m	Arbustivo
Faramea multiflora A. Rich. ex DC.	HRJ- 12832 RBR-33853	4 – 8 m	332 m	Árbóreo
Faramea truncata DC.	HRJ- 12831 RBR-39213	2 – 4 m	114 m	Arbustivo
Rudgea minor (Cham.) Standl.	HRJ- 12827 RBR-39211	2 – 4 m	203 m	Arbustivo
Rudgea reticulata Benth.	HRJ- 12828 RBR-39212	3 m	225 m	Arbustivo

Figura 5 - Mapa da distribuição espacial das espécies estudadas nas trilhas dos Bugios e dos Escravos no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi.

3.3. Análise anatômica

Os estudos anatômicos foram realizados em folhas completamente expandidas, provenientes dos ramos mais baixos, das seis espécies. As folhas foram seccionadas nas regiões do pecíolo distal, mediano e proximal; e na lâmina foliar, ao nível do terço médio, nas regiões da nervura principal, intercostal e bordo.

Parte do material coletado foi fixada em solução de FAA 70 % (formaldeído 37 %, ácido acético glacial, etanol 70 %), no campo, mantido por 48 horas, substituído e conservado em álcool 70 % (JOHANSEN, 1940; SASS, 1951). Posteriormente, o material fixado foi submetido à série de desidratação alcoólica (70 %, 80 %, 90 % e 100 %) em intervalos de uma hora, em cada álcool, seguido por infiltração em mistura de álcool 100 % e solução de infiltração de metacrilato (Leica Historesin®) na proporção 1:1 por 48 horas, depois substituído por solução de infiltração pura de metacrilato (Leica Historesin®), colocado a vácuo por uma hora, e mantido por uma semana à 4º C para completa infiltração.

Posteriormente, o material foi emblocado por inclusão em solução de infiltração mais o endurecedor da resina em cápsulas de gelatina e colocado para polimerizar em estufa à 60 ºC por uma hora. Os blocos sofreram secção transversal (ST) utilizando navalhas de vidro descartáveis no micrótomo rotativo (modelo LEICA® RM2233), com cortes de 2 µm de espessura, corado com azul de Toluidina a 1 % e observado em microscopia óptica (O‟BRIEN; MCCULLY, 1981).

Para a descrição da epiderme foram realizadas secções paradérmicas a mão livre e dissociação da epiderme, na região intercostal, em ambas a faces da lâmina foliar (JENSEN, 1962). A dissociação da epiderme foi realizada em fragmentos de aproximadamente 1 cm^2, tanto de material fresco quanto de material fixado em FAA 70 %. As amostras foram mantidas na mistura de proporção 1:1 de peróxido de hidrogênio P.A. e ácido acético P.A., por 48 horas à 40º C, ou até ser observada a separação das faces adaxial e abaxial (FRANKLIN, 1945). Os fragmentos foram lavados em água destilada, clarificados em solução de hipoclorídrico 50 %, neutralizados em água acética 2 %, mantidos em álcool 50 % por 30 minutos e novamente lavados em água destilada para então serem corados em safranina 1 % e montados em lâminas semipermanentes em glicerina 50 %, observado ao microscópio óptico (FRANKLIN, 1945; JENSEN, 1962).

Os testes histoquímicos foram realizados em material fresco e seccionados com o micrótomo de Ranvier. Foram realizados os seguintes testes para a detecção de: substâncias fenólicas pelo uso de Dicromato de Potássio 10 % (GABE, 1968); substâncias pécticas pelo uso do Vermelho de Rutênio (JOHANSEN, 1940); lipídios em geral pelo uso de Sudan IV e Sudan III (JOHANSEN, 1940); amido pelo uso de Lugol (SASS, 1951); e lignina com Floroglucinol (SASS, 1951). A natureza dos cristais de oxalato de cálcio foi verificada, por solubilidade em ácido clorídrico e insolubilidade em ácido acético (CHAMBERLAIN, 1932). Também foi utilizado o microscópio óptico sob luz polarizada para essa identificação.

Todas as observações e descrições na microscopia óptica foram realizadas através do microscópio Olympus BX41, e as imagens obtidas por meio de câmera digital, modelo DFK 51AU02 – USB 2.0 The imaging Source® acoplada ao mesmo, com auxílio do software Image-Pro® Insight 8.0 versão para Windows.

A terminologia foi classificada de acordo com a literatura específica (METCALFE; CHALK, 1950; BARTHLOTT, 1981).

3.4. Análise micromorfológica

Os estudos micromorfológicos foram realizados nas mesmas regiões foliares dos estudos anatômicos. No campo, o material foi fixado em solução aquosa 4% de paraformaldeído, 2,5% de glutaraldeído e 0,05 M de tampão cacodilato de sódio em pH 7,2, mantida a vácuo por duas horas e armazenado à 4º C (DA CUNHA et al., 2000).

Para microscopia eletrônica de varredura (MEV), parte do material fixado foi desidratada em série alcoólica em intervalos de uma hora, repetindo três vezes a última concentração. Então, submetido à secagem pelo ponto crítico com o auxílio do aparelho Leica EM CPD030, onde o álcool foi substituído gradativamente por gás carbônico em estado líquido, sob condições de temperatura e pressão controladas, seguido pela passagem do gás carbônico do estado líquido para o gasoso.

Posteriormente, o material foi afixado em suportes próprios com auxílio de fita adesiva de carbono para sofrer metalização, adquirindo assim uma camada fina de ouro

(20nm) no aparelho Emitech K550X Sputter Coater. As amostras foram analisadas no microscópio eletrônico de varredura EVO 40 ZEISS.

3.5. Levantamento de dados

Foi escolhido o sistema de classificação de Bremer e Eriksson (2009) como parâmetro de comparação dos resultados gerados a partir do levantamento dos caracteres anatômicos e micromorfológicos da folha.

O banco de dados foi construído a partir do levantamento bibliográfico realizado com espécies pertencentes aos mesmos gêneros das espécies selecionadas do PNMCP para este trabalho. Ao todo foi possível comparar 14 espécies pertencentes a quatro gêneros, três tribos e duas subfamílias (Tabela 2). Todas as espécies selecionadas para compor a base de dados possuíam trabalhos da anatomia e micromorfologia foliar. E foi construída uma base com 94 caracteres qualitativos indicados na Tabela 3.

Tabela 2 - Relação das espécies utilizadas na base de dados e a sua localização no sistema de classificação da família Rubiaceae.

Espécies	Tribo	Subfamília	Referências Consultadas
Amaioua intermedia	Gardenieae	Ixoroideae	*
Coussarea meridionalis	Coussareeae	Rubioideae	TAVARES; VIEIRA, 1994
Coussarea friburgensis			BARROS et al., 1997
Coussarea graciliflora			TAVARES; VIEIRA, 1994
Coussarea nodosa			*
Faramea intercedens			MORENO, 2010
Faramea multiflora			*
Faramea truncata			*
Rudgea decipiens	Psychotrieae		MANTOVANI et al., 1995; MANTOVANI; VIEIRA et al., 1997
Rudgea macrophylla			MANTOVANI et al., 1995; MANTOVANI; VIEIRA et al., 1997
Rudgea minor			*
Rudgea ovalis			LEO et al. 1997
Rudgea reticulata			*
Rudgea tinguana			LEO et al. 1997

Legenda: *, espécies descritas anatomicamente nesta dissertação.

Tabela 3 - Lista de caracteres anatômicos e micromorfológicos utilizados neste trabalho.

Código	Caracteres Diagnósticos
	Micromorfologia
C01	Domácia do tipo bolsa
C02	Domácia do tipo bolsa com tufo de pelos
C03	Domácia do tipo tufo de pelos
C04	Domácia do tipo cripta com tricoma tector
C05	Estômato com ornamentação do tipo estria
C06	Tricoma tector curto ornamentado
C07	Tricoma tector curto não ornamentado
C08	Tricoma tector longo não ornamentado
C09	Tricoma tector longo ornamentado
C10	Tricoma tector longo recobrindo as nervuras
C11	Ornamentação cuticular estriada na face adaxial
C12	Cera epicuticular em camada fendida
C13	Cera epicuticular em camada ou crosta
C14	Superfície lisa
	Anatomia do Pecíolo
C15	Contorno côncavo-convexo na região proximal
C16	Contorno biconvexo na região proximal
C17	Contorno plano-convexo na região proximal
C18	Contorno biconvexo na região mediana
C19	Contorno côncavo-convexo na região mediana
C20	Contorno plano-convexo na região mediana
C21	Projeções acuminadas conspícuas na região mediana
C22	Projeções laterais arredondadas
C23	Projeções laterais acuminadas
C24	Tricoma tector longo
C25	Tricoma tector curto
C26	Sistema vascular em arco aberto contínuo na região proximal
C27	Sistema vascular em arco aberto fletido contínuo na região proximal
C28	Sistema vascular em arco aberto fletido descontínuo na região proximal
C29	Floema descontínuo na região proximal
C30	Sistema vascular em arco aberto contínuo com extremidade invaginada na região mediana
C31	Sistema vascular em arco aberto contínuo na região mediana
C32	Sistema vascular em arco aberto descontínuo na região mediana
C33	Sistema vascular em arco fechado descontínuo na região mediana
C34	Sistema vascular em arco aberto na região distal
C35	Sistema vascular em arco fechado na região distal

C36	Fibra com uma camada
C37	Bainha parênquimática
C38	Ausência de feixe acessório
C39	Dois feixes acessórios
C40	Mais de dois feixes acessórios
C41	Braquiesclereídes
C42	Idioblasto de ráfide
C43	Fístula conspícua
C44	Bainha amilífera
C45	Flanges cuticulares
C46	Idioblasto com substâncias fenólicas
C47	Cristais prismáticos
C48	Areia cristalífera
Anatomia da lâmina foliar	
Nervura Principal	
C49	Contorno biconvexo
C50	Contorno côncavo-convexo
C51	Contorno plano-convexo
C52	Contorno convexo-plano
C53	Contorno da face abaxial em arco
C54	Contorno da face abaxial em "V"
C55	Contorno da face abaxial em "U"
C56	Feixe em arco com extremidade invaginada
C57	Feixe vascular em arco aberto
C58	Feixe vascular em arco fechado
C59	Tricoma tector na face abaxial
C60	Esclereídes
C61	Flange cuticular
C62	Parênquima fotossintetizante contínuo
C63	Fístula conspícua
Região Intercostal	
C64	Parede anticlinal ondulada na face abaxial
C65	Parede anticlinal ondulada na face adaxial
C66	Parede anticlinal reta na face abaxial
C67	Parede anticlinal reta na face adaxial
C68	Parede anticlinal sinuosa na face abaxial
C69	Parede anticlinal sinuosa na face adaxial
C70	Tricoma unicelular
C71	Tricoma multicelular
C72	Tricoma com base volumosa
C73	Tricoma com base abaixo do nível das demais células epidérmicas

C74	Feixe vascular com bainha esclerificada
C75	Feixe vascular com bainha parenquimática
C76	Células epidérmicas quadradas na face adaxial
C77	Células epidérmicas papilosa na face abaxial
C78	Células epidérmicas lenticulada na face abaxial
C79	Cristais prismáticos nas células epidérmicas da face adaxial
C80	Idioblasto com ráfide
C81	Idioblasto com drusa
C82	Cristais prismáticos no parênquima paliçádico
C83	Reserva lipídica
C84	Parênquima clorofilado na nervura principal
C85	Parênquima paliçádico irregular
Bordo	
C86	Reto
C87	Levemente fletido
C88	Fletido
C89	Extremidade afilada
C90	Extremidade levemente afilada
C91	Extremidade arredondada
C92	Parênquima paliçádico estendido até a extremidade
C93	Feixe vascular terminal
C94	Feixe de fibra terminal

3.6. Análise estatística

Em um primeiro momento, para análise de agrupamento, foram utilizados 82 caracteres das seis espécies selecionadas no PNMCP (Anexo I). Os caracteres foram organizados em uma matriz de presença (1) e ausência (0).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de agrupamento, utilizando o índice de similaridade de Jaccard e o método pela associação média (UPGMA), para a construção do fenograma. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R versão 3.3.2 para Windows (R CORE TEAM, 2016).

Uma segunda análise de agrupamento foi realizada, utilizando apenas 25 caracteres, de 14 espécies, que apresentaram uma uniformização nas descrições da estrutura foliar e por

tanto, possibilitando uma análise comparativa. A partir das novas análises estatísticas foi gerado um segundo fenograma.

4. RESULTADOS

As espécies estudadas apresentam hábito predominantemente arbustivo, sendo arbóreo em *Amaioua intermedia* e *Faramea multiflora*, e encontram-se sob condições ambientas similares. Todas possuem folhas simples, com textura coriácea, forma elíptica, margem inteira, ápice acuminado ou apiculado, a base pode ser aguda e acuminada ou atenuada.

4.1. Pecíolo

Em seção transversal, os pecíolos das espécies estudadas apresentam contorno diferenciado. Na região proximal, *Coussarea nodosa* e *Rudgea reticulata* apresentam contorno côncavo-convexo (Figs. 7A, 9A, 11A); *Amaioua intermedia*, *F. truncata* e *F. multiflora*, plano-convexo (Figs. 6A e 9A); e *R. minor*, biconvexa (Fig. 11A). Na região mediana, *R. minor* tem contorno plano-convexo (Fig.11D), as demais espécies estudadas possuem contorno côncavo-convexo. Elas também podem ser diferenciadas pelas projeções laterias nessa região do pecíolo: em *A. intermedia* são quadrangular (Fig. 6D); *C. nodosa*, arredondadas próximas formando um ângulo (Fig. 7B); *F. multiflora*, arredondadas (Fig. 8D); *F. truncata* são acuminadas (Fig. 9D); e *R. reticulata* são discretamente acuminadas (Fig. 11D). Na região distal, as espécies mantiveram a forma (Figs. 6G, 8C, 9G, 9G e 11G), apenas *R. minor* apresenta alteração, formando projeções laterais delgadas com extremidades arredondadas (Fig. 11G).

A epiderme de todas as espécies, em seção transversal, é unisseriada e apresenta parede periclinal externa com revestimento cuticular (Figs. 21B-D). As espécies *C. nodosa*, *R. minor* e *R. reticulata* apresentam flanges cuticulares conspícuas (Fig. 21D), diferindo das espécies do gênero *Faramea* (Fig. 21C).

Amaioua intermedia, *C. nodosa* e *R. reticulata* possuem tricomas tectores unicelulares curtos (Figs. 22D, G e H), diferindo na estrutura e distribuição. *Coussarea nodosa* e *R. minor* não ocorre ornamentação e são raros (Fig. 22H), enquanto que, em *A. intermedia* e *R. reticulata* os mesmos são ornamentados e abundantes (Figs. 22D e G). *Amaioua intermedia* possui também tricomas tectores longos ornamentados, cobrindo toda a superfície do pecíolo

(Figs. 6J e K). *Rudgea minor* possui tricomas longos não ornamentados restritos a face abaxial (Fig. 14K). As espécies *F. multiflora* e *F. truncata* não possuem tricomas.

Na região cortical, adjacente a epiderme, ocorre um colênquima angular contínuo formado por quatro a sete camadas celulares (Fig. 11G). O parênquima fundamental é constituído de células de parede primária delgada, isodiamétricas, com 7 a 11 camadas. São encontrados idioblastos de ráfides de oxalato de cálcio em *F. multiflora*, *F. truncata*, *R. minor* e *R. reticulata* (Fig. 22B); braquiesclereídes agrupados ou isolados em *C. nodosa*, *F. multiflora*, *F. truncata* e *R. reticulata* (Fig. 21F)*;* e areia cristalífera em *A. intermedia* (Fig. 22A). Nas espécies *C. nodosa* e *R. reticulata* são observadas bainha amilífera próximo ao sistema vascular (Fig. 21E).

O sistema vascular é do tipo colateral, em forma de arco, envolto por fibras perivasculares com dois feixes acessórios (Figs. 6C, F e I; 7G, H e I; 8C, F e I; 9C, F e I; 10C, F e I; 11C, F e I). Na região proximal, *A. intermedia* possui arco aberto acentuadamente fletido para o interior do órgão, na região distal torna-se fechado, onde o xilema é completamente envolvido pelo floema, circundado por uma camada de fibras perivasculares (Figs. 7B, E e H). *Coussarea nodosa*, na região proximal, contém arco aberto fletido para o interior do órgão descontínuo, formando faixas de xilema e floema, e na região distal, os tecidos vasculares tornam-se contínuos e penetram a lâmina foliar em arco fechado, circunscrito por células parenquimáticas perivasculares (Figs. 6D-F).

Os representantes do gênero *Faramea*, na região proximal, tem arco aberto fletido para o interior do órgão circundado por uma camada de fibras perivasculares (Figs. 8C e F; 9B e E) Na região distal, em ambas as espécies o arco torna-se fechado contínuo, com floema e xilema bem desenvolvido (Figs. 8G e 9H). *Faramea multiflora* diferencia de *F. truncata* por apresentar parênquima medular fistuloso, com sinais de lise em algumas células parenquimáticas na região proximal do pecíolo, intensificando até a sua formação completa na região distal (Figs. 8F e G). *Rudgea minor* e *R. reticulata* mantém o arco aberto ao longo do pecíolo, com fibras perivasculares pouco desenvolvidas (Figs. 10E, G e H; 11B, E e H).

4.2. Lâmina foliar

No terço médio, em seção transversal, a nervura principal possui contorno plano-convexo em *A. intermedia* e *R. minor* (Figs. 12A e13 H)*;* biconvexo em *C. nodosa, F. multiflora* e F. *truncata* (Fig. 12B-D); e côncavo-convexa em *R. reticulata* (Fig. 13C). O contorno da face abaxial também permite diferenciar as espécies: *C. nodosa* possui formato em arco (Fig. 12B); as do gênero *Faramea*, formato em "V" (Figs. 12C e 13AG); *A. intermedia, R. minor* e *R. reticulata* formato em "U" (Figs. 12A, 13B e C).

Em vista transversal, as células epidérmicas mantêm-se unisseriadas, diminutas e revestidas por cutícula. Adjacente à epiderme encontram-se duas a três camadas de colênquima angular, em ambas as faces, seguido por parênquima fundamental com uma faixa de células colapsadas sob o feixe vascular na face abaxial (Figs. 12C, D, F, 13A, B e C). Em *F. truncata, R. minor* e *R. reticulata* são observados idioblastos contendo ráfides de oxalato de cálcio dispersos pelo córtex (Fig. 22E). Em *C. nodosa, F. multiflora, F. truncata* e *R. minor* o parênquima paliçádico se prolonga e atravessa a nervura principal, na face adaxial, e constiruído por três a quatro camadas de células isodiamétricas (Figs. 12B e C). Em *R. minor* o parênquima paliçádico mantém a mesma morfologia celular das observadas na região intercostal (Fig. 13B).

O sistema vascular é colateral circundado por fibras perivasculares e parênquima cortical. As espécies *R. minor* e *R. reticulata* possuem a forma em arco (Figs. 13E e F); *C. nodosa*, o floema e o xilema formam um feixe vascular aberto (Fig. 12E); *A. intermedia, F. multiflora* e *F. truncata*, o xilema é completamente envolvido pelo floema, formando um feixe vascular fechado, circundado por fibras perivasculares (Figs. 12D e 13D), sendo fístuloso conspícuo em *F. multiflora* (Fig. 12F).

Em vista frontal, na região da nervura principal, as superfícies mantiveram o padrão observado do pecíolo: tricomas tectores longos em *A. intermedia* e *R. minor*, curtos em *C. nodosa* e *R. reticulata*, e presença de estrias epicuticulares no gênero *Faramea*.

Entre a região da nervura principal e as nervuras secundárias, as espécies *A. intermedia* e *R. reticulata* apresentam domácias do tipo tufo pelos (Figs. 14A, B, E e F) e em *C. nodosa* do tipo cripta, com tricomas tectores (Figs. 14C e D).

A epiderme, na região intercostal, em vista frontal, apresenta diferenças nas paredes anticlinais, sendo em: *A. intermedia*, sinuosa em ambas as faces (Figs. 15A e B); *C. nodosa* e *F. multiflora*, ondulada em ambas as faces (Figs. 15C-F); *F. truncata* (Figs. 15G-H) e *R. reticulata*, retas na face adaxial e onduladas na face abaxial (Figs. 15K-L); e *R. minor*, reta em ambas as faces, com tricomas tectores de base volumosa na face abaxial (Figs. 15I-J). Os estômatos, localizados apenas na face abaxial, são do tipo paracítico e paralelocítico com células subsidiárias bem reduzidas, em todas as espécies (Figs. 15D, F, J e L).

A análise da superfície da região intercostal, ao nível do terço médio, mostra que *A. intermedia*, *C. nodosa* e *F. multiflora* são revestidas por cera epicuticular em camada ou crosta, em ambas as faces (Figs. 16A-F); *Faramea truncata*, *R. minor* e *R. reticulata* apresentam cera e camada lisa, em ambas as faces (Figs. 16G-I, 17A-D), sendo ornamentada com estrias, na face adaxial em *R. minor* (Fig. 17A). Em *R. reticulata* são observadas estrias circundado a abertura do estômato, podendo estar paralela ou perpendicular as células-guarda (Figs. 17E e F), diferindo das demais espécies (Figs. 16D, F, H, I e 17B).

Em seção transversal, a epiderme é unisseriada, com parede periclinal externa espessa revestida por cutícula. Na face adaxial, *R. minor* destaca-se das demais por apresentar cutícula estriada, bem proeminente (Fig. 21B). A forma da célula em *R. reticulata* e *A. intermedia* é quadrangular com grandes dimensões (Figs. 18A, 19D e G), em *C. nodosa*, *F. multiflora* e *F. truncata* a forma é retangular diminuta (Figs. 18D, G e 19J) e são comuns a visualização de cristais prismáticos de oxalato de cálcio nessas células (Figs. 22C e F). Na face abaxial, as células são papilosas nas espécies *A. intermedia*, *F. multiflora* e *F. truncata* (Figs. 18A, G, I, 19A e C; 22I).

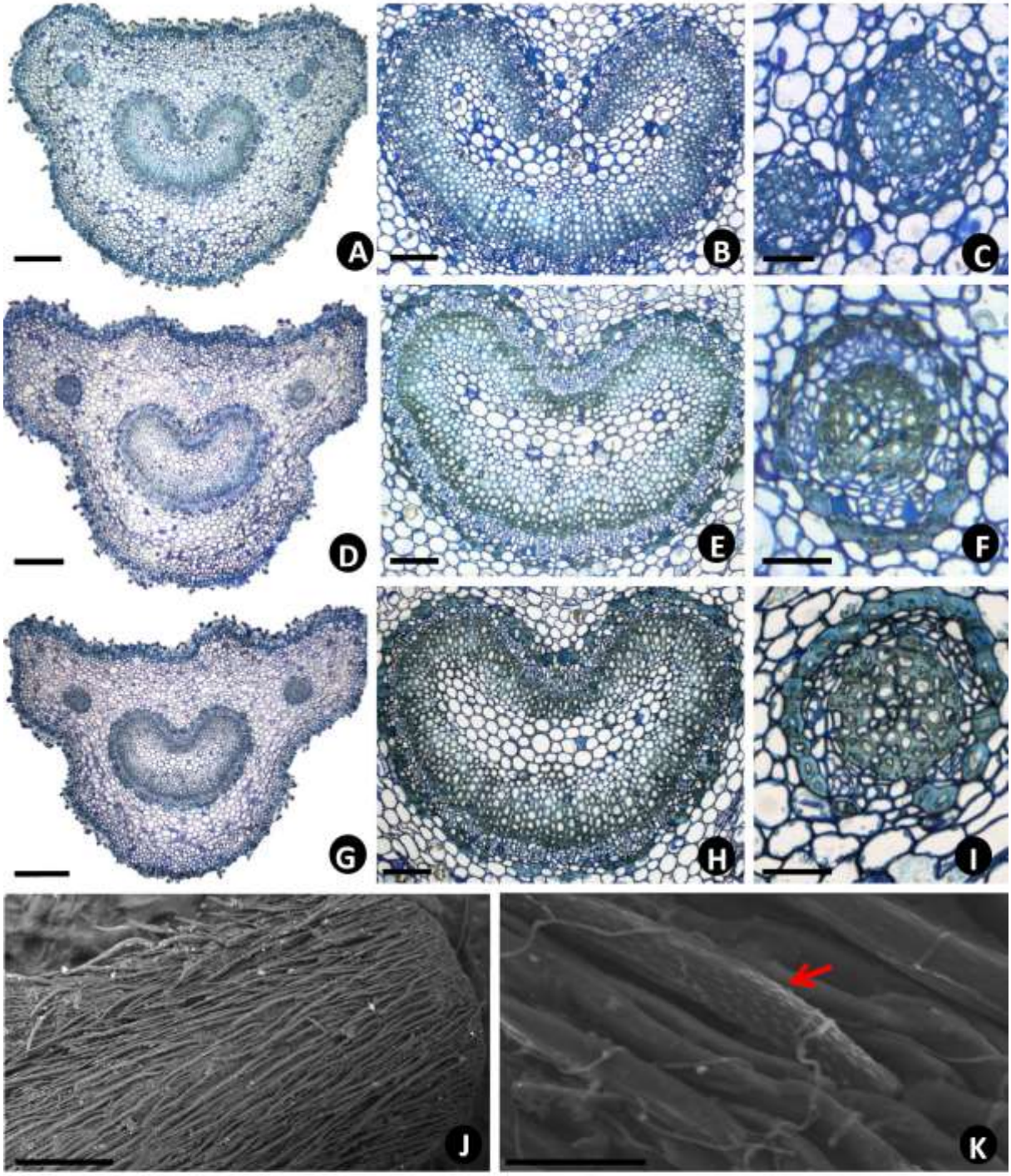
Os estômatos, em seção transversal, apresentam células estomáticas ao nível das demais células epidérmicas, com parede periclinal externa espessada, evidenciando duas projeções cutinizadas que delimitam o ostíolo (Figs. 18C, F, I, 19C, F e I).

O mesofilo é dorsiventral, apresentando um estrato de parênquima paliçádico, com exceção de *A. intermedia* que possui variação de um a dois estratos (Fig. 18A), e cinco a nove camadas de parênquima lacunoso frouxo como em *C. nodosa*, *F. multiflora*, *R. minor* e *R. reticulata* (Figs. 18D, G, 19A, D e G), ou compactas como em *A. intermedia* (Fig. 18A).e em *F. truncata* (Fig. 19A). Foram observadas gotas de óleo no parênquima paliçádico e lacunoso

de *A. intermedia* e *R. reticulata* (Fig. 21A). Os feixes vasculares são colaterais com bainha esclerificada em *C. nodosa, F. multiflora, F. truncata, R. minor* e *R. reticulata* (Figs. 18E, H, 19B, E e H), e com bainha parenquimática apenas em *A. intermedia* (Fig. 18A). Também são encontrados idioblastos com drusa de oxalato de cálcio em *A. intermedia* (Fig. 18B).

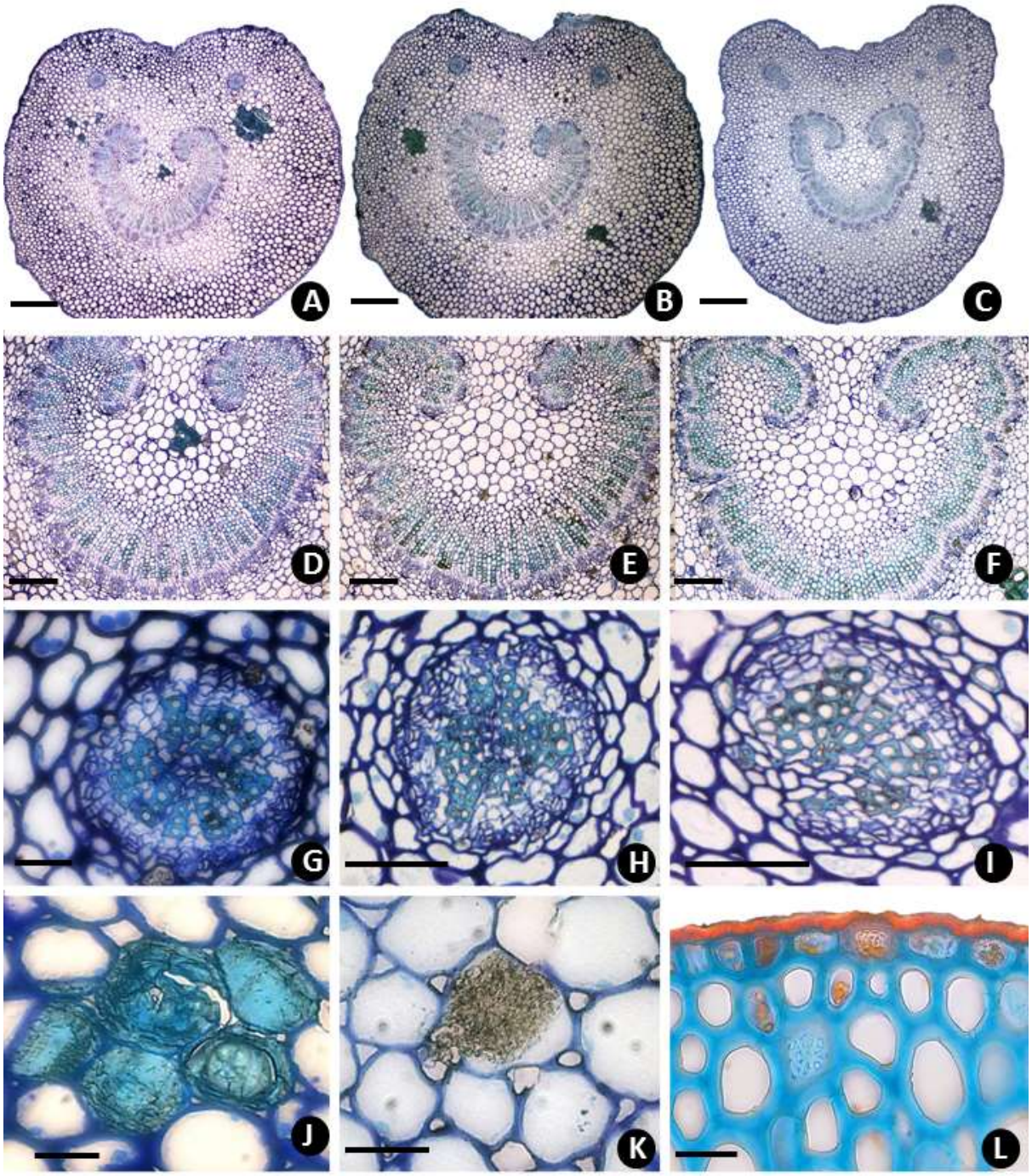
Os bordos analisados em direção à face abaxial são: reto, levemente fletido na extremidade em *A. intermedia* (Fig. 20A); levemente fletido em *C. nodosa*, *F. multiflora*, *F. truncata* e *R. reticulata* (Figs. 20B-D e F); e fletido em *R. minor* (Fig. 20E). A epiderme é uniestratificada, apresentando parede periclinal adaxial mais espessa que da face abaxial. Em *C. nodosa* e *R. reticulata* as células da epiderme abaxial tem parede periclinal externa reta (Figs. 20B e F), diferente de *A. intermedia*, *F. multiflora* e *F. truncata* em que são papilosas como observado na região intercostal (Figs. 20A, C e D) e de *R. minor* que apresenta células lenticulares (Fig. 20E). O parênquima paliçádico se estende até a extremidade do bordo, exceto em *A. intermedia* onde o parênquima fotossintetizante termina sobre o feixe vascular terminal (Fig. 20A). Próximo à extremidade do bordo é observado feixe vascular terminal em *A. intermedia*, *F. multiflora* e *F. truncata* (Figs. 20A, C e D) e na mesma posição é encontrado feixe de fibras terminais em *R. minor* e *R. reticulata* (Figs. 20E-F). O colênquima preenche a porção mais terminal do bordo, tendo de três a sete camadas.

Figura 6 – Anatomia e micromorfologia do pecíolo de *Amaioua intermedia.*



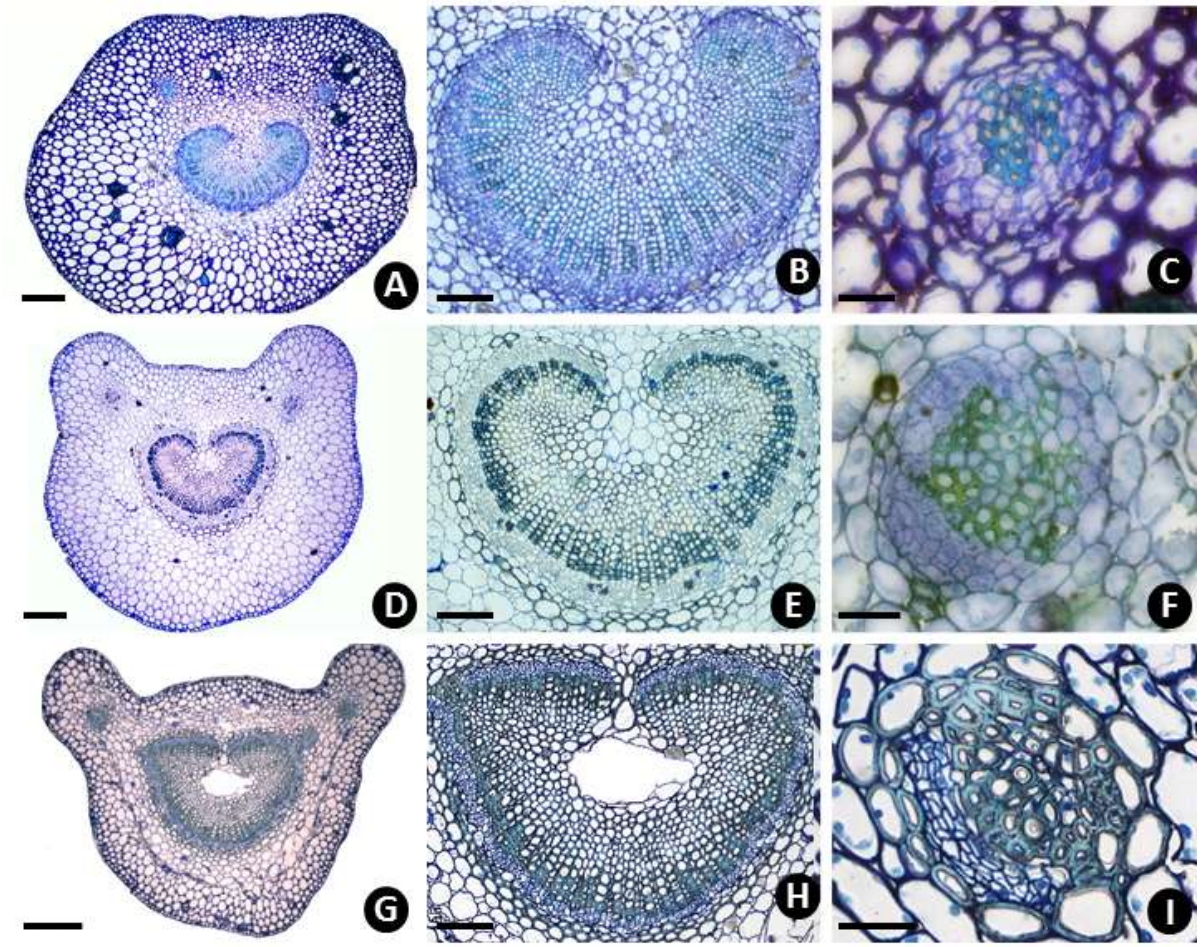
Legenda: **A-C.** Pecíolo proximal (ST). **A.** Contorno plano-convexo**. B.** Sistema vascular. **C.** Feixe acessório. **D-F.** Pecíolo mediano (ST). **D.** Contorno plano-convexo**. E.** Sistema vascular. **F.** Feixe acessório. **G-I.** Pecíolo distal (ST). **G.** Contorno plano-convexo**. H.** Sistema vascular. **I.** Feixe acessório. **J.** Tricomas tectores longos (MEV). **K.** Tricomas ornamentados (seta) (MEV). Barras: A, 250 µm; B, 100 µm; C, 50 µm; D, 250 µm; E, 300 µm; F, 100 µm; G, 50 µm; H, 300 µm; I, 100 µm; J, 50 µm; K, 25 µm; L, 500 µm.

Figura 7 - Anatomia do pecíolo de *Coussarea nodosa*.



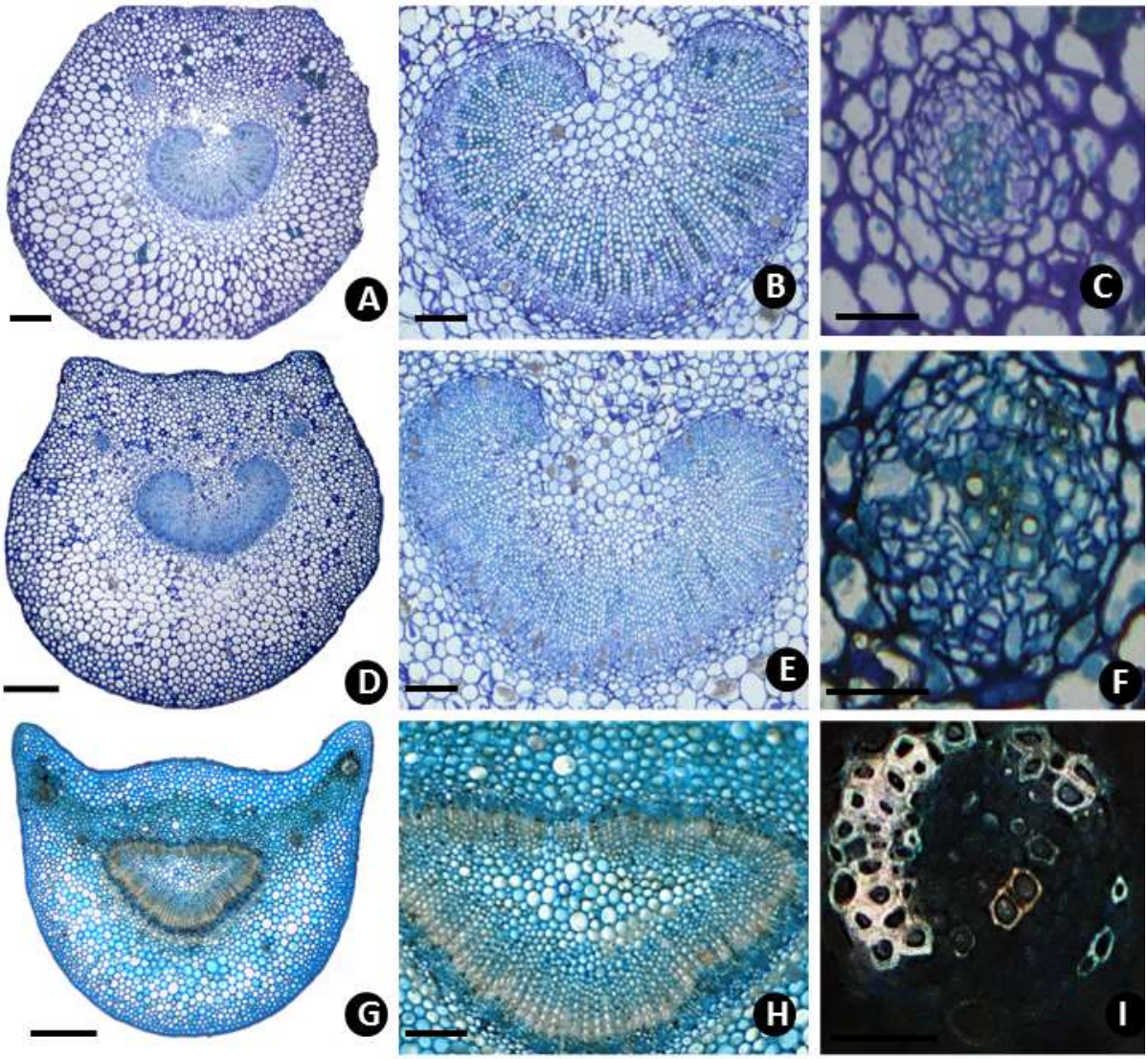
Legenda: **A-C. P**ecíolo com contorno côncavo-convexo (ST). **A.** Pecíolo proximal. **B.** Pecíolo mediano. **C.** Pecíolo distal. **D-F.** Sistema vascular (ST). **D.** Pecíolo proximal. **E.** Pecíolo mediano. **F.** Pecíolo distal. **G-I.** Feixe acessório (ST). **G.** Pecíolo proximal. **H.** Pecíolo mediano. **I.** Pecíolo distal. **J.** Braquiesclereídes (ST). **K.** Idioblasto de ráfides (ST). **L.** Cutícula espessa (ST), corado com Safrablau. Barras: A-C, 300 µm; D-F, 100 µm; G-H, 30 µm; I, 60 µm; J, 25 µm; L, 60 µm; M, 25 µm.

Figura 8 - Anatomia do pecíolo de *Faramea multiflora*.



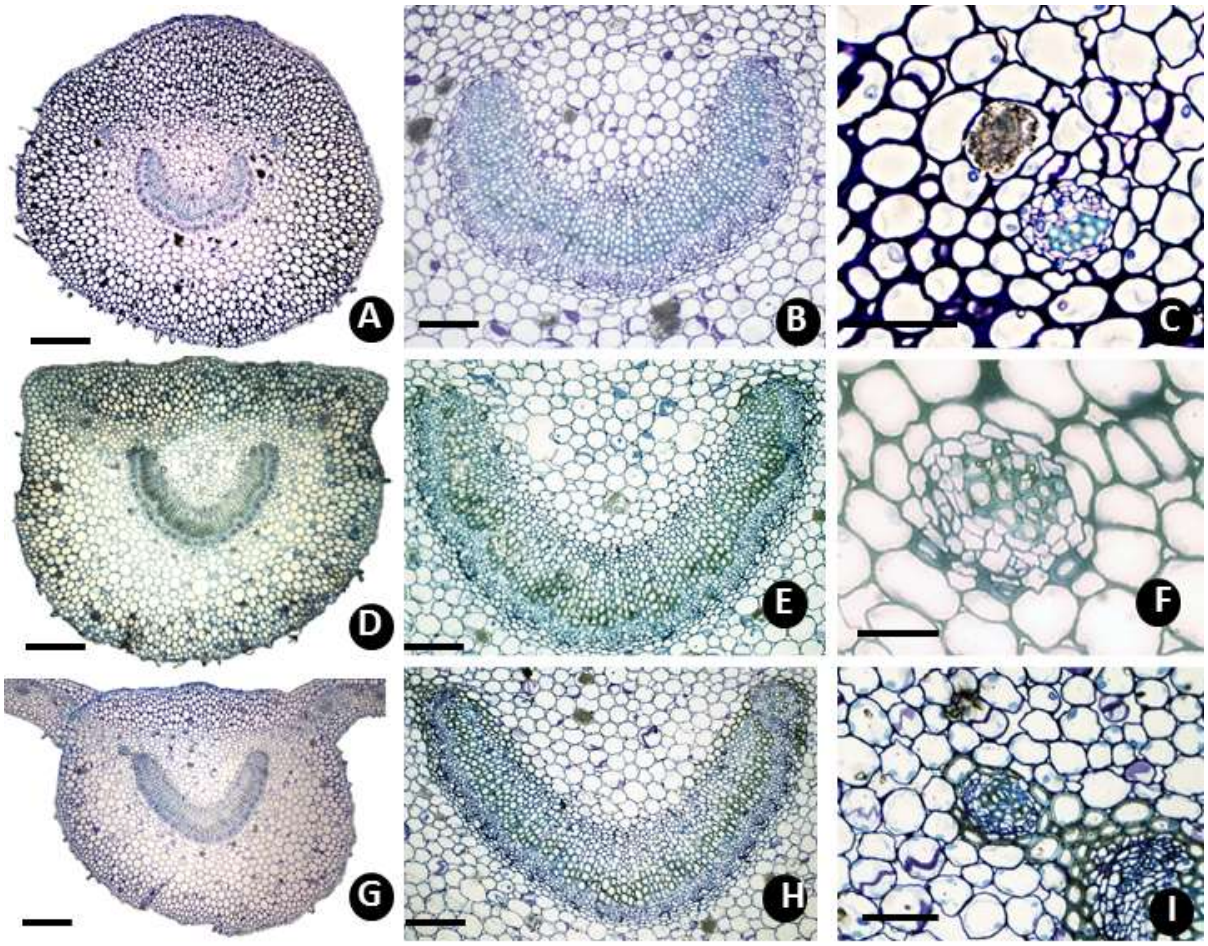
Legenda: **A-C.** Pecíolo proximal (ST). **A.** Vista geral, evidenciando o contorno plano-convexo**. B.** Sistema vascular em arco aberto acentuadamente fletido para o interior do órgão. **C.** Detalhe do feixe acessório. **D-F.** Pecíolo mediano (ST). **D.** Vista geral, evidenciando o contorno plano-convexo com projeções arredondadas conspícuas**. E.** Sistema vascular em arco aberto acentuadamente fletido para o interior do órgão. **F.** Detalhe do feixe acessório. **G-I.** Pecíolo distal (ST). **G.** Vista geral, evidenciando o contorno plano-convexo com projeções arredondadas conspícuas**. H.** Sistema vascular em arco fechado. **I.** Detalhe do feixe acessório. Barras: A, 300 µm; B, 100 µm; C, 25 µm; D, 300 µm; E , 100µm; F , 30µm; G, 100µm; H, 30µm.

Figura 9 - Anatomia do pecíolo de *Faramea truncata.*



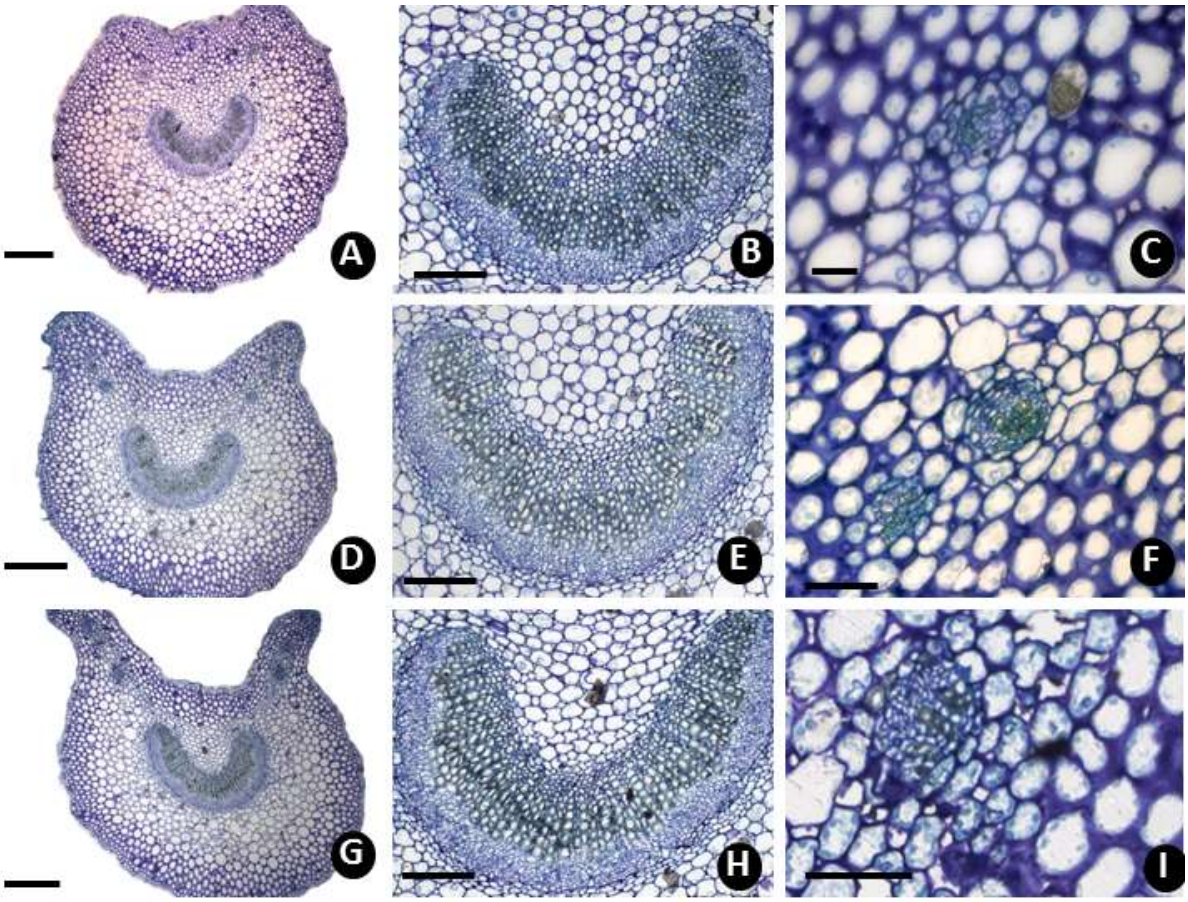
Legenda: **A-C.** Pecíolo proximal (ST). **A.** Vista geral, evidenciando o contorno plano-convexo**. B.** Sistema vascular em arco aberto acentuadamente fletido para o interior do órgão. **C.** Detalhe do feixe acessório. **D-F.** Pecíolo mediano (ST). **D.** Vista geral, evidenciando o contorno plano-convexo com projeções acuminadas conspícuas**. E.** Sistema vascular em arco aberto acentuadamente fletido para o interior do órgão. **F.** Detalhe do feixe acessório. **G-I.** Pecíolo distal (ST). **G.** Vista geral, evidenciando o contorno plano-convexo com projeções acuminadas conspícuas**. H.** Sistema vascular em arco fechado. **I.** Detalhe do feixe acessório. Barras: A, 250 µm; B, 100 µm; C, 50 µm; D, 250 µm; E , 100 µm; F , 25 µm; G, 250 µm; H, 100 µm; I, 25 µm.

Figura 10 - Anatomia do pecíolo de *Rudgea minor*.



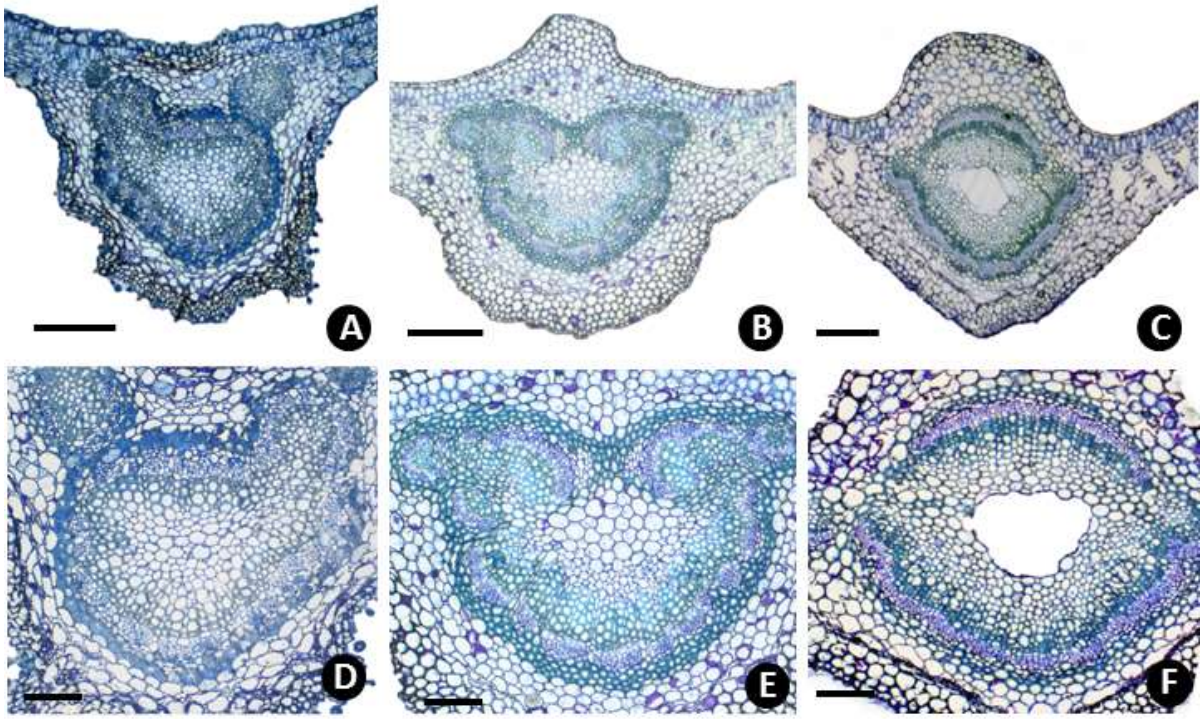
Legenda: **A-C.** Pecíolo proximal (ST). **A.** Vista geral, evidenciando o contorno biconvexo**. B.** Sistema vascular em arco aberto. **C.** Detalhe do feixe acessório. **D-F.** Pecíolo mediano (ST). **D.** Vista geral, evidenciando o contorno plano-convexo**. E.** Sistema vascular em arco aberto. **F.** Detalhe do feixe acessório. **G-I.** Pecíolo distal (ST). **G.** Vista geral, evidenciando o contorno plano-convexo com projeções laterais delgadas com extremidade arredondadas**. H.** Sistema vascular em arco aberto. **I.** Detalhe do feixe acessório. Barras: A, 300µm; B, 120 µm; C, 60 µm; D, 300 µm; E, 120 µm; F, 30 µm; G, 250 µm; H, 300 µm; I, 120 µm; J, 60 µm.

Figura 11 - Anatomia do pecíolo de *Rudgea reticulata.*



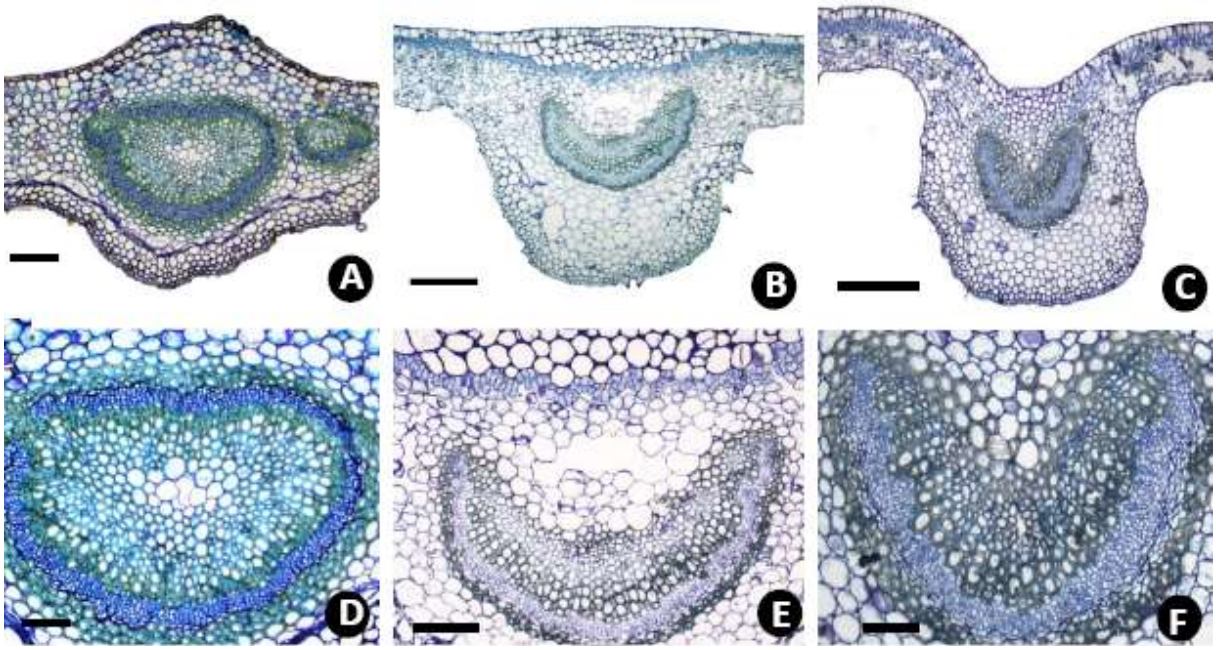
Legenda: **A-C.** Pecíolo proximal (ST). **A.** Vista geral, evidenciando o contorno côncavo-convexo**. B.** Sistema vascular em arco aberto. **C.** Detalhe do feixe acessório. **D-F.** Pecíolo mediano (ST). **D.** Vista geral, evidenciando o contorno côncavo-convexo com projeções discretamente acuminadas**. E.** Sistema vascular em arco aberto. **F.** Detalhe do feixe acessório. **G-I.** Pecíolo distal (ST). **G.** Vista geral, evidenciando o contorno plano-convexo com projeções laterais discretamente acuminadas**. H.** Sistema vascular em arco aberto. **I.** Detalhe do feixe acessório. Barras: A, 300 µm; B, 120 µm; C, 60 µm; D, 300 µm; E , 120 µm; F , 60 µm; G, 300 µm; H, 120 µm; I, 60 µm.

Figura 12 - Anatomia da nervura principal de *Amaioua intermedia*, *Coussarea nodosa* e *Faramea multiflora*.



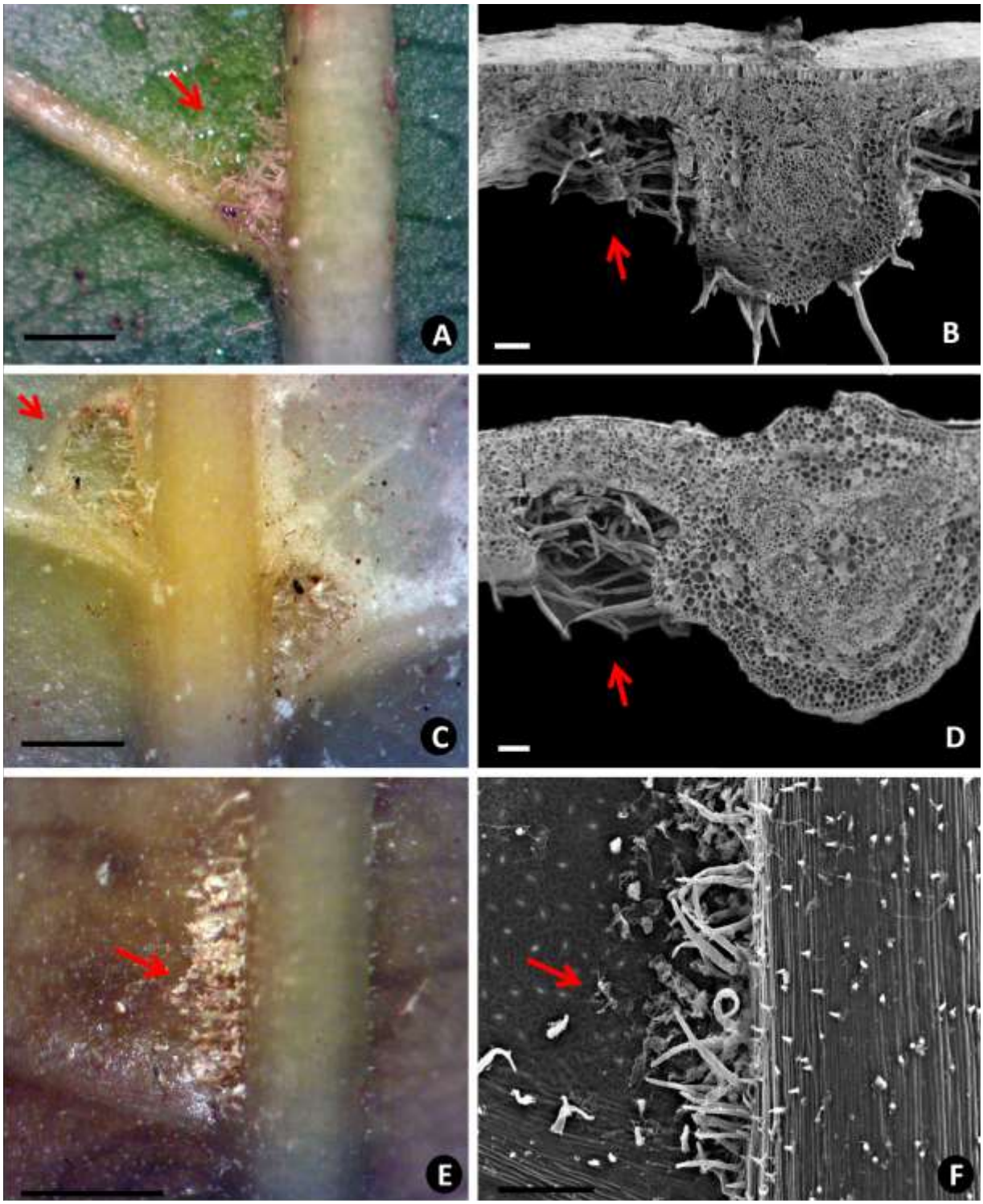
Legenda: **A.** Vista geral de *Amaioua intermedia* com contorno plano-convexo (ST). **B.** Vista geral de *Coussarea nodosa* com contorno biconvexo (ST). **C.** Vista geral de *Faramea multiflora* com contorno biconvexo (ST). **D.** Sistema vascular fechado de *A. guianenses* (ST). **E.** Sistema vascular colateral em arco aberto com extremidade fletida para o centro do órgão de *C. nodosa* (ST). **F.** Sistema vascular fechado, presença de fístula de *F. multiflora* (ST). Barras: A-C, 250 µm; D-E, 100 µm; F, 120 µm.

Figura 13 – Anatomia da nervura principal de *Farmea rivularis*, *Rudgea minor* e *Rudgea reticulata*.



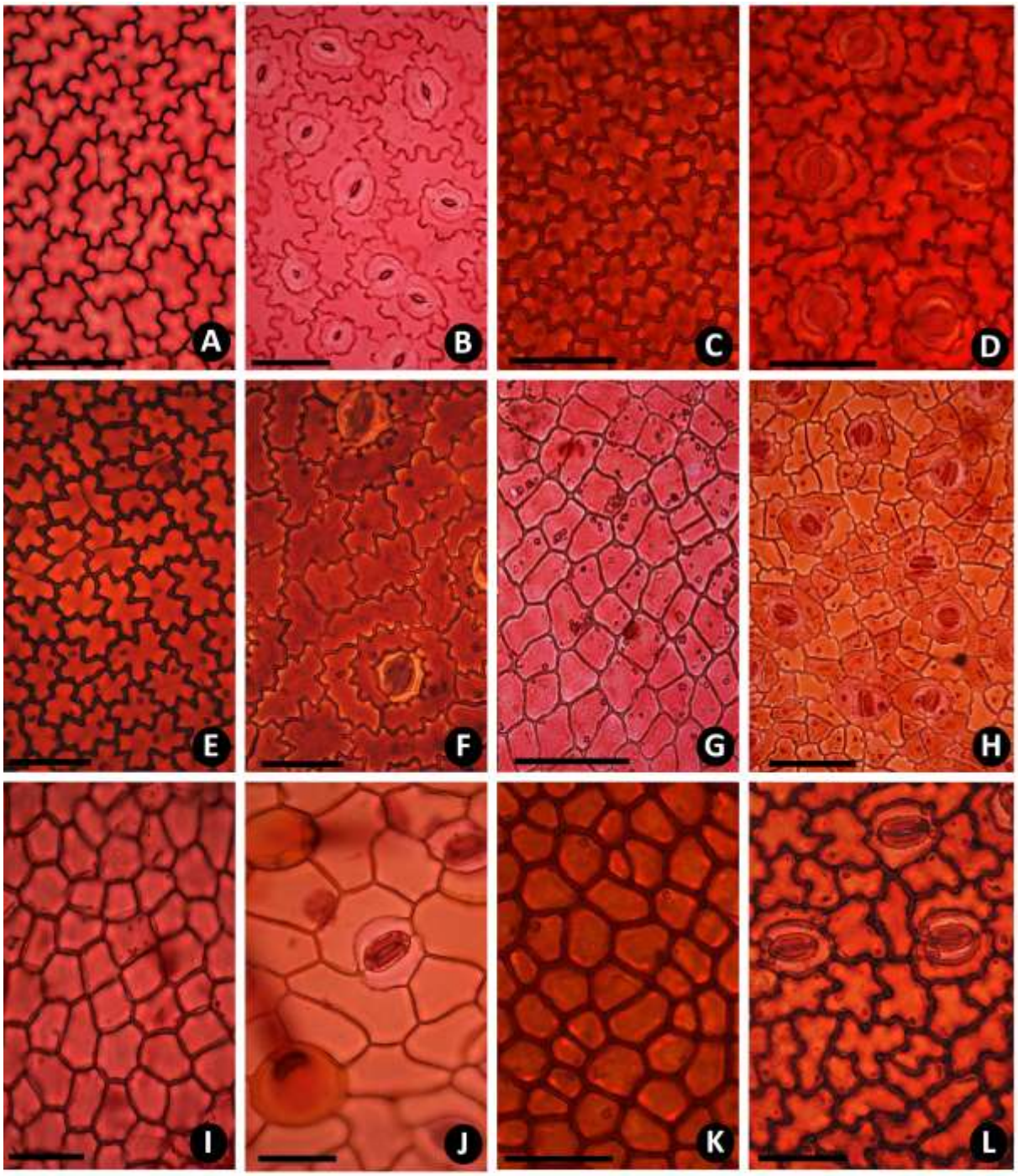
Legenda: **A.** Vista geral de *F. rivularis* com contorno biconvexo (ST). **B.** Vista geral de *Rudgea minor* com contorno plano-convexo (ST). **C.** Vista geral de *R. reticulata* com contorno côncavo-convexa (ST). **D.** Sistema vascular fechado de *F. rivularis* (ST). **E.** Sistema vascular colateral em arco aberto de *R. minor* (ST). **F.** Sistema vascular colateral em arco aberto de *R. reticulata* (ST). Barras: A, 250 µm; B-C, 300 µm; D-E, 120 µm; F, 60 µm.

Figura 14 - Morfologia e micromorfologia domácias de três espécies coletadas.



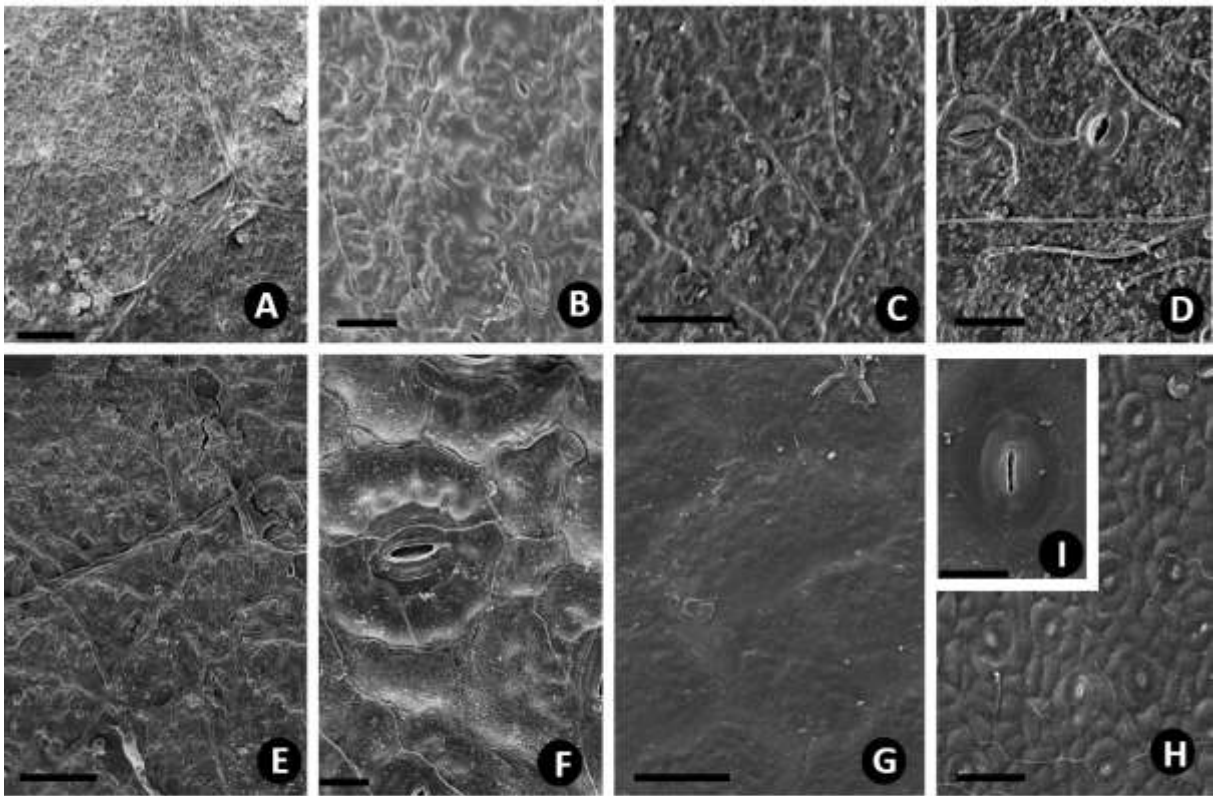
Legenda: **A-B.** *Amaioua intermedia*. **A.** Domácia (seta). **B.** Nervura principal com domácia (seta) (MEV). **C-D.** *Coussarea nodosa*. **C.** Domácia (seta). **D.** Nervura principal com domácia (seta) (MEV). **E-F.** *Rudgea reticulata*. **E.** Domácia (seta). **F.** Nervura principal com domácia (seta) (MEV). Barras: A, 1 mm; B, 100 µm; C, 1 mm; D, 100 µm; E, 1 mm; F, 200 µm.

Figura 15 - Vista frontal da epiderme dissociada das espécies estudadas.



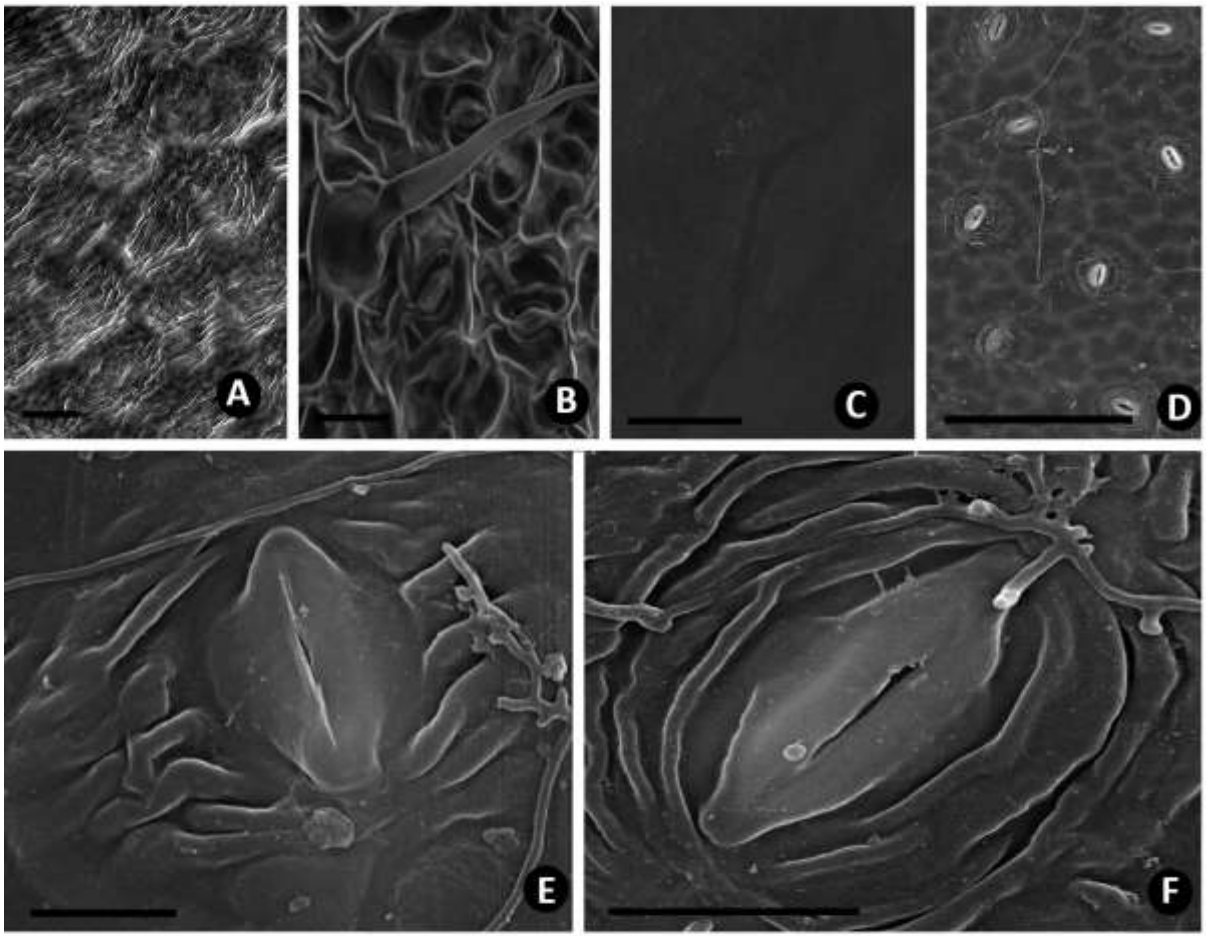
Legenda: **A-B**. Epiderme de *Amaioua intermedia*. **A.** Face adaxial. **B.** Face abaxial. **C-D.** Epiderme de *Coussarea nodosa*. **C.** Face adaxial. **D.** Face abaxial. **E-F.** *Faramea multiflora*. **E.** Face adaxial. **F.** Face abaxial. **G-H.** Epiderme de *Faramea truncata*. **G.** Face adaxial. **H.** Face abaxial. **I-J.** Epiderme de *Rudgea minor*. **I.** Face adaxial. **J.** Face abaxial. **K-L.** Epiderme de *Rudgea reticulata*. **K.** Face adaxial. **L.** Face abaxial. Barras: A-M, 50 µm.

Figura 16 - Micromorfologia da epiderme de *Amaioua intermedia*, *Faramea multiflora* e *Faramea truncata*.



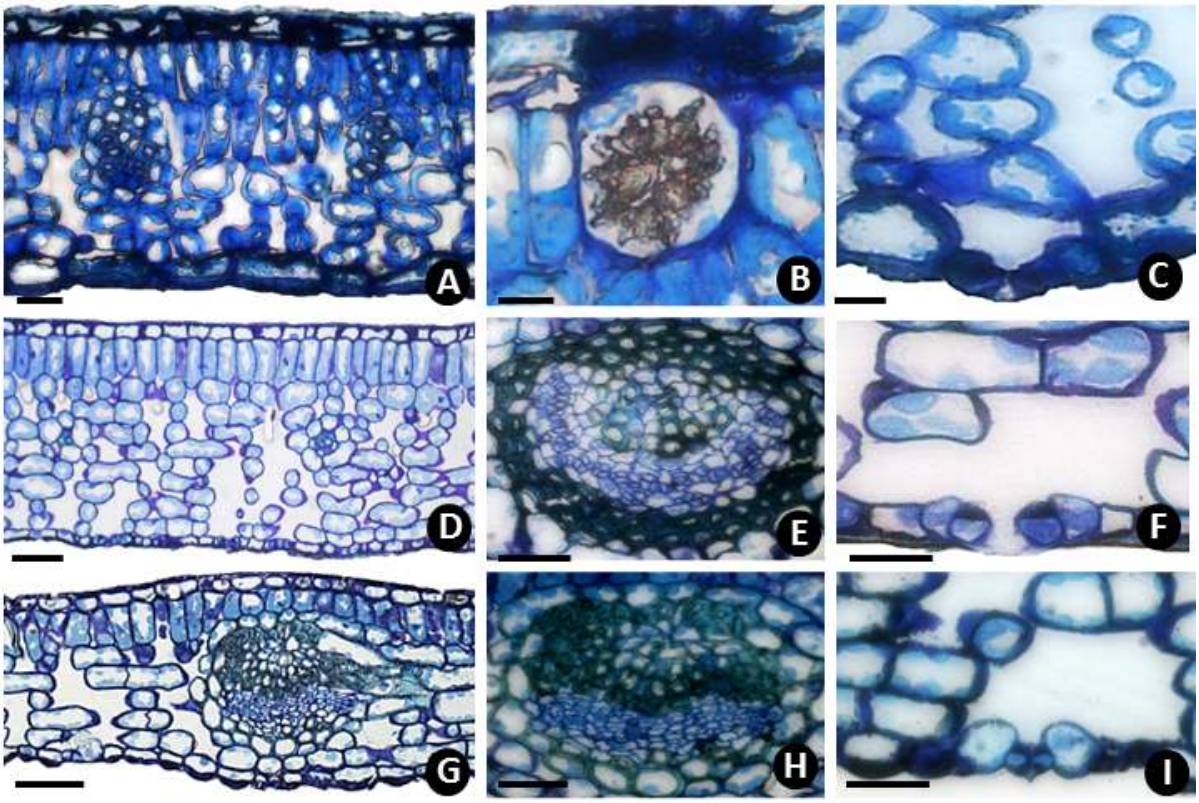
Legenda: **A-B**. *Amaioua intermedia*. **A.** Epiderme adaxial. **B.** Epiderme abaxial. **C-D.** *Coussarea nodosa*. **C.** Epiderme adaxial. **D.** Epiderme abaxial. **E-F.** *Faramea multiflora*. **E.** Epiderme adaxial. **F.** Epiderme abaxial. **G-I.** *Faramea truncata*. **G.** Epiderme adaxial. **H.** Epiderme abaxial. **I.** Estômato sem ornamentação de *Faramea truncata*. Barras: A, 200 µm; B, 40 µm; C-F, 20µm; G, 10 µm; H, 50 µm; I, 10 µm.

Figura 17 – Micromorfologia da epiderme de *Rudgea minor* e *Rudgea reticulata*.



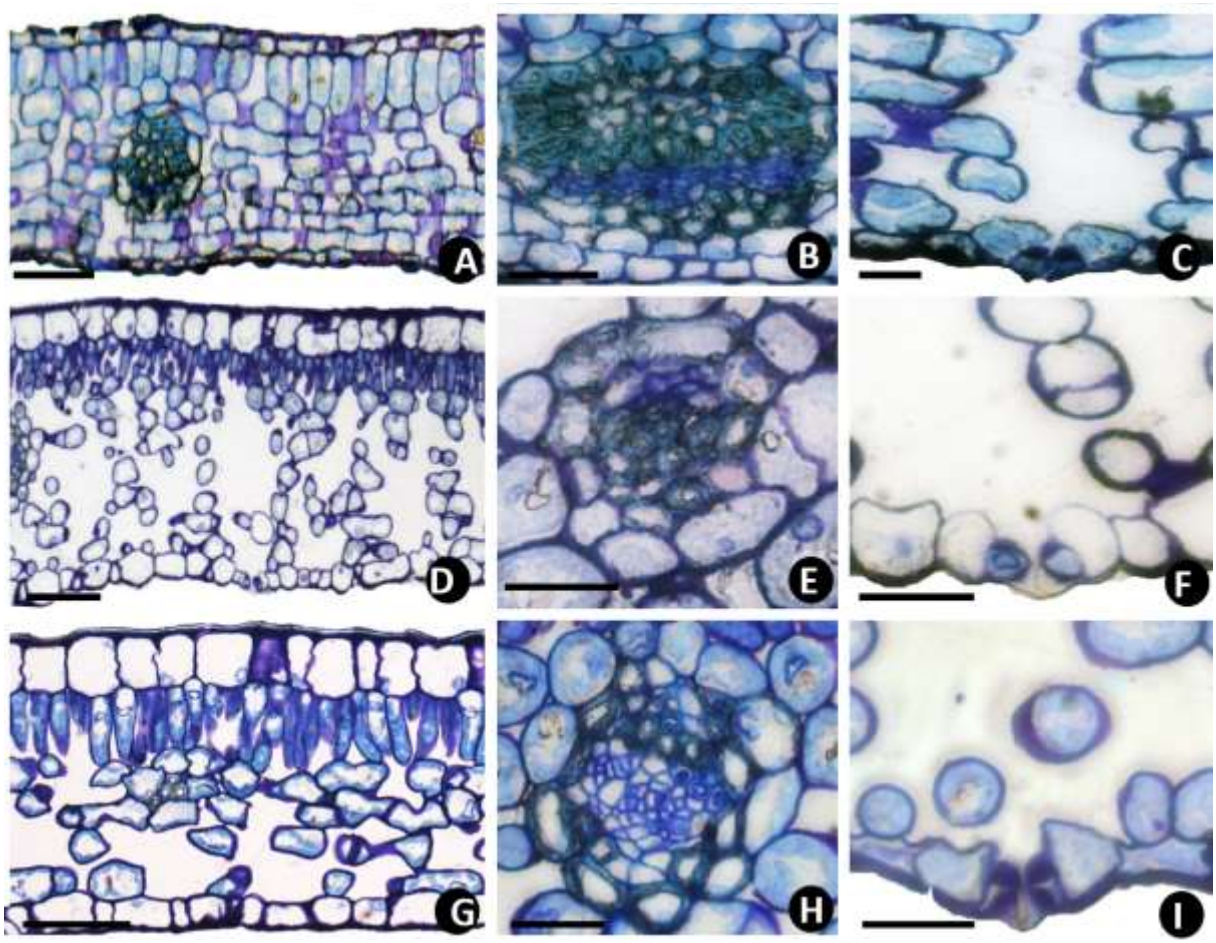
Legenda: **A-B.** Rudgea minor. **A.** Epiderme adaxial. **B.** Epiderme abaxial. **C-F.** Rudgea reticulata. **C.** Epiderme adaxial. **D.** Epiderme abaxial. **E.** Estômato com ornamentação estriada perpendicular à abertura. **F.** Estômato com ornamentação estriada paralela à abertura. Barras: A, 20 µm; B, 60 µm; C, 20 µm; D, 100 µm; E-F, 10 µm.

Figura 18 – Anatomia da região intercostal de *Amaioua intermedia*, *Coussarea nodosa* e *Faramea multiflora*.



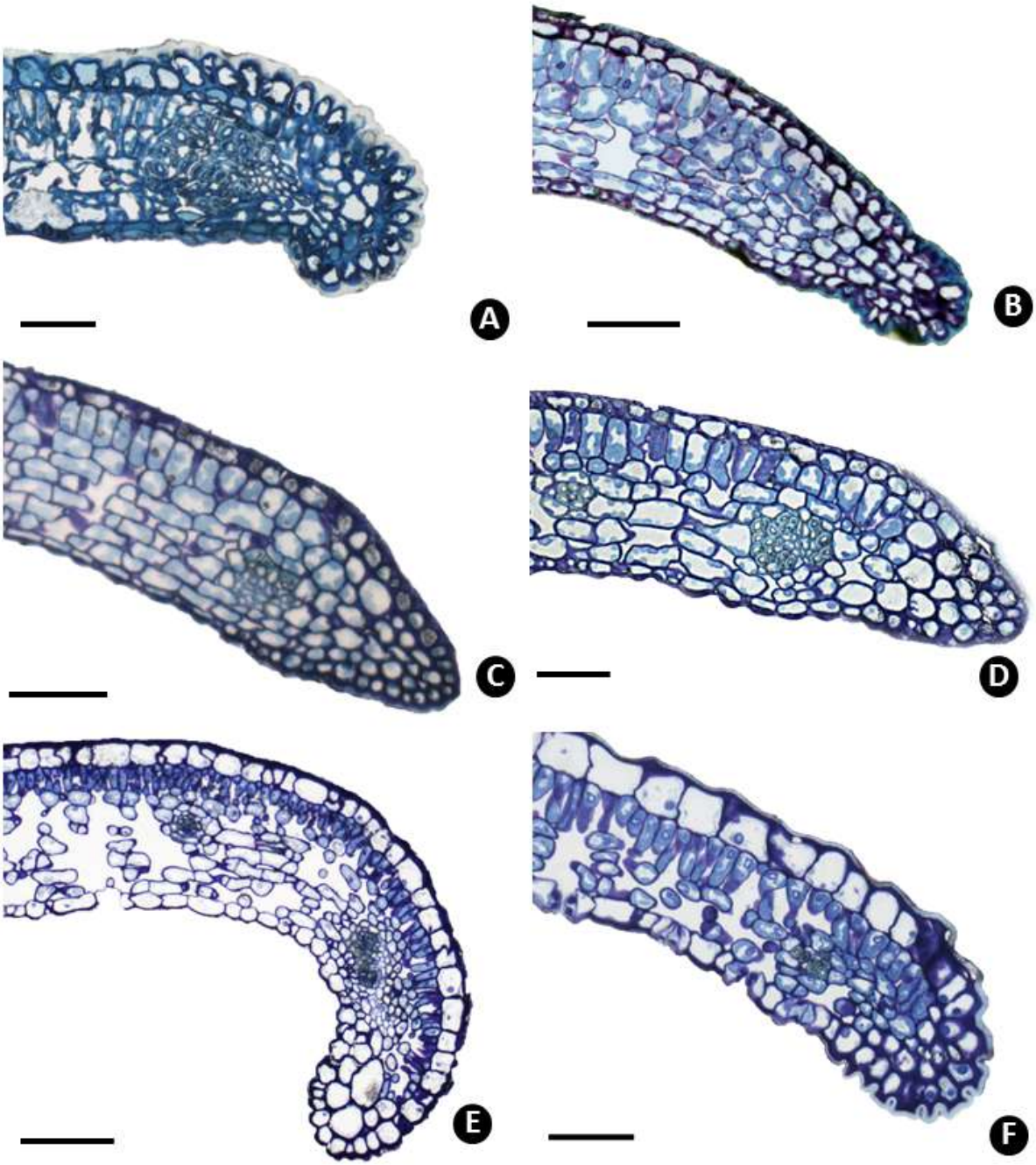
Legenda: **A-C.** *Amaioua intermedia* (ST). **A.** Região intercostal evidenciando o feixe vascular secundário, colateral e com bainha parenquimática. **B.** Idioblasto cristalífero contendo drusa de oxalato de cálcio. **C.** Estômato na epiderme abaxial. **D-F.** *Coussarea nodosa* (ST). **D.** Região intercostal. **E.** Feixe vascular secundário, colateral e com bainha esclerificada. **F.** Estômato na epiderme abaxial. **G-I.** *Faramea multiflora* (ST). **G.** Região intercostal. **H.** Feixe vascular secundário, colateral e com bainha esclerificada. **I.** Estômato na epiderme abaxial. Barras: A, 25 µm; B, 10 µm; C, 50 µm; D, 100 µm; E, 30 µm; F , 10 µm; G, 60 µm; H, 30 µm; I, 30 µm.

Figura 19 – Anatomia da região intercostal de *Faramea truncata*, *Rudgea minor* e *Rudgea reticulata*.



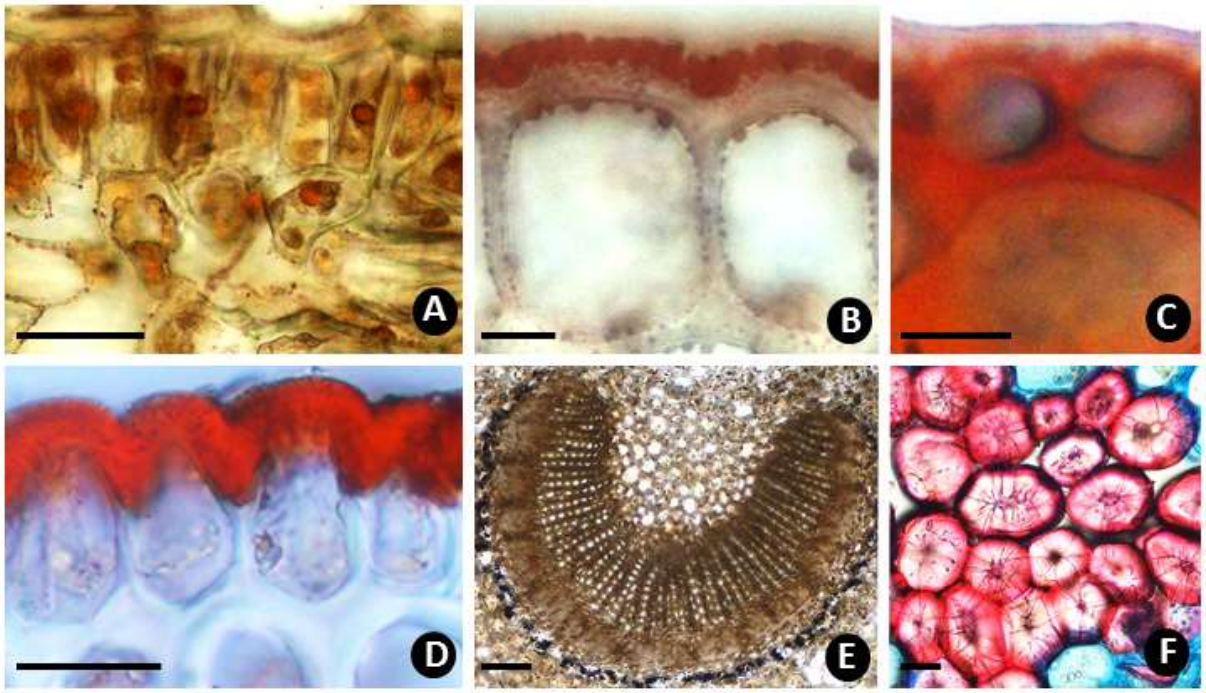
Legenda: **A-C.** *Faramea truncata* (ST). **A.** Região intercostal. **B.** Feixe vascular secundário, colateral e com bainha esclerificada. **C.** Estômato na epiderme abaxial. **D-F.** *Rudgea minor* (ST). **D.** Região intercostal. **E.** Feixe vascular secundário, colateral e com bainha esclerificada. **F.** Estômato na epiderme abaxial. **G-I.** *Rudgea reticulata* (ST). **G.** Região intercostal. **H.** Feixe vascular secundário, colateral e com bainha esclerificada. **I.** Estômato na epiderme abaxial. Barras: A, 60 µm; B, 30 µm; C, 30 µm; D, 60 µm; E, 30 µm; F, 30 µm; G, 60 µm; H, 30 µm; I, 30 µm.

Figura 20 - Anatomia do bordo das espécies estudadas.



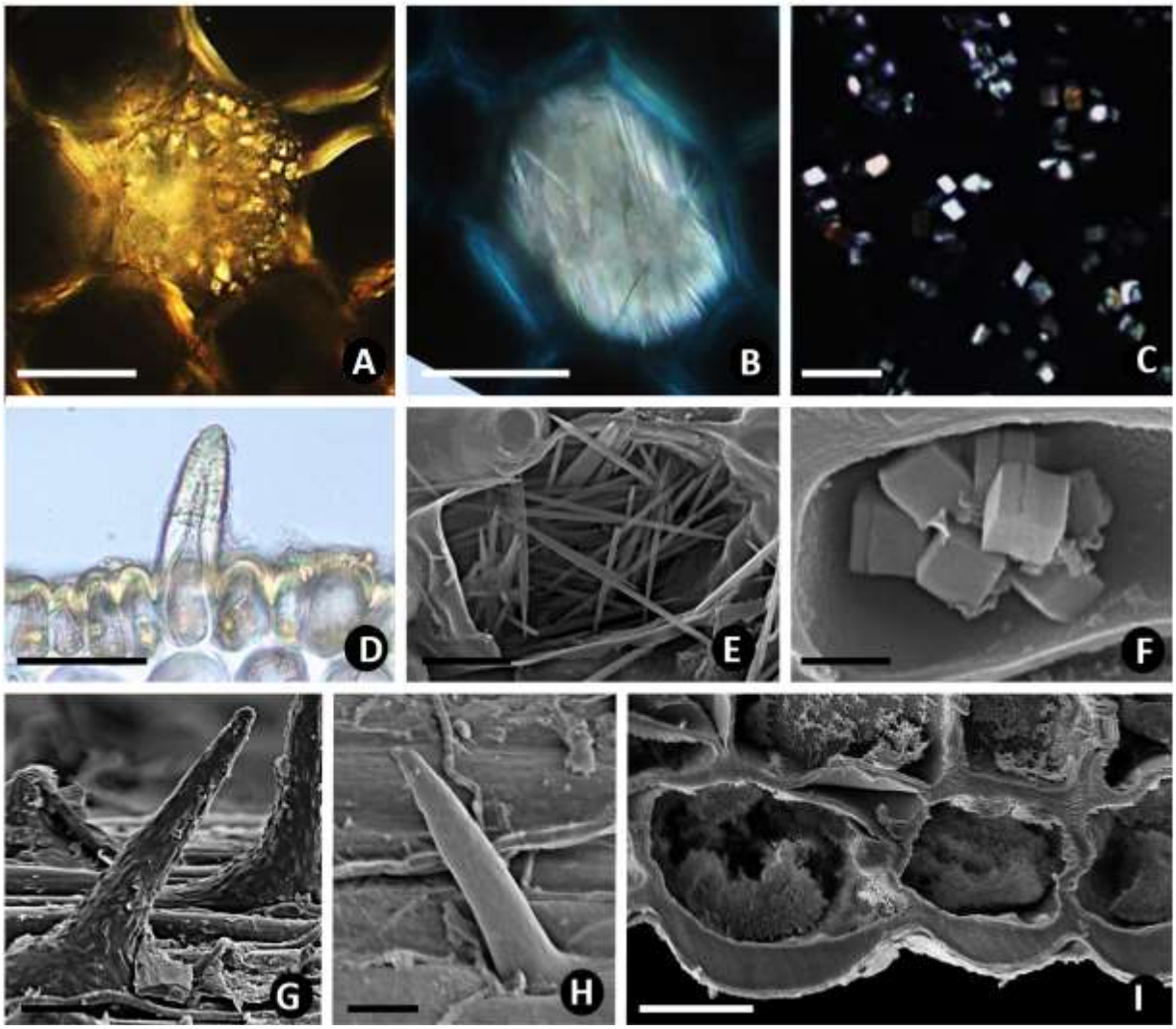
Legenda: **A**. Bordo reto de *Amaioua intermedia* (ST). **B.** Bordo levemente fletido de *Coussarea nodosa* (ST). **C.** Bordo levemente fletido de *Faramea multiflora* (ST). **D** Bordo levemente fletido de *Faramea truncata* (ST). **E.** Bordo fletido de *Rudgea minor* (ST). **F.** Bordo levemente fletido de *Rudgea reticulata* (ST). Barras: A-D, 60 µm; E, 120 µm; F, 60 µm.

Figura 21 - Metabólitos especiais das espécies estudadas identificadas por testes histoquímicos.



Legenda: **A.** *Amaioua intermedia*, reserva lipídica da região intercostal (ST), corado com Sudan IV. **B.** *Rudgea minor*, cutícula estriada na região da nervura principal (ST), corado com Sudan IV. **C.** *F. truncata*, parede periclinal com cutícula reta do pecíolo mediano (ST), corado com Vermelho de Rutênio. **D.** *Rudgea reticulata*, flange cuticular no pecíolo distal (ST), corado com Sudan IV. **E.** *Rudgea reticulata*, bainha amilífera (ST), corado com Lugol. **F.** *Coussarea nodosa*, braquiesclereídes agrupados no pecíolo proximal (ST), corado com Safrablau. Barras: A, 30 µm; B, 10 µm; C, 10 µm; D, 25 µm; E, 100 µm; F, 25 µm.

Figura 22 – Identificação de metabólitos por testes histoquímicos e microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura.



Legenda: **A.** *Amaioua intermedia*, idioblasto com areia cristalífera, no pecíolo mediano, sob luz polarizada (ST). **B.** *Rudgea minor*, idioblasto cristalífero contendo ráfide, no pecíolo proximal, sob luz polarizada (ST). **C.** *Faramea multiflora*, cristais prismáticos, na face adaxial, da região intercostal, sob luz polarizada (ST). **D.** *Rudgea reticulata*, tricoma tector curto no pecíolo proximal (ST), corado com Lugol. **E.** *Rudgea reticulata*, idioblasto cristalífero contendo ráfide, na nervura principal (MEV). **F.** *Faramea truncata*, cristais prismáticos na face adaxial, na região intercostal (MEV). **G.** *Rudgea reticulata*, tricoma tector curto ornamentado, no pecíolo distal (MEV). **H.** *C. nodosa*, tricoma tector curto não ornamentado, no pecíolo mediano (MEV). **I.** *Faramea multiflora*, papila das células epidérmicas na face abaxial, na região intercostal (MEV). Barras: A, 25 µm; B, 30 µm; C, 10 µm; D, 25 µm; E, 10 µm; F, 2 µm; G, 10 µm; H, 10 µm; I, 10 µm.

4.3. Análise de Agrupamento

4.3.1. Análise de Agrupamento UPGMA das seis espécies descritas

A análise de agrupamento demosntrou que os caracteres anatômicos e micromorfológicos das folhas permitem a delimição de subfamília (Grupo A), tribo (Grupo B) e gêneros (Grupo C e D) (Fig. 23).

O grupo A representa a subfamília Rubioideae, constituída por espécies dos gêneros *Coussarea*, *Faramea* e *Rudgea*. Os caracteres anatômicos que individualizaram essa subfamília foram a presença de feixe vascular com bainha esclerificada, na região intercostal; e o prolongamento do parênquima paliçádico até a extremidade do bordo.

O grupo B integra as espécies do gênero *Rudgea* que foi delimitado pela organização do sistema vascular em arco aberto contínuo em toda a extensão do pecíolo e na nervura principal; na região intercostal são as células epidérmicas quadradas na face adaxial, com superfície lisa em ambas as faces e parede anticlinal reta na face adaxial; e no bordo, a presença de feixe de fibra na extremidade.

O grupo C, integrado por *Coussarea nodosa*, *Faramea multiflora* e *F. truncata*, constitui a tribo Coussareeae por apresentar nervura principal com contorno biconvexo e cristais prismáticos nas células epidérmicas da face adaxial, na região intercostal.

As espécies do gênero *Faramea* foram segregadas e formaram o grupo D, a partir dos seguintes caracteres: sistema vascular, no pecíolo, organizado em arco aberto contínuo com extremidade invaginada, na região mediana; nervura principal, com contorno em “V”, na face abaxial; e bordo com extremidade levemente afilada.

Amaiuoa intermedia, espécie que pertence à tribo Gardenieae e subfamília Ixodoideae, ficou como grupo externo das demais, nesse estudo.

As espécies foram segregadas de acordo com os seguintes caracteres anatômicos:

Amaioua intermedia: no pecíolo, tricoma tector longo ornamentado, fibra perivascular com uma camada e areia cristalífera; na região intercostal, parede anticlinal sinuosa em ambas

as faces, tricoma unicelular com base abaixo do nível das demais células epidérmicas, feixe vascular com bainha parenquimática e idioblasto com drusa; e bordo reto;

Coussarea nodosa: no pecíolo, domácia do tipo cripta com tricoma tector, tricoma tector curto não ornamentado, sistema vascular em arco aberto fletido descontínuo na região proximal, sistema vascular em arco aberto descontínuo com extremidade invaginada na região mediana; na nervura principal, feixe em arco com extremidade invaginada; e bordo com extremidade afilada;

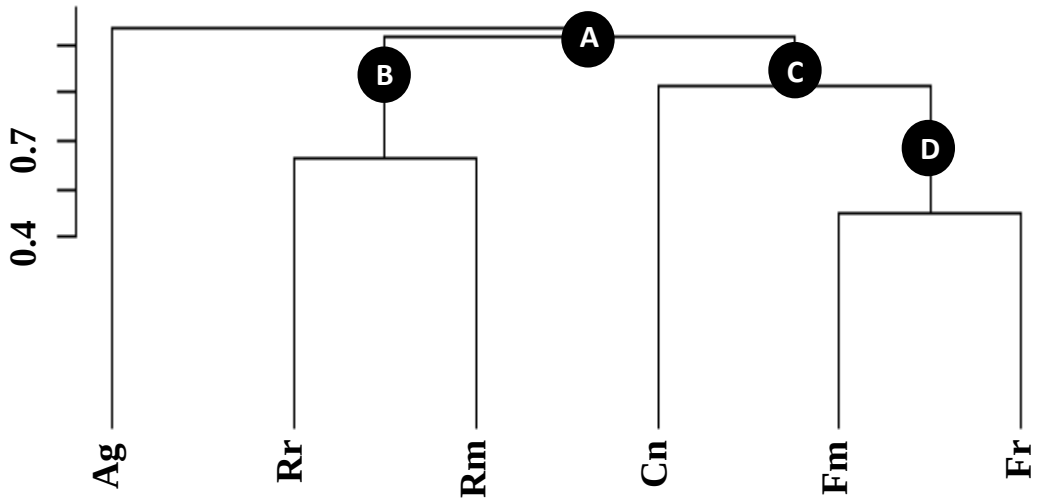
Faramea multiflora: no pecíolo, contorno plano-convexo na região proximal e fístula conspícua; e na nervura principal, fístula conspícua;

Faramea truncata: no pecíolo, projeções acuminadas conspícuas na região mediana;

Rudgea minor: no pecíolo, tricoma tector longo não ornamentado, ornamentação cuticular estriada na face adaxial e contorno biconvexo na região proximal; na região intercostal, parede anticlinal reta na face abaxial, tricoma com base volumosa, células epidérmicas lenticulada na face abaxial e parênquima paliçádico irregular; e bordo fletido;

Rudgea reticulata: no pecíolo, floema descontínuo na região proximal; na nervura principal, contorno côncavo-convexo; na região intercostal, estômato com ornamentação do tipo estria.

Figura 23 – Análise de agrupamento UPGMA das seis espécies estudadas.



Legenda: Fenograma gerado a partir dos 82 caracteres anatômicos e micromorfológicos das espécies: Ag, *Amaioua intermedia*; Cn, *Coussarea nodosa*; Fm, *Faramea multiflora*; Fr, *Faramea truncata*; Rr, *Rudgea reticulata*. Grupo A, subfamília Rubioideae; Grupo B, gênero *Rudgea*; Grupo C, tribo Coussareeae; Grupo D, gênero *Faramea*.

4.3.2.Análise de agrupamento UPGMA das 14 espécies selecionadas

A segunda análise de agrupamento possibilitou a delimitação dos grupos em diferentes níveis hierárquicos: subfamília Rubioideae (grupo A), do gênero *Rudgea* (grupo B), da tribo Coussareeae (grupo C), do gênero *Faramea* (grupo D) e do gênero *Coussarea* (grupo E) a partir dos caracteres anatômicos analisados (Anexo II) (Fig. 24).

O sistema vascular e os apêndices epidérmicos fornecem informações importantes que favorecem a segregação dos diversos grupos. O grupo A representa a subfamília Rubioideae, que abrangeu nessa análise quatro espécies de *Coussarea*, três de *Faramea* e seis de *Rudgea*. E *Amaioua intermedia* (subfamília Ixoroideae) foi segregada das demais espécies por apresentar tricoma tector longo ornamentado e tricoma com a base situada abaixo do nível das demais células epidérmicas.

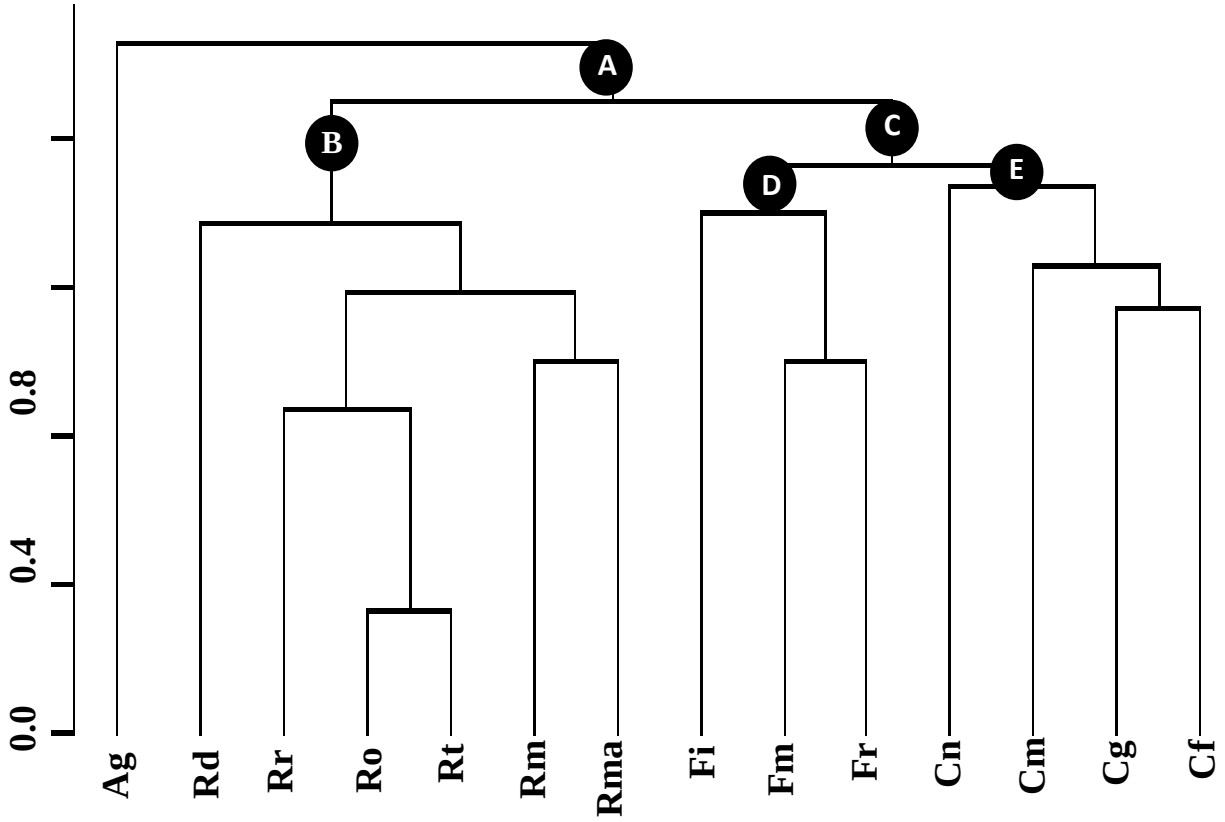
O grupo B é formado pelas espécies do gênero *Rudgea*, que pertence à tribo Psychotrieae. Esse grupo foi individualizado por possuir um sistema vascular em arco aberto contínuo, na região mediana do pecíolo.

As espécies do gênero *Rudgea* possuem como caracteres principais para a sua segregação, são eles: *R. decipiens*, parede anticlinal sinuosa na face adaxial e idioblasto com drusa; *R. macrophylla*, tricoma tector curto não ornamentado e cristais prismáticos no parênquima paliçádico; *R. minor*, tricoma tector longo não ornamentado e tricoma com base volumosa. As espécies *R. ovalis*, *R. reticulata* e *R. tinguana* apresentam uma combinação de caracteres presentes e ausentes que permitiu suas segregações.

A tribo Coussareeae (Grupo C) se divide em dois grupos, o grupo D, formado pelo gênero *Faramea*, e o grupo E, pelas espécies de *Coussarea*. No grupo D, as espécies do gênero *Faramea* se diferenciam, principalmente, por: em *F. intercedens* estar ausência de cristais prismáticos nas células epidérmicas da face adaxial e idioblasto com ráfide; *F. multiflora* possuir fístula conspícua no pecíolo distal e na nervura principal; e *F. truncata* apresentar parede anticlinal reta na face adaxial.

O gênero *Coussarea* foi individualizado do gênero *Faramea* por possuir feixe em arco com extremidade invaginada na nervura principal. As espécies desse gênero foram segregadas com base nos seguintes caracteres anatômicos: *C. friburgensis*, parede anticlinal reta na face adaxial; *C. graciliflora*, parede anticlinal sinuosa na face abaxial, cristais prismáticos no parênquima paliçádico; *C. meridionalis*, feixe vascular em arco aberto na nervura principal; *C. nodosa*, tricoma tector curto não ornamentado, sistema vascular em arco aberto descontínuo com extremidade invaginada na região mediana; e cristais prismáticos nas células epidérmicas na face adaxial.

Figura 24 – Análise de agrupamento UPGMA das 14 espécies estudadas.



Legenda: Fenograma gerado a partir dos 25 caracteres anatômicos e micromorfológicos das espécies: Ag, *Amaioua intermedia*; Cf, *Coussarea friburgensis*; Cg, *Coussarea graciliflora*; Cm, *C. meridionalis*; Cn, *Coussarea nodosa*; Fi, *Faramea intercedens;* Fm, *Faramea multiflora*; Fr, *Faramea truncata*; Rd, *R. decipiens*; Rma, *R. macrophylla*; Rm, *R. minor*; Ro, *R. ovalis*; Rr, *Rudgea reticulata;* Rt, *R. tinguana*. Grupo A, subfamília Rubioideae; Grupo B, gênero *Rudgea*; Grupo C, tribo Coussareeae; grupo D, gênero *Faramea*; Grupo E, gênero *Coussarea*.

5. DISCUSSÃO

Os padrões morfológicos e anatômicos observados nas folhas das espécies estudadas estavam de acordo com os descritos para a família Rubiaceae: folha simples, oposta, hipoestomática, estômatos paracíticos e paralelocíticos, e mesofilo dorsiventral (METCALFE; CHALK, 1950; ROBBRECHT, 1988).

O pecíolo das espécies estudadas apresentou variações no contorno e no sistema vascular. Essas variações vêm sendo descritas e apresentaram alto valor taxonômico (METCALFE; CHALK, 1950; DICKISON, 1975). No presente trabalho, o contorno do pecíolo foi um importante caracter para a segregação das espécies devido a sua diversidade, como contorno côncavo-convexo na região proximal observado em *A. intermedia*, *C. nodosa*, *F. truncata*, *R. reticulata*, contrapondo ao cotorno biconvexo de *R. minor* e plano-convexo de *F. multiflora*, e os mesmos variaram na região mediana e distal, fornecendo mais caracteres diagnósticos.

O padrão de vascularização do pecíolo foi utilizado por Martínez-Cabrera et al. (2009) na segregação de espécies. Os autores concluíram que a vascularização do pecíolo, frente aos demais caracteres forneceu informações importantes para a segregação dos táxons. Todas as espécies descritas neste trabalho mantiveram o padrão observado para a família, a presença um feixe central e de dois feixes acessórios (METCALFE; CHALK, 1950). Mas o arranjo do feixe central variou entre as espécies e contribuiu significativamente na segregação das mesmas e delimitação dos grupos. O sistema vascular em arco aberto contínuo, na região mediana do pecíolo, delimitou o gênero *Rudgea* tanto na análise entre as seis espécies selecionadas como em conjunto com as oito espécies descritas na literatura.

Braquiesclereídes foram observados isolados ou em grupos, no pecíolo, em *Coussarea nodosa*, *Faramea truncata* e *Rudgea reticulata*. Tavares e Vieira (1994), ao comparar as espécies *Coussarea meridionalis* e *C. graciliflora*, observaram que a proporção de esclereídes no pecíolo estava diretamente relacionada às dimensões foliares, mas sem desconsiderar seu valor taxonômico.

Na lâmina foliar, a sinuosidade da parede anticlinal das células epidérmicas foi descrita inicialmente como uma plasticidade das folhas em resposta a luminosidade: sinuosa em ambiente sombreado e reta em ambiente ensolarado (HUGHES, 1959; WILKINSON, 1979). Porém, trabalhos posteriores, como o realizado por Barthlott (1981) em que foi estudada a micromorfologia foliar de 5.000 espécies de diversas famílias de espermatófitas e de Fontenelle et al. (1994) que estudaram a anatomia e micromorfologia foliar de 11 espécies do gênero *Eugenia* Linnaeus (Myrtaceae), ambos concluíram que a sinuosidade pode não estar relacionada à luminosidade, mas ao controle gênico, tornando esse caracter de alto valor taxonômico, sendo capaz de delimitar, desde família até espécie.

Segundo Barthlott (1981) a análise micromorfológica deve levar em consideração diversos caracteres, entre eles a ondulação da parede anticlinal, a presença de papilas, as ornamentações cuticulares e a secreção de cera epicuticular. Nas espécies *A. intermedia*, *F. multiflora* e *F. truncata* foram observadas papilas na face abaxial, e em *R. minor* foram encontradas células lenticulares. Barthlott (1981) sinalizou que existem muitos termos para descrever a diversidade de células com parede periclinal externa convexa, entre elas "papilas". Porém, neste estudo o termo "papila" foi empregado para células com espessamento e projeção apenas da parede periclinal externa, e "células lenticulares" quando apresentam parede periclinal externa convexa e protoplasma acompanhando essa projeção.

Segundo Vieira e Gomes (1995) as células convexas funcionavam como lente, tendo a função principal de convergir feixes luminosos para as células do mesofilo. Essa estrutura celular contribui para uma maior eficiência fotossintética, bem como pode estar relacionada à proteção de perda de água (WILKINSON, 1979). As espécies estudadas foram encontradas no interior da mata, onde a intensidade luminosa é baixa e umidade alta, logo, as células convexas teriam uma relação mais direta a eficiência fotossintética. Dickinson (2000) sugeriu que as células papilosas também podem funcionar como uma barreira mecânica aos fungos, impedindo a penetração de suas hifas, devido a sua parede espessada.

Sob o ponto de vista do valor sistemático, Wilkinson (1979) sinalizou que a presença e a frequência de papilas não seriam caracteres diagnósticos confiáveis, visto que podem variar com o clima e a distribuição geográfica. Mas as espécies estudadas estavam no mesmo ambiente florestal o que justificou a utilização dos mesmos como já observado em diversos

trabalhos na família Rubiaceae (ARRUDA; GOMES, 2010; ALEXANDRINO, 2011; MATTOS, 2011; MORAES, 2011).

Os estômatos observados nas seis espécies selecionadas eram do tipo paracítico e paralelocítico, sendo o segundo tipo mais comum, como referido para a família (LEO et al., 1997, TAVARES; VIEIRA, 1994; MANTOVANI et al., 1995). As folhas eram hipoestomáticas, como encontrado na maioria das espécies da família Rubiaceae (ACCORSI, 1947; METCALFE; CHALK, 1957). As células estomáticas estavam situadas ao mesmo nível das demais células epidérmicas como sinalizados nos estudos da família em florestas tropicais. Folhas hipoestomáticas e estômatos ao nível das demais células epidérmicas foram descritas para espécies adaptadas a ambiente mesofítico, como o encontrado no interior da Mata Atlântica (BARROS et al., 1997).

As espécies estudadas foram divididas em dois grupos em relação à superfície foliar: *A. intermedia*, *C. nodosa* e *F. multiflora* com, superfície em crosta; e *F. truncata*, *R. minor* e *R. reticulata*, com superfície lisa. Dunn et al. (1965) ao estudar 226 espécies identificaram que espécies xerófitas tende a ter ornamentação cuticular e espécies mesófitas ou hidrófitas a ter cutícula lisa. Segundo Hallam (1970), o depósito de cera epicuticular estava diretamente influenciado pela luz, mas não altera sua composição, tendo alto valor taxonômico devido a sua diversidade estrutural. Estudos posteriores, como o de Wilkinson (1979) afirmaram que a ornamentação cuticular é influenciada também pela temperatura, solo, umidade e altitude, afetando a espessura e a composição da cutícula. As espécies *F. truncata*, *R. minor* e *R. reticulata* corroboraram com esta hipótese por todas serem mesófitas e apresentavam superfície lisa, mas as espécies do gênero *Rudgea* que eram mesófitas e possuiam ornamentação curticular. *Rudgea minor* apresentou ornamentação estriada na face adaxial. E *R. reticulata* apresentou ornamentação próxima aos estômatos, como também observado em *Psychotria nuda*, no trabalho de Vieira e Gomes (1995), o que permitiu afirmar que não se trata de uma característica exclusiva dessa espécie.

Barthlott (1981) afirmou que a cutícula espessa e cera epicuticular fazem com que a superfície se torne altamente hidrofóbica, reduzindo o acúmulo de água, consequentemente, diminuindo o depósito de partículas contaminantes e a proliferação de microrganismos. Além de funcionar como um espelho, aumentando a reflectibilidade e diminuindo a temperatura das folhas, por este motivo plantas xerófitas tendem a ter mais estruturas superfíciais do que

espécies mesófitas. No entanto, as seis espécies estudadas se encontravam no mesmo ambiente de interior de floresta, sugerindo que o depósito de cera epicuticular tem mais influência gênica do que ambiental. como também observado no estudo da superfície foliar de quatro espécies do gênero *Psychotria*, situadas no interior de uma remanescente de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro (VIEIRA; GOMES, 1995).

Elevada quantidade de microrganismos foi observada na superfície foliar de todas as espécies estudadas. Dickinson (2000) relacionou a diversidade e quantidade de microbiota epífita na superfície das folhas com as condições ambientais favoráveis encontradas no interior da floresta tropical úmida, destacando-se a disponibilidade de nutrientes, a luminosidade, a temperatura e a umidade. Isto justificou a ocorrência de tal comunidade ser recorrente nas espécies coletadas no interior da Mata Atlântica.

Os tricomas foram bastante estudados na sistemática, ecologia e evolução de grupos (METCALFE; CHALK 1950). Em Rubiaceae, os tricomas têm sido utilizados como um dos caracteres importantes na segregação de espécies, como por exemplo, em *Rudgea decipiens* e *R. macrophylla* (MANTOVANI et al., 1995), bem como em espécies do gênero *Simira* (MORAES et al., 2009). Foram observados dois tipos de tricoma tector - longo e curto - os mesmos podem estar ornamentados ou não, este foi um dos caracteres importantes para segregar as espécies estudadas, na qual *Amaioua intermedia* foi a única espécie a apresentar tricomas tectores longos e curtos, e ambos ornamentados, e *R. minor* apresentou tricoma tector longo não ornamentado com base volumosa.

Diversas funções foram atribuídas aos tricomas, como regulação da transpiração, da temperatura, reflexão da luz, barreira física e química contra herbivoria e secreção de substâncias (DICKISON, 2000). Nas espécies estudadas os tricomas não foram relacionados à secreção de substâncias. Em *A. intermedia* esses apêndices estavam organizados sobre a nervura principal e as secundárias na face abaxial, e recobrindo todo o pecíolo, gerando uma barreira física que protegeria o sistema vascular, por exemplo, contra herbivoria.

As domácias foram definidas como estruturas que abrigam pequenos artrópodes, localizada na face abaxial das folhas, na interseção da nervura principal com as nervuras secundárias (WILKINSON, 1979). Esta estrutura tem alto valor taxonômico, como sugerido por Barros (1959) que estudou 622 espécies de Rubiaceae, das quais 86 apresentaram

domácias de tipos diferentes. Das espécies estudadas, três apresentaram domácias, *A. intermedia* e *R. reticulata* o tipo tufo de pelos e *C. nodosa* o tipo cripta com tricomas tectores. Essa estrutura tem sido relacionada com a proteção contra herbivoria e agentes patogênicos como fungos, pois os artrópodes que habitam as domácias tendem a se alimentar desses organismos (MORAES et al., 2009). Mas sua função ainda não está completamente entendida, como sugeriu Tilney et al. (2012) sobre uma suposta relação simbiótica entre as folhas e habitantes da domácia, pois foi identificado estruturas relacionadas a secreção de substâncias no interior da domácia de *Plectroniella armata* K. Schum. Robyns.

O bordo foi uma região foliar importante para a delimitação dos táxons e segregação das espécies descritas no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi. *Amaioua intermedia* apresentou bordo reto, caracter importante para distingui-la das demais. O gênero *Faramea* foi delimitado por possuir feixes vasculares terminais. *Coussarea nodosa* foi a única espécie com extremidade afilada e *R. minor* com curvatura fletida. Os caracteres diagnósticos encontrados no bordo possuem valor taxonômico reconhecido, utilizados anteriormente na segregação de espécies do gênero *Coussarea* (TAVARES; VIEIRA, 1994) e *Rudgea* (MANTOVANI et al., 1995; LEO et al., 1997).

Cristais de oxalato de cálcio foram observados tanto no pecíolo como na lâmina foliar nesse estudo. Essas inclusões minerais têm sido consideradas um caracter importante para identificação de espécies pertencentes à subfamília Rubioideae (BREMER; ERIKSSON, 2009). Idioblastos de ráfides foram observados em *Faramea multiflora*, *F. truncata*, *Rudgea minor* e *R. reticulata*, todas pertencentes à subfamília Rubioideae, com exceção de *C. nodosa*. Essa última difere por apresentar, juntamente com *F. multiflora* e F. *truncata*, na região intercostal da lâmina foliar, cristais prismáticos nas células epidérmicas. *Amaioua intermedia* apresentou areia cristalífera ao longo do pecíolo e drusas no mesofilo, porém drusas não foram descritas para a subfamília Ixorideae, a qual a espécie pertence, apenas para Rubioideae. O depósito de oxalato de cálcio foi citado como um processo necessário para neutralizar o excesso de oxalato do metabolismo e de armazenar cálcio com a finalidade de regular processos metabólitos, como equilíbrio iônico, proteção contra herbivoria e excesso de cálcio do solo (FRANCESCHI; HORNER, 1980).

Alguns caracteres que apresentaram diferenças entre as espécies foram desconsiderados na análise devido a sua plasticidade já citada na literatura, a saber: presença de hipoderme,

parênquima paliçádico com mais de um estrato, parênquima lacunoso com diferença na densidade celular. A plasticidade do número de estratos celulares do parênquima paliçádico foi observada na espécie *A. intermedia*, variando entre amostras de folhas coletadas em períodos diferentes. O mesmo foi observado em *F. intercendens*, que apresentou variação nas camadas também do parênquima paliçádico e a presença ou ausência de hipoderme entre indivíduos da mesma espécie recorrente em áreas distintas, como resposta a intensidade luminosa (MORENO, 2010). Outros trabalhos como o de Vieira e Gomes (1992) já sinalizaram que o número de camadas do parênquima paliçádico é diretamente proporcional à intensidade luminosa. O mesmo ocorre com a espessura e densidade do parênquima lacunoso (LARCHER, 2000).

As análises de agrupamento permitiram a separação do grupo A (subfamília Rubioideae) da espécie *A. intermedia* que pertence à tribo Gardenieae, subfamília Ixoroideae, como grupo externo. A espécie em questão apresentou dois tipos de impregnação mineral: drusas na região intercostal e areia cristalífera no pecíolo.

Ao comparar os dois fenogramas foi possível identificar os caracteres principais que delimitaram a subfamília Rubioideae (grupo A): ausência de tricoma tector longo ornamentado e de tricoma tector curto com base abaixo do nível das demais células epidérmicas. O grupo B (reúne as espécies do gênero *Rudgea*) segregou do grupo C (tribo Coussareeae) por apresentar sistema vascular em arco aberto contínuo na região mediana.

Baseado na filogenia proposta por Bremer e Eriksson (2009), os gêneros *Faramea* (grupo D) e *Coussarea* (grupo E) formam um clado. Gomes (2003) também observou a similaridade observada entre as espécies desses gêneros. O presente trabalho reinterou e permitiu delimitar os gêneros por meio da presença de feixe em arco com extremidade invaginada, na nervura principal, nos representantes do gênero *Coussarea*.

CONCLUSÃO

Neste estudo são apresentados os primeriros relatos apresentados neste estudo sobre a anatomia, micromorfologia e histoquímica foliar de seis espécies de Rubiaceae, ocorrentes no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi, que contribuíram para ampliar o conhecimento e reiterar alguns aspectos da sistemática do grupo.

O estudo comparativo das folhas permitiu delimitar grupos infrafamiliraes (subfamílias, tribos), gêneros e segregação dessas espécies. Os caracteres considerados importantes e utilizados para esse fim abrangem o sistema vascular e de revestimento, bem como as inclusões minerais.

REFERÊNCIAS

ACCORSI, W. R. III - A ocorrência das células anexas dos estômatos na família Rubiaceae. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, v. 4, p. 411-436. 1947.

ACCORSI, W.R. Características morfológicas, anatômicas e citológicas da epiderme inferior da folha das Rubiaceae. *Lilloa*, v. 16, p. 5-59. 1948.

ALEXANDRINO, C. R.; MORAES, T. M. S.; DA CUNHA, M. Micromorfologia e Anatomia Foliar de Espécies de Rubiaceae do Parque Nacional de Itatiaia-RJ. *Floresta e Ambiente*, v. 18, n. 3, p. 275-288. 2011.

ALVES, R. M. S. et al. Caracterização botânica e química de Rudgea viburnoides (Cham.) Benth.,(Rubiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 14, n. 1, p. 49-56. 2004.

AMORIM, T. A. *Árvores e lianas em um fragmento florestal Sul-Fluminense: Relação entre variáveis ambientais e estrutura dos dois componentes lenhosos*. 2012. 100f. Dissertação (Mestre em Ciências Ambientais e Florestais), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2012.

ANDRADE, E. R. et al. Effects of habitat loss on taxonomic and phylogenetic diversity of understory Rubiaceae in Atlantic forest landscapes. *Forest Ecology and Management*, v. 349, p. 73-84. 2015.

ARRUDA, R.; GOMES, D. Leaf anatomy and micromorphology of six *Posoqueria* Aublet species (Rubiaceae). *Rodriguésia*, n. 61, p. 505-518. 2010.

BARROS, M. A. A. Ocorrência das Domácias na Família Rubiaceae. *Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, v. 16, p. 331-337. 1959.

BARROS, C. F.; CALLADO, C. H.; DA CUNHA, M.; COSTA, C. G.; H., PUGIALLI, H. R. P.; MARQUETE, O.; MACHADO, R. D. Anatomia ecológica e micromorfologia foliar de espécies de floresta montana na reserva ecológica de Macaé de Cima. P. 275-296. In: Lima, H.C. & Guedes-Bruni, R.R (eds.). *Serra de Macaé de Cima: Diversidade Florística e Conservação em Mata Atlântica*. Rio de Janeiro, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1997.

BARTHLOTT, W. Epidermal and seed surface characters of plant: Systematic applicability and some evolutionary aspects. *Nordian Journal of Botany*, v. 1, p. 5-74. 1981.

BERGEN, M. The World's 10 Most Threatened Forest Hotspots. 2011. Disponível em: <http://blog.conservation.org/2011/02/10-most-threatened-forest-hotspots/>. Acessado em: 02 de abril de 2017.

BOEGER, M. R. T.; WISNIEWSKI, C. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 26, n. 1, p. 61-72. 2003.

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

BREMER, B.; JANSEN, R. K. Comparative restriction site mapping of the chloroplast DNA implies new phylogenetic relationships within the Rubiaceae. *American Journal of Botany*, v. 78, p. 19-213. 1991.

BREMER, B. Phylogenetic studies within Rubiaceae and relationship to other families based on molecular data. *Opera Botanica Belgica*, v. 7, p. 33-50. 1996.

BREMER, B.; ERIKSSON, O. Time tree of Rubiaceae: phylogeny and dating the family, subfamily, and tribes. *International Journal of Plant Science*, v. 170, p. 766-793. 2009.

BUNAWAN, H. et al. Foliar anatomy and micromorphology of *Polygonum minus* Huds. and their taxonomic implications. *Vascular*, v. 5, n. 10, p. 5-10. 2011.

CASTRO, C. C.; OLIVEIRA, P. E. Pollination biology of distylous Rubiaceae in the Atlantic rain forest, SE Brazil. *Plant Biology*, v. 4, p. 640-646. 2002.

CHAMBERLAIN, C. J. *Methods in plant histology*. Chicago. The University of Chicago Press, 1932. 416 p.

CHIQUIERI, A. et al. A distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss. na Flora Brasiliensis de Martius. *Rodriguésia*, v. 55, p. 47-57, 2004.

CNCFLORA. Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/listavermelha/RUBIACEAE>. Acessado em: 27 de Maio de 2017.

CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia. University Press, 1981. 1262 p.

CYSNEIROS, V. C. et al. Diversity, community structure and conservation status of an Atlantic Forest fragment in Rio de Janeiro State, Brazil**.** *Biota Neotropica*. [online], v. 15, n. 2, p. 1-15. 2015.

DA CUNHA, M. et al. The laticifer system of *Chamaesyce thymifolia*: a closed host environment for plant trypanosomatids. *Biocell*, v. 24, p. 123-132. 2000.

DA CUNHA M.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar *Psychotria vellosiana* Benth. (Rubiaceae). *Rodriguésia*, v. 45, n. 49, p. 39-50. 1997.

DA SILVA, M. A. P. Aspectos etnobotânicos, fitoquímicos e farmacológicos de espécies de Rubiaceae no Brasil. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 18, n.1, p.140-156. 2013.

DAVIS, A. P. et al. A global assessment of distribution, diversity, endemism, and taxonomic effort in the Rubiaceae. *Annals of the Missoury Botanical Garden*, v. 96, n. 1, p. 68-78. 2009.

DE CANDOLLE, A. P. *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, Paris: Treuttel et Würtz, v. 4, p. 571-574, 1930.

DE OLIVEIRA, B. R. et al. Florística e fitossociologia de uma Floresta Ombrófila Densa, Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil. *Natureza* (on line), v. 11, n. 4, p.187-192. 2013.

DE OLIVEIRA, P. L. et al. *Amaiouine*, a Cyclopeptide Alkaloid from the Leaves of *Amaioua guianensis*. *Journal of Natural Products*, v. 72, n. 6, p. 1195-1197. 2009.

DE OLIVEIRA, P. L. *Contribuição ao estudo de espécies da família Rubiaceae: gênero Amaioua*. 2014. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

DELPRETE, P. G.; BOOM, B. M. *Coussarea granvillei* (Rubiaceae, Coussareeae), a new species from French Guiana. *Brittonia*, v. 51, n. 4, p. 403-406. 1999.

DELPRETE, P. G. Two new species of *Coussarea* and a new combination in *Faramea* (Rubiaceae, Coussareeae) from the Guianas. *Blumea-Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, v. 51, n. 2, p. 355-364. 2006.

DELPRETE, P. G.; JARDIM, J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. *Rodriguésia* (online), v. 63, n.1, p. 101-128. 2012.

DIAS, R. K. S.; ALCANTARA, A. C. M. M.; PESSOA DA SILVA, Maria Arlene. Aspectos etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos de especies de Rubiaceae en Brasil. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 18, n. 1, p. 140-156. 2013.

DICKISON, W. C. The bases of angiosperm phylogeny: vegetative anatomy. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 62, p. 590-620, 1975.

DICKISON, W. C. *Integrative plant anatomy*. Academic Press. 2000. 533p.

DUNN, D. B.; SHARMA, G. K.; CAMPEL, C. C. Stoflorestal patterns of dicotyledons and monocotiledons. *American Midland Naturalist*, n. 74, p. 185-195. 1965.

FAHN, A. et al. *Plant anatomy*. Pergamon Press. 1982. 302p.

FRAGA, M. E. et al. Interação microrganismo, solo e flora como condutores de biodiversidade na Mata Atlântica. *Acta Botanica Brasílica*, v. 26, p. 857-865. 2012.

FRAGA, M. E.; PEREIRA, M. G. Diversidade de Trichocomaceae isolada de solo e serrapilheira de Floresta Atlântica. *Floresta e Ambiente*, v. 19, n. 4, p. 405-413. 2012.

FRANCESCHI, V. R.; HORNER, H. T. Calcium oxalate crystals in plants. The Botanical Review, v. 46, n. 4, p. 361-427. 1980.

FRANKLIN, G. L. Preparation of thin sections of synthetic resin and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature*, Reino Unido, v. 155, n. 3924, p. 51. 1945.

FONTENELLE, J. B.; COSTA, C. G.; MACHADO, R. D. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Botanical Journal of Linnean Society*, n. 115, p.111-133. 1994.

GABE, M. *Techniques histologiques*. Paris. Masson & Cie. 1968. 1113p.

GATTUSO, M. et al. Morphoanatomical studies of *Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis* bark and leaves. *Phytomedicine*, v. 11, n. 2-3, p. 213-223. 2004.

GOMES, D. M. S.; ARRUDA, C. O.; GOMES, M.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Bathysa gymnocarpa* K. Schum., *B. mendoncaei* K. Schum., *B. cuspidata* (St. Hil.) Hook. f. e. *B. australis* (St. Hil.) Hook. f. (Rubiaceae) da Mata Atlantica, RJ, Brasil. *Leandra*, v. 15, p. 59-72. 2000.

GOMES, D. M. S.; MANTOVANI, A.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Psychotria ternuinerves* Müll. Arg. e *Psychotria sternocalix* Müll. Arg. (Rubiaceae). *Arquivos de Biologia e tecnologia*, v. 38, p. 15-33. 1995.

GOMES, M. Reavaliação taxonômica de algumas espécies dos gêneros *Coussarea* Aubl. e *Faramea* Aubl. (Rubiaceae, tribo Coussareae). *Acta Botanica Brasilica*, v. 17, n. 3, p. 449-466, 2003.

GTZ - Grupo de Trabajo Biodiversidad. Áreas de Conservación Municipal, ACM. *Una oportunidad para la conservación de la biodiversidad y el desarrollo local. Reflexiones y experiencias desde América Latina*. Brasília. GTZ. 2010. 106p.

HALLAM, N. D. Growth and regeneration of waxes on the leaves of *Eucalyptus*. *Planta*, v. 93, n. 3, p. 257-268. 1970.

HAMERSKI, L. et al. Phenylpropanoid glucosides from leaves of *Coussarea hydrangeifolia* (Rubiaceae). *Phytochemistry*, v. 66, n. 16, p. 1927-1932. 2005.

HUGHES, A. P. Effects of the environment on leaf development in *Impatiens parviflora* DC. *Journal of the Linnean Society of London, Botany*, v. 56, n. 366, p. 161-165. 1959.

IBGE. Mapa da área da aplicação da Lei 11.428/2006, 2008. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.dialogoflorestal.org.br/biomas/mata-atlantica/mapa-da-mata-atlantica/>. Acessado em: 07 de Setembro de 2016.

JARDIM, J. G.; ZAPPI, D. C. Two New Species of *Faramea* (Rubiaceae, Coussareeae) from Eastern Brazil. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, v. 18, n. 1, p. 67-71. 2008.

JENSEN, W. A. *Botanical histochemistry: principles and practice*. San Francisco. W.H. Freeman and Company, 1962. 408p.

JOHANSEN, D. A. *Plant Microtechnique.* New York. McGraw-Hill Book Company Inc., 1940. 523 p.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S. *Sistemática Vegetal – um enfoque filogenético*. 3ª ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2009. 632p.

KOCSIS, M.; DARK, J.; BORHIDI, A. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (Rubiaceae) species. *Plant Systematic and Evolution*, n. 248, p. 205-218, 2004.

LARCHER, W. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos. RIMA. 2000. 531p.

LEMOS, R. M. A. et al. Dinâmica de enchentes na bacia hidrográfica do rio dos macacos, RJ, Brasil. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 9., São Lourenço. *Anais do Congresso de Ecologia do Brasil São Lourenço:* SEB, p. 1-3. 2009.

LEO, R. R. T.; MANTOVANI, A.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Rudgea ovalis* Mull. Arg. e *R. tinguana* Mull. Arg. (Rubiaceae). *Leandra*, v. 12, p. 33-44. 1997.

LIMA, M. P. M.; GUEDES-BRUNI, R. R. Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Nova Friburgo, RJ - Aspectos florísticos das espécies vasculares. v. 2, p. 345-426. *Jardim Botânico*, Rio de Janeiro, 1996.

LOYOLA, R. D. et al. *Áreas prioritárias para conservação e uso sustentável da flora brasileira ameaçada de extinção*. 1 ª. ed. Rio de Janeiro: Andrea Jackobson Studio, v. 1, p. 48-53. 2014.

MANTOVANI, A. et al. Anatomia foliar de *Rudgea decipiens* Müll. Arg. and *R. macrophylla* Benth. (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasilica*, v. 9, p. 247-261. 1995.

MANTOVANI, A.; VIEIRA, R. C. Leaf surface of two understorey shrubs: *Rudgea decipiens* Müll. Arg. and *Rudgea macrophylla* Benth. (Rubiaceae). *Rodriguesia*, v. 45/49, n. 71/75, p. 7-13. 1997.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. (Eds). *Livro Vermelho da Flora Brasileira.* Rio de Janeiro: Andrea Jakobson Estúdio, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. 1100p.

MARTÍNEZ-CABRERA, D.; TERRAZAS, T.; OCHOTERENA, H. Foliar and Petiole Anatomy of Tribe Hamelieae and Other Rubiaceae 1. *Annals Missouri Botanic Garden*, n. 96, p. 133-145. 2009.

MATTOS, K. L. B. L. A*natomia foliar aplicada à taxonomia em Rubiaceae JUSS*. 2011. 90f. Tese (Doutorado em Botânica), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. *Anatomy of the dicotyledons*. 2º ed. Oxford: Claredon Press. 1950. 1500 p.

MMA - Ministério do Meio Ambiente, Áreas Prioritárias para Conservação, Uso Sustentável e Repartição de Benefícios da Biodiversidade Brasileira: Atualização. Portaria MMA n° 9, de 23 de janeiro de 2007. *MMA*, Brasília.

MMA - Ministério do Meio Ambiente, Lista Nacional das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção. Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. *MMA*, Brasília.

MMA - Ministério do Meio Ambiente. Mata Atlântica. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas/mata-atlantica>. Acessado em: 05 de Fevereiro de 2017.

MORAES, T. M. S. et al. Leaf blade anatomy and ultrastructure of six *Simira* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rain Forest, Brazil. *Biocell***,** v. 33, n. 3, p. 155- 165. 2009.

MORAES, T. M. S. et al. Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. *Acta Botanica Brasílica*, v. 25, p. 178-190. 2011.

MORENO, M. I. T. P. *Anatomia foliar de Faramea intercedens Müll. Arg. (Rubiaceae) em Floresta sob regime de corte seletivo*. 2010. 62f. Dissertação (Mestre em Biociências e Biotecnologia), Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2010.

MOULY, A. et al. Phylogenetic structure and clade circumscriptions in the Gardenieae complex (Rubiaceae). *Taxon*, v. 63, p. 801-818. 2014.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, v. 403, n. 6772, p. 853-858. 2000.

NASCIMENTO, M. V. O.; GOMES, D. M. S.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Bathysa stipulata* (Vell.) Presl.(Rubiaceae). *Revista Unimar*, v. 18, n. 2, p. 387-401. 1996.

NOGALES, M. et al. Effect of native and alien vertebrate frugivores on seed viability and germination patterns of *Rubia fruticosa* (Rubiaceae) in the eastern Canary Islands. *Functional Ecology*, v. 19, n. 3, p. 429-436. 2005.

O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. The study of plant structure: principles and selected methods. *Melbourne, Termarcarphi Pty. Ltd*, 1981. 357p.

OLIVEIRA, M. C., NEGRI G.; SALATINO, A.; BRAGA, M. R. Detection of anthraquinones and identification of 1,4-naphthohydroquinone in cell suspension cultures of *Rudgea jasminoides* (Cham.) Müll. Arg. (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, v. 30, n.1, p. 167-172. 2007.

PEREIRA, M. S.; BARBOSA, M. R. V. Uma nova espécie de *Coussarea* Aubl. (Rubiaceae) para a mata Atlântica no estado da Bahia, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 23, n. 2, p. 549-551. 2009.

PERSSON, C.; VARGAS, E. M. A striking new species of Amaioua (Gardenieae-Rubiaceae) from the Colombian Andes. *Phytotaxa*, v. 213, n. 1, p. 65-68. 2015.

PMP - PREFEITURA MUNICIPAL DE PARACAMBI. Nossa História. 2016. Disponível em: <http://www.paracambi.rj.gov.br/historia.html>. Acessado em: 07 de Setembro de 2016.

R CORE TEAM (2015). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acessado em: 20 de Outubro de 2016.

REFLORA - Flora do Brasil 2020 em construção. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/> Acessado em: 27 de Maio de 2017.

RIBEIRO, M. C. et al. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*, v. 142, p. 1141-1153. 2009.

RIO, M. C. S., KINOSHITA, L. S.; CASTRO, M. M. Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G. Mey. (Apocynaceae) dos cerrados paulistas. *Brazilian Journal of Botany*, v. 28, n. 4, p. 713-726. 2005.

RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. *Botânica econômica brasileira*. São Paulo, SP, 1995. 241p.

ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae. *Opera Botanica Belgica*, v.1. p. 1-271. 1988.

ROBBRECHT, E.; MANEN, J.-F. The major evolutionary lineages of the coffee family (Rubiaceae, angiosperms). Combined analysis (nDNA and cpDNA) to infer the position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and supertree construction based on *rbcL*, *rps16*, *trnL-trnF* and *atpB-rbcL* data. A new classification in two subfamilies, Cinchonoideae and Rubioideae. *Systematics and Geography of Plants*, v. 76, n. 1, p. 85-146. 2006.

RODRÍGUEZ, A. A new species of *Faramea* (Rubiaceae) from Costa Rica. *Novon*, p. 536-538. 2002.

ROVA, J. H. E.; DELPRETE, P. G.; ANDERSSON, L.; ALBERT, V. A. A trnL-F cpDNA sequence study of the Condamineeae-Rondeletieae-Sipaneeae complex with implications on the phylogeny of the Rubiaceae. *American Journal of Botany*, v. 89, p.145-159. 2002.

SANT'ANNA-SANTOS, B. F. et al. Effects of simulated acid rain on leaf anatomy and micromorphology of *Genipa americana* L. (Rubiaceae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 49, n. 2, p. 313-321. 2006.

SASS, J. E. *Botanical microtechnique*. 2º ed. Ames. Iowa State College, 1951. 228p.

SEMADES - SECRETARIA MUNICIPAL DE MEIO AMBIENTE DE PARACAMBI E INSTITUTO TERRA DE PRESERVAÇÃO AMBIENTAL. Secretaria Municipal de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável. Plano de Manejo do Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi – RJ, 2010. 401p.

SOUZA, T. F. *Interpretação Ambiental da Trilha do Jequitibá-Rosa no Parque Natural Municipal do Curió de Paracambi*, RJ (PNMCP). Monografia de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2011, Seropédica.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das plantas nativas e exóticas do Brasil, baseado em APG III*. Nova Odessa. Instituto Plantarum, 2012. 768p.

STEHMANN J.R., et al. *Plantas da Floresta Atlântica*. Rio de Janeiro. Botanical Garden, 2009. 515p.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 13, Sep 2013 [and more or less continuously updated since]. Disponível em: <http: www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acessado em 02 de Junho de 2016.

TABARELLI, M.; MANTOVANI, W. A riqueza de espécies arbóreas na floresta atlântica de encosta no estado de São Paulo (Brasil). *Revista Brasileira de Botânica* [online], v. 22, n. 2, p. 217-223. 1999.

TAVARES, E. S.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Coussarea meridionalis* (Vell.) Muell. Arg. e *Coussarea graciliflora* Benth. et Hook (Rubiaceae). *Bradea*, v. 6, n. 39, p. 320-330. 1994.

TAFOLLA-ARELLANO, J. C. et al. Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. *Revista fitotecnia mexicana*, v. 36, n. 1, p. 3-12. 2013.

THE PLANT LIST. A working list of all plants species. 2013. *Versão 1.1*. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Rubiaceae/>. Acessado em 03 de Abril de 2017.

TILNEY, P. M.; WYK, A. E. V.; MERWE, C. F. V. D. Structural evidence in Plectroniella armata (Rubiaceae) for possible material exchange between domatia and mites. *Plos One*, v. 7, p. 1-6. 2012.

TROPICOS. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <http://www. tropicos.org>. Acessado em: 27 de Maio de 2017.

VELOSO, H. P.; RANGEL-FILHO, A. L. R.; LIMA, J. C. A. *Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal*. IBGE - DERMA, Rio de Janeiro. 124p. 1991.

VERDCOURT, B. Remarks on the classification of the Rubiaceae. *Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles*, v. 28, p. 209-290. 1958.

VIEIRA, R. C.; DELPRETE, P. G.; LEITÃO, G. G. Anatomical and chemical analyses of leaf secretory cavities of *Rustia formosa* (Rubiaceae). *American Journal of Botany*, n. 88, p. 2151-2156. 2001.

VIEIRA, R. C.; GOMES, D. M. S.; FERRAZ, C. L. Anatomia foliar de *Psychotria nuda* Wawra e *Psychotria leiocarpa* Mart. (Rubiaceae). *Hoehnea*, v. 19, p.185-195. 1992.

VIEIRA, R. C.; GOMES, D. M. S. Superficie da lamina foliar de *Psychotria nuda* (Cham. et Schltdl.) Wawra, *P. leiocarpa* Cham. et Schltdl., *P. stenocalyx* Mull. Arg. e *P. tenuinervis* Mull. Arg. (Rubiaceae). *Acta Botânica Brasil*, v. 9, n. 2, p. 263-270. 1995.

VIEIRA, R. F.; MARTINS, M. V. M. Recursos genéticos de plantas medicinais do Cerrado: uma compilação de dados. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 3, n. 1, p. 13-36. 2000.

WILKINSON, H.P. The plant surface. In: C.R. METCALFE & L. CHALK (Eds). A*natomy of the Dicotyledons. Systematic anatomy of the leaf and stem*. Oxford: Clarendon Press, v.1, p. 97-165. 1979.

ZAPPI, D. Revision of Rudgea (Rubiaceae) in Southastern and Southern Brazil. *Kew Bulletin*, v. 58, p. 513-596. 2003.

ANEXO A

Código	Caracteres Diagnósticos	*A. intermedia*	*C. nodosa*	*F. multiflora*	*F. truncata*	*R. reticulata*	*R. minor*
Micromorfologia							
C03	**Domácia do tipo tufo de pelos**	*1*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*
C04	**Domácia do tipo cripta com tufo de pelos**	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*
C05	**Estômato com ornamentação do tipo estria**	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*
C06	**Tricoma tector curto ornamentado**	*1*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*
C07	**Tricoma tector curto não ornamentado**	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*
C08	**Tricoma tector longo não ornamentado**	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*
C09	**Tricoma tector longo ornamentado**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C10	**Tricoma tector longo recobrindo as nervuras**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*
C11	**Ornamentação cuticular estriada na face adaxial**	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*
C13	**Cera epicuticular em camada ou crosta**	*1*	*1*	*1*	*0*	*0*	*0*
C14	**Superfície lisa**	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*	*1*
Anatomia do Pecíolo							
C15	**Contorno côncavo-convexo na região proximal**	*0*	*1*	*0*	*0*	*1*	*0*
C16	**Contorno biconvexo na região proximal**	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*
C17	**Contorno plano-convexo na região proximal**	*1*	*0*	*1*	*1*	*0*	*0*
C19	**Contorno côncavo-convexo na região mediana**	*1*	*1*	*0*	*1*	*1*	*0*
C20	**Contorno plano-convexo na região mediana**	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*1*
C21	**Projeções acuminadas conspícuas na região mediana**	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*
C22	**Projeções laterais arredondadas**	*1*	*1*	*1*	*0*	*0*	*0*
C23	**Projeções laterais acuminadas**	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*	*0*
C24	**Tricoma tector longo**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*
C25	**Tricoma tector curto**	*1*	*1*	*0*	*0*	*1*	*1*
C26	**Sistema vascular em arco aberto contínuo na região proximal**	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*
C27	**Sistema vascular em arco aberto fletido contínuo na região proximal**	*1*	*0*	*1*	*1*	*0*	*0*
C28	**Sistema vascular em arco aberto fletido descontínuo na região proximal**	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*
C29	**Floema descontínuo na região proximal**	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*
C30	**Sistema vascular em arco aberto contínuo com extremidade invaginada na região mediana**	*0*	*0*	*1*	*1*	*0*	*0*
C31	**Sistema vascular em arco aberto contínuo na região mediana**	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*
C32	**Sistema vascular em arco aberto descontínuo com extremidade invaginada na região mediana**	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*

Código	Caracteres Diagnósticos	*A. intermedia*	*C. nodosa*	*F. multiflora*	*F. truncata*	*R. reticulata*	*R. minor*
C34	**Sistema vascular em arco aberto na região distal**	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*
C35	**Sistema vascular em arco fechado na região distal**	*1*	*1*	*1*	*1*	*0*	*0*
C36	**Fibra perivascular com uma camada**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C37	**Bainha parenquimática**	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*1*
C41	**Braquiesclereídes**	*0*	*1*	*1*	*1*	*1*	*0*
C42	**Idioblasto de ráfide**	*0*	*0*	*1*	*1*	*1*	*1*
C43	**Fístula conspícua**	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*
C44	**Bainha amilífera**	*0*	*1*	*0*	*0*	*1*	*0*
C45	**Flanges cuticulares**	*0*	*1*	*0*	*0*	*1*	*1*
C48	**Areia cristalífera**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
Anatomia da lâmina foliar							
Nervura Principal							
C49	**Contorno biconvexo**	*0*	*1*	*1*	*1*	*0*	*0*
C50	**Contorno concavo-convexo**	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*
C51	**Contorno plano-convexo**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*
C53	**Contorno da face abaxial em arco**	*0*	*1*	*0*	*0*	*1*	*1*
C54	**Contorno da face abaxial em "V"**	*0*	*0*	*1*	*1*	*0*	*0*
C55	**Contorno da face abaxial em "U"**	*1*	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*
C56	**Feixe em arco com extremidade invaginada**	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*
C57	**Feixe vascular em arco aberto**	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*
C58	**Feixe vascular em arco fechado**	*1*	*1*	*1*	*1*	*0*	*0*
C59	**Tricoma tector na face abaxial**	*1*	*1*	*0*	*0*	*1*	*1*
C61	**Flange cuticular**	*0*	*1*	*0*	*0*	*1*	*1*
C62	**Parênquima fotossintetizante contínuo**	*0*	*1*	*1*	*1*	*0*	*1*
C63	**Fístula conspícua**	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*
Região Intercostal							
C64	**Parede anticlinal ondulada na face abaxial**	*0*	*1*	*1*	*1*	*1*	*0*
C65	**Parede anticlinal ondulada na face adaxial**	*0*	*1*	*1*	*0*	*0*	*0*
C66	**Parede anticlinal reta na face abaxial**	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*
C67	**Parede anticlinal reta na face adaxial**	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*	*1*
C68	**Parede anticlinal sinuosa na face abaxial**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C69	**Parede anticlinal sinuosa na face adaxial**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C70	**Tricoma unicelular**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C71	**Tricoma multicelular**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*
C72	**Tricoma com base volumosa**	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*

Código	Caracteres Diagnósticos	*A. intermedia*	*C. nodosa*	*F. multiflora*	*F. truncata*	*R. reticulata*	*R. minor*
C73	**Tricoma com base afundada**	***1***	***0***	***0***	***0***	***0***	***0***
C74	**Feixe vascular com bainha esclerificada**	***0***	***1***	***1***	***1***	***1***	***1***
C75	**Feixe vascular com bainha parenquimática**	***1***	***0***	***0***	***0***	***0***	***0***
C76	**Células epidérmicas quadradas na face adaxial**	***0***	***0***	***0***	***0***	***1***	***1***
C77	**Células epidérmicas papilosa na face abaxial**	***1***	***0***	***1***	***1***	***0***	***0***
C78	**Células epidérmicas lenticulada na face abaxial**	***0***	***0***	***0***	***0***	***0***	***1***
C79	**Cristais prismáticos nas células epidérmicas da face adaxial**	***0***	***1***	***1***	***1***	***0***	***0***
C80	**Idioblasto com ráfide**	***0***	***0***	***1***	***1***	***1***	***1***
C81	**Idioblasto com drusa**	***1***	***0***	***0***	***0***	***0***	***0***
C83	**Reserva lipídica**	***1***	***1***	***0***	***0***	***1***	***1***
C84	**Parênquima clorofilado na nervura principal**	***1***	***0***	***0***	***0***	***1***	***1***
C85	**Parênquima paliçádico irregular**	***0***	***0***	***0***	***0***	***0***	***1***
Bordo							
C86	**Reto**	***1***	***0***	***0***	***0***	***0***	***0***
C87	**Levemente fletido**	***0***	***1***	***1***	***1***	***1***	***0***
C88	**Fletido**	***0***	***0***	***0***	***0***	***0***	***1***
C89	**Extremidade afilada**	***0***	***1***	***0***	***0***	***0***	***0***
C90	**Extremidade levemente afilada**	***0***	***0***	***1***	***1***	***0***	***0***
C91	**Extremidade arredondada**	***1***	***0***	***0***	***0***	***1***	***1***
C92	**Parênquima paliçádico estendido até a extremidade**	***0***	***1***	***1***	***1***	***1***	***1***
C93	**Feixe vascular terminal**	***1***	***0***	***1***	***1***	***0***	***0***
C94	**Feixe de fibra terminal**	***0***	***0***	***0***	***0***	***1***	***1***

ANEXO B

Código	Caracteres Diagnósticos	*A. intermedia*	*C. nodosa*	*C. meridionalis*	*C. graciliflora*	*C. friburgensis*	*F. multiflora*	*F. truncata*	*F. intercedens*	*R. reticulata*	*R. minor*	*R. ovalis*	*R. tinguana*	*R. decipiens*	*R. macrophylla*
Micromorfologia															
C06	**Tricoma tector curto ornamentado**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*
C07	**Tricoma tector curto não ornamentado**	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*
C08	**Tricoma tector longo não ornamentado**	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*
C09	**Tricoma tector longo ornamentado**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C10	**Tricoma tector longo recobrindo as nervuras**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*
Anatomia do Pecíolo															
C31	**Sistema vascular em arco aberto contínuo na região mediana**	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*
C32	**Sistema vascular em arco aberto descontínuo com extremidade invaginada na região mediana**	*0*	*1*	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C33	**Sistema vascular em arco fechado descontínuo na região mediana**	*0*	*1*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
Anatomia da lâmina foliar															
Nervura Principal															
C56	**Feixe em arco com extremidade invaginada**	*0*	*1*	*1*	*1*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C57	**Feixe vascular em arco aberto**	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*
C63	**Fístula conspícua**	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*

Código	Caracteres Diagnósticos	*A. intermedia*	*C. nodosa*	*C. meridionalis*	*C. graciliflora*	*C. friburgensis*	*F. multiflora*	*F. truncata*	*F. intercedens*	*R. reticulata*	*R. minor*	*R. ovalis*	*R. tinguana*	*R. decipiens*	*R. macrophylla*
Região Intercostal															
C64	**Parede anticlinal ondulada na face abaxial**	*0*	*1*	*1*	*0*	*0*	*1*	*1*	*1*	*1*	*0*	*1*	*1*	*0*	*0*
C65	**Parede anticlinal ondulada na face adaxial**	*0*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C66	**Parede anticlinal reta na face abaxial**	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*1*	*1*
C67	**Parede anticlinal reta na face adaxial**	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*	*1*	*0*	*1*	*1*	*1*	*1*	*0*	*1*
C68	**Parede anticlinal sinuosa na face abaxial**	*1*	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C69	**Parede anticlinal sinuosa na face adaxial**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*
C70	**Tricoma unicelular**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*
C71	**Tricoma multicelular**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*	*1*	*0*	*0*
C72	**Tricoma com base volumosa**	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*
C73	**Tricoma com base afundada**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C79	**Cristais prismáticos nas células epidérmicas da face adaxial**	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*1*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*
C80	**Idioblasto com ráfide**	*0*	*0*	*1*	*1*	*1*	*1*	*1*	*0*	*1*	*1*	*1*	*0*	*1*	*1*
C81	**Idioblasto com drusa**	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*
C82	**Cristais prismáticos no parênquima paliçádico**	*0*	*0*	*0*	*1*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*