



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Universidade Federal Rural
da Amazônia
BIBLIOTECA



CARLOS RENATO SILVA ANDRADE

**CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOANATOMIA DA
LÂMINA FOLIAR DE ACESSOS DE *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-
Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L. B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliacea e
Psychotria ipecacuanha (Brotero) Stokes-Rubiaceae, CONSERVADOS NO BANCO
ATIVO DE GERMOPLASMA**

Biblioteca



34850019

BELEM
2016

Trac
581.3
1533
R2.C3

CARLOS RENATO SILVA ANDRADE

**CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOANATOMIA DA
LÂMINA FOLIAR DE ACESSOS DE *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-
Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L. B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliacea e
Psychotria ipecacuanha (Brotero) Stokes-Rubiaceae, CONSERVADOS NO BANCO
ATIVO DE GERMOPLASMA**

Tese apresentada à Universidade Federal Rural
da Amazônia, como parte das exigências do
Curso de Doutorado em Ciências Agrárias: área
de concentração Agroecossistemas da
Amazônia, para obtenção do título de Doutor.
Orientador: Prof. Dr. Osmar Alves Lameira.
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria do Socorro
Padilha de Oliveira.

BELÉM
2016

Universidade Federal Rural da Amazônia
BIBLIOTECA
Nº 3485 Data 20/5/2016
C v 43=

Andrade, Carlos Renato Silva

Caracterização, avaliação morfológica e morfoanatomia da lâmina foliar de acessos de *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L. B. Smith) Coppins & F. Leal-Bromeliaceae e *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes-Rubiaceae, conservados no banco ativo de germoplasma / Carlos Renato Silva Andrade. - Belém, 2015.

114 f.

Tese (Doutorado em Ciências Agrárias/Agroecossistemas da Amazônia) – Universidade Federal Rural da Amazônia/Embrapa Amazônia Oriental, 2015.

Orientador: Osmar Alves Lameira

1. *Pilocarpus microphyllus* – morfologia 2. Jaborandi – variabilidade 2. *Ananas comosus* 3. *Psychotria ipecacuanha* 4. Análise multivariada 5. Plantas medicinais - agrupamento 6. Genética I. Lameira, Osmar Alves (Orient) II. Título

CDD - 581.3

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

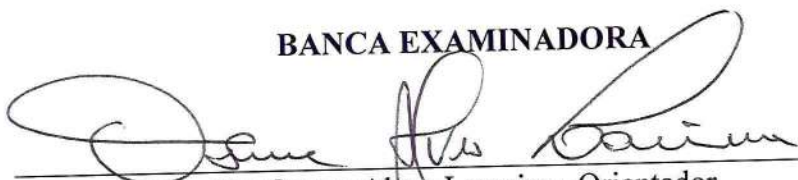
CARLOS RENATO SILVA ANDRADE

**CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOANATOMIA DA
LÂMINA FOLIAR DE ACESSOS DE *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-
Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L. B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliaceae e
Psychotria ipecacuanha (Brotero) Stokes-Rubiaceae, CONSERVADOS NO BANCO
ATIVO DE GERMOPLASMA**

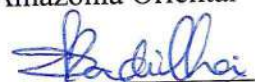
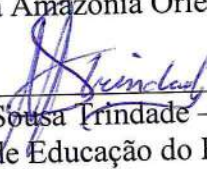
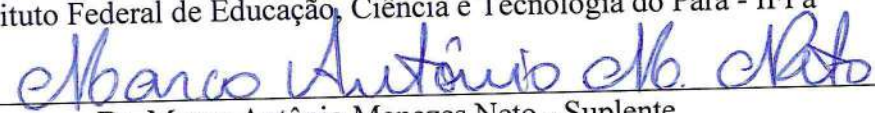
Tese apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do
Curso de Doutorado em Ciências Agrárias: área de concentração Agroecossistemas da
Amazônia, para obtenção do título de Doutor.

Aprovada em 27 de janeiro de 2016

BANCA EXAMINADORA



Dr. Osmar Alves Lameira - Orientador
Embrapa Amazônia Oriental


Dr.ª. Maria do Socorro Padilha de Oliveira - 1ª examinadora
Embrapa Amazônia Oriental
Dr.ª. Maria José de Sousa Trindade - 2ª examinador
Secretaria Executiva de Educação do Pará - SEDUC-Pa
Dr.ª. Maria Auxiliadora Feio Gomes - 3ª examinadora
Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA
Dr.ª. Louise Ferreira Rosal - 4ª examinadora
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará - IFPa
Dr. Marco Antônio Menezes Neto - Suplente
Universidade Federal do Pará - UFPa

*“Ama-te menos Senhor, quem ama outras coisas
contigo,
sem amá-las por
Tua causa.”*

Santo Agostinho

*“A sabedoria não é um produto da escolaridade, mas da tentativa, ao longo de uma vida,
para obtê-la”*

Albert Einstein

DEDICO

Aos meus pais: **Zenaide Silva de Andrade e Douglas Matias**, alicerce de minha vida agradeço o carinho e a oportunidade de me darem a vida.

Aos meus avós: **Alfredo Gomes da Silva e Zuila Vieira** (*in memorian*), pelos ensinamentos ao longo da vida.

A **Pedro Rodrigo da Costa Wanderley**, pelos momentos de descontração, pelas digitações, cálculos infundáveis e pela compreensão, por meus momentos de ausência ou até mesmo de solidão, pelos estresses, e por todo amor a mim concedido. Obrigado, pela formatação das tabelas e por você existir!

Às minhas tias **Zélia, Zuleide, Zeni**, a minha prima **Vanessa** e ao amigo de anos e de todas às horas, **Jansom Paixão**, pelos momentos de conforto que tanto precisei para minha recuperação e término desta etapa da minha vida profissional. MUITÍSSIMO obrigado!

OFEREÇO

Ao meu querido orientador **Prof. Dr. Osmar Alves Lameira**, por toda paciência, dedicação, aprendizado e confiança.

À minha grande e eterna amiga e Mãe **Zenaide Andrade**, por todo conforto, carinho, compreensão e pelo tratamento no momento que precisei. Agradeço, Mãezinha a Deus e a Santa Rita e Nossa Senhora de Nazareth, pela sua existência e por tê-la como minha mãe.

A querida Co-orientadora **Prof^a. Dr^a. Maria do Socorro Padilha de Oliveira**, por toda paciência, dedicação, aprendizado e confiança.

MUITO, MUITO OBRIGADO E QUE DEUS ESTAJE SEMPRE CONOSCO !!!!!

AGRADECIMENTOS

Ao *Nosso Senhor Jesus Cristo*, força motriz que me impulsiona o caminhar cotidiano *pari-passu* e que tem mantido-me em retos pensamentos.

À Unidade de Apoio à Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA, pela oportunidade concedida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de doutorado.

Ao projeto Macroprograma 1 da Embrapa: 01.06.01.007.07.07: Coleta, conservação, caracterização, documentação e uso de plantas medicinais e aromáticas de ocorrência na Amazônia Oriental, pela possibilidade da execução de parte das atividades de pesquisa com três espécies medicinais.

Aos Coordenadores do Curso de Pós-graduação; inicialmente ao Prof. Dr. Roberto César e Dr. Francisco Assis, por toda a sua dedicação e empenho para com os docentes, discentes e ao próprio curso.

Ao Prof. Dr. Osmar Lameira mais que orientador, pelos ricos ensinamentos e boa convivência ao longo desses quatro anos.

À Dr^a. Maria José Trindade (Mary), pelos momentos de amizade, descontração, leitura nas correções desta Tese e apoio durante esta caminhada desde o mestrado até o doutoramento, Ave, que bom tê-la como amiga !!!!!

Aos Professores que não mediram esforços para atender e transmitir conhecimentos, em especial: Dr. Milton Mota (UFRA), Dr. Jorge Yared (UFRA), Dr^a. Izildinha Miranda (UFRA), Dr. Osmar Lameira (Embrapa/CPATU), Dr. Benedito Filho (UFRA), Dr. Osvaldo Kato (Embrapa/CPATU).

À Dr^a Socorro Padilha, pela valiosa colaboração em criar e analisar os modelos estatísticos, que enriqueceram esta TESE, por toda paciência e orientação, muito obrigado!

Aos (as) amigos (as) que durante os intervalos das disciplinas riamos e fofocávamos para passar o tempo em especial: Félix, Márcia Nágem, Francimary, Neyre, Oberdan, Neto, Maristela, Maria José, Márcia Hamada, Wendel, Fábio, Cristiane, Alexandre, entre outros, expresso o meu muito obrigado!

À Vália Homcei, pelas infinitas análises, dúvidas e sempre aposta para retificações, obrigado, pela amizade.

À Irene Penna, pelas conversas e momentos de descontração ao longo desta Tese.

À Mestra Margareth Maia, pelas conversas e momentos de descontração ao longo desta Tese e de como seria o amanhã.

A eterna amiga Dr^a. Raimundinha Potiguara (*in memoriam*), pelos ensinamentos ao longo da minha vida acadêmica, sempre na defesa e melhoria de seus pupilos e aprendizes.

Às secretárias Shirley e Millena (Curso de Pós-graduação em ciências agrárias - UFRA); o meu muito obrigado pela atenção dispensada e que sempre estiveram com um belo sorriso no rosto, em todos os momentos solicitados.

À Professora Mestra Ana Maria Cristina de Mello Mendes, por ter despertado em mim, a tão valiosa ciência-botânica, que me fortaleceu ao longo desses anos, muito obrigado!

Aos Professores Dr. Marco Antônio Menezes Neto, Dr^a. Maria José de Souza Trindade, Dr^a. Maria do Socorro Padilha de Oliveira, Dr^a. Maria Auxiliadora Feio Gomes e Dr^a. Louise Rosal, por aceitarem em participar das análises e correções desta Tese, durante a qualificação e defesa total, muito obrigado!

E a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para a finalização desta pesquisa.

Muito obrigado!

Carlos Renato Silva Andrade

CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOANATOMIA DA LÂMINA FOLIAR DE ACESSOS DE *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L. B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliaceae e *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes-Rubiaceae, CONSERVADOS NO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA

RESUMO GERAL

Este estudo teve por objetivo caracterizar e avaliar os aspectos morfológicos e morfoanatômicas de acessos de *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L. B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliaceae e *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes-Rubiaceae, conservados no Banco Ativo de Germoplasma de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA. Para tanto foram escolhidos, ao acaso, 10 acessos de cada espécie, sendo caracterizados para 3 a 9 caracteres qualitativos e avaliados para 3 a 4 caracteres quantitativos. Para os caracteres qualitativos foram obtidas as porcentagens de ocorrência, enquanto os quantitativos foram analisados por análises uni e multivariadas, essas últimas obtidas pela distância euclidiana média padronizada. A morfoanatomia das três espécies foi realizada pela da lâmina foliar e ou foliolar, e a presença de cristais polimórficos. Foi diagnosticado durante o estudo, que os caracteres podem subsidiar a elaboração inicial de uma lista de descritores ou caracteres morfológicos, que poderão ser utilizados na caracterização e avaliação

Palavras-chaves: variabilidade, análise multivariada, agrupamento, distâncias genéticas.

**CHARACTERISTICS AND EVALUATION OF MORPHOLOGICAL AND ACCESS
MORPHOANATOMY BLADE OF LEAF *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-
Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (LB Smith) F. Coppens & Leal-Bromeliaceae and
Psychotria ipecacuanha (Brotero) Stokes-Rubiaceae **OF THE GERMPLASM OF ACTIVE
BANK EASTERN AMAZON****

ABSTRACT

This study aimed to characterize and evaluate the morphological and morphoanatomic of *Pilocarpus microphyllus* hits Stapf ex-Wardleworth Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L. B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliaceae and *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes-Rubiaceae, stored in Active Germplasm Bank of medicinal plants at Embrapa Amazônia Oriental, in Belém, PA. For both were chosen at random, 10 accessions of each species, being characterized for 3-9 qualitative characters and evaluated to 3-4 quantitative traits. For qualitative characters were obtained the occurrence percentages, while quantitative were analyzed by univariate and multivariate analyzes, the latter obtained by standardized mean Euclidean distance. The Morphology of the three species was performed by the leaf or lamina and in leaflet, and the presence of polymorphic crystals. Was diagnosed during the study, the characters can subsidize the initial drafting of a list of descriptors or morphological characters, which can be used in the characterization and evaluation.

Keywords: variability, multivariate analysis, clustering, genetic distances.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Vista geral do Banco ativo de germoplasma (BAG-jaborandi) da Embrapa Amazônia Oriental, local de coleta dos dados.	26
Figura 2.	Gráfico dos caracteres qualitativos de <i>Pilocarpus microphyllus</i> Stapf ex Wardleworth-Rutaceae.	31
Figura 3.	Dendrograma gerado pelo método UPGMA, a partir das distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas de quatro caracteres quantitativos avaliados em 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.	37
Figura 4.	Dispersão gráfica de 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas de quatro caracteres quantitativos.	38
Figura 5.	Padrão de venação de <i>Pilocarpus microphyllus</i> A: aspecto geral padrão broquidodrómo, nervuras primária (Np), secundária (Ns), terciária (Nt) e nervura pseudo-secundárias (Nps), B: aréolas (Ar), C: nervuras terciárias (NT) formando arcos (Arc), D: terminações dicotômicas (Td).	41
Figura 6.	Fotomicrografia da lâmina foliolar envolvendo a epiderme adaxial de <i>Pilocarpus microphyllus</i> - A: microscopia de luz das epidermes uniestratificada-estriada (Euad e Euab), cutícula lisa (CL), cavidade secretora (CS), detalhe do parênquima paliçádico (PP) e parênquima lacunoso (PL), B: detalhe da cavidade secretora com lúmen reduzido (LR), C: tricoma glandular (Tg) em microscopia óptica com pé, base e cabeça, D: tecido lacunoso, cavidade subestomática (Cse) e epiderme adaxial (Euad), E: feixe vascular (Fvc) envolto com bainha parenquimática (Bp) e esclerenquimática (Be), presença de macroesclereídeo (Ma).	47

- Figura 7. A: vista frontal em MEV do tricoma unicelular tector ornamentado e recoberto por cera (TT), B: vista frontal de estômatos e póro (Po) com depósito de ceras estriadas (Ce), camada de cera conspícua (CCC) e C: corte transversal da margem involuta (MI). 48
- Figura 8. Corte transversal da lâmina foliolar de *Pilocarpus microphyllus*, A: MEV do mesofilo observação das cavidades secretoras ao longo da face abaxial, B: cavidades secretoras com lúmen reduzido (LR) e amido (Am), camada de cera conspícua (CCC), C: visão geral da nervura central, D: detalhe da camada uniestratificada com cutícula estriada (CE), colênquima do tipo anelar (CA) e células parenquimáticas.(CP). 49
- Figura 9. Vista geral do Banco de Germoplasma Ativo (BAG) de curauá da EMBRAPA Amazônia Oriental, local de coleta dos dados. 62
- Figura 10. Gráfico dos caracteres qualitativos nas amostras de *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B.Smith). 67
- Figura 11. Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas de três caracteres quantitativos avaliados em 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA. 70
- Figura 12. Dispersão gráfica de 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas de três caracteres quantitativos. 72
- Figura 13. Padrão de venação de *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B.Smith) Coppens & F. Leal (curauá). A: aspecto geral da inflorescência (AI), folha com ápice acuminado (FAC) e de aspecto levogiro (FAL), B: aspecto geral padrão paralelódroma rede de nervuras densas a partir das nervuras 75

primária (Np).

- Figura 14. Fotomicrografia do corte transversal da lâmina foliar de *Ananas comosus* var. *erectifolius* - **A**: mesofilo heterogêneo (dorsiventral alterado por compostos químicos durante a fixação), cutícula estriada (Cte), feixes vasculares (FV) e fibrosos (FF) revestidos por bainha parenquimática (BP), **B**: células epidérmicas uniestratificadas (CEPUN), cutícula conspícua (CC) e das paredes anticlinais e periclinais **C**: MEV tecido paliçádico (TP) e dos feixes de fibras (FF). 80
- Figura 15. **A**: MEV, células parenquimáticas contendo cristais polimórficos do tipo monoprismáticos (MP), **B**: microscopia de contraste de fase referente a visão frontal da epiderme abaxial (ea), detalhe dos estômatos paracítico, **C**: póro estomático (Po) e depósito de cera (Ce) sobre as células companheiras. 80
- Figura 16. Vista geral do Banco ativo de germoplasma de ipeca (BAG) da Embrapa Amazônia Oriental, local de coleta de dados. 92
- Figura 17. Gráfico dos caracteres qualitativos nas amostras de *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes-Rubiaceae, pertencentes aos BAGS de ipeca. 97
- Figura 18. Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas de três caracteres quantitativos avaliados em 10 acessos de ipeca conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA. 101
- Figura 19. Dispersão gráfica de 10 acessos de ipeca conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas de quatro caracteres quantitativos. 102
- Figura 20. Padrão de venação de *Psychotria ipecacuanha* **A**: aspecto geral padrão broquidódromo, nervuras primária (Np), 106

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.	Identificação dos dez acessos de jaborandi avaliados e conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.	27
Tabela 2.	Resumo das análises de variâncias obtidas para os caracteres quantitativos altura da planta, comprimento, largura da folha e comprimento do pecíolo em dez acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.	32
Tabela 3.	Grupos formados pela comparação de médias de quatro caracteres avaliados em 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, com base no teste de Scott e Knott a 5 % de probabilidade.	33
Tabela 4.	Estimativas das dissimilaridades entre os 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, expressas pelas distâncias Euclidianas médias padronizadas, com base nos quatro caracteres quantitativos.	34
Tabela 5.	Grupos formados pelo método de Tocher entre os 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA com base nas distâncias Euclidianas médias obtidas por quatro caracteres quantitativos.	34
Tabela 6.	Contribuição relativa de quatro caracteres quantitativos para a divergência entre os 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.	35

Tabela 7.	Escores de quatro caracteres morfológicos avaliados em 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias padronizadas.	39
Tabela 8.	Identificação dos dez acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, e avaliados no estudo.	63
Tabela 9.	Resumo das análises de variâncias obtidas para os caracteres quantitativos altura da planta, comprimento e largura da folha em dez acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.	68
Tabela 10.	Grupos formados pela comparação de médias dos 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA feita com base no teste de Scott e Knott.	68
Tabela 11.	Estimativas das dissimilaridades entre os 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, expressas pelas distâncias Euclidianas médias padronizadas obtidas com base nos três caracteres quantitativos.	69
Tabela 12.	Grupos formados pelo método de Tocher entre os 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA com base nas distâncias Euclidianas médias obtidas por três caracteres quantitativos.	70
Tabela 13.	Contribuição relativa de três caracteres quantitativos para a divergência entre os 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.	71

Tabela 21. Escores de quatro caracteres morfológicos avaliados em 10 acessos de ipeca conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias p

SUMÁRIO

	ÍNDICE DE FIGURAS	10
	ÍNDICE DE TABELAS	14
	RESUMO GERAL	17
	ABSTRACT	18
1	CONTEXTUALIZAÇÃO	19
	REFERÊNCIAS	22
2	CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOANATOMIA DA LÂMINA FOLIAR DE ACESSOS DE <i>Pilocarpus microphyllus</i> Stapf ex Wardleworth-Rutaceae, CONSERVADOS NO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA	
	RESUMO	23
	ABSTRACT	24
2.1	Introdução	25
2.2	Material e Métodos	26
2.3	Resultados e Discussão	31
2.4	Conclusões	50
	REFERÊNCIAS	51
3	CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOANATOMIA DA LÂMINA FOLIAR DE ACESSOS DE <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> (L. B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliaceae, CONSERVADOS NO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA	
	RESUMO	56
	ABSTRACT	57
3.1	Introdução	58
3.2	Material e Métodos	60
3.3	Resultados e Discussão	65
3.4	Conclusões	79
	REFERÊNCIAS	80
4	CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOANATOMIA DA LÂMINA FOLIAR DE ACESSOS DE <i>Psychotria ipecacuanha</i> (Brotero) Stokes-Rubiaceae, CONSERVADOS NO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA	
	RESUMO	84
	ABSTRACT	85
4.1	Introdução	86
4.2	Material e Métodos	87
4.3	Resultados e Discussão	92
4.4	Conclusões	108
	REFERÊNCIAS	109
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	114

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

As inúmeras espécies vegetais endêmicas dos biomas tropicais e subtropicais contém genes adaptados a diversos ambientes, genes de interesse para a agricultura, para a indústria de fitoterápicos e importantes para o melhoramento dos produtos já existentes e para a síntese de novas moléculas, podendo gerar benefícios incalculáveis (MAZZA; BAGGIO, 2002). No Brasil, os biomas contemplam uma alta diversidade biológica, incluindo centenas de espécies úteis ou potencialmente úteis, representando um estoque genético rico e variado, que vem contribuindo para o avanço da agricultura, da indústria e da produção de fármacos. Entre elas as espécies em foco neste trabalho.

Ressalta-se que o crescimento demográfico, a fragmentação dos ecossistemas, a construção de hidrelétricas e estradas, as queimadas e a introdução de espécies exóticas estão entre as causas da perda da biodiversidade. Para se contrapor a essa realidade, o estabelecimento de estratégias de conservação da diversidade biológica é uma das ações que possibilita a sustentabilidade dos biomas brasileiros para atender às demandas das próximas gerações.

O princípio da conservação dos recursos genéticos é a manutenção da sua viabilidade e integridade. Fundamentalmente, existem duas estratégias complementares de conservação de recursos genéticos: a *in situ* e a *ex situ*. A conservação *in situ* é realizada dentro do ecossistema, permitindo a dinâmica evolutiva. Por outro lado, a conservação *ex situ* é conduzida fora do ambiente original, podendo ser realizada a médio ou longo prazo. A regeneração regular e cuidadosa dos genótipos pode fazer da conservação *ex situ*, uma forma segura de conservar genes das grandes culturas por décadas (HOYT, 1992).

A conservação *ex situ* do germoplasma por meio de bancos e coleções *in vitro* é especialmente recomendada para espécies com sementes recalcitrantes e as de propagação vegetativa. Também é adequada para aquelas que apesar de produzirem sementes ortodoxas, são propagadas tradicionalmente por via vegetativa, possibilitando a manutenção de características desejáveis, mas passíveis de desaparecer com a segregação na propagação via semente, como espécies aromáticas e medicinais (VALOIS et al., 2001).

A falta ou insuficiência de informação sobre os acessos mantidos em bancos ou coleções de germoplasma é apontada por vários especialistas como uma das causas do pouco uso destes materiais. Os bancos e coleções que conseguem manter seus genótipos caracterizados e avaliados despertam maior interesse entre os pesquisadores que estudam o recurso genético vegetal conservado. No caso das espécies com propriedades medicinais, a

avaliação dos metabólitos secundários se faz indispensável para o amplo conhecimento da diversidade, não apenas genética, mas química.

As etapas de caracterização e avaliação contribuem para identificar a variabilidade genética de acessos oriundos dos bancos de germoplasma ou de amostras de populações naturais e para identificação de genótipos promissores para futuras ações de melhoramento. Todos os descritores, sejam eles quantitativos ou qualitativos, contribuem para a determinação desta divergência, em maior ou menor proporção (MOURA, 2003). Assim sendo, nos programas de melhoramento genético de plantas, o estudo da diversidade genética proporciona informações fundamentais, em relação à caracterização, conservação e utilização dos recursos genéticos disponíveis (SILVA et al., 2014).

Uma outra vertente afirma que a caracterização vegetal é uma etapa fundamental no processo de obtenção de novos genótipos pelo melhoramento genético vegetal. Onde descritores bem definidos, podem garantir características hereditárias próprias da nova variedade e podem fornecer os elementos para manutenção da pureza vegetal (KUSSLER; BONETTI, 2005).

A caracterização do germoplasma conservado em níveis genéticos ou fenotípicos é importante para conhecer a variabilidade existente nos bancos ou coleções, e também identificar aqueles caracteres que sejam ligados à produtividade (SILVA, 1999).

Levando em consideração a escassez de estudos mais detalhados sobre as espécies aromáticas, medicinais ou florestais, tais como: *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliaceae e *Psychotria ipecacuanha* Brotero Stokes-Rubiaceae, pesquisadores da Embrapa Amazônia Oriental elaboraram o projeto coleta, conservação, caracterização, documentação e uso de plantas medicinais e aromáticas de ocorrência na Amazônia Oriental.

A partir disto, formulou-se o plano de trabalho com as seguintes hipóteses:

- o conhecimento de caracteres morfológicos favorece a melhor diferenciação fenotípica entre os acessos de cada espécie, o que poderá possibilitar a segregação de indivíduos com menor potencial de similaridade; a formação de aglomerados na presença de dendogramas devido a aplicabilidade de métodos quantitativos possibilitando as indicações de clados divergentes.

- a presença de cristais polimórficos indicam o potencial apomórfico das espécies estudadas.

Tais hipóteses nortearam os objetivos a seguir.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Caracterizar e avaliar os aspectos morfológicos em acessos das amostras em estudo, além de descrever a morfoanatomia da lâmina foliar e ou foliolar de *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliaceae e *Psychotria ipecacuanha* Brotero Stokes-Rubiaceae, conservados nos bancos ativos de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, visando a diferenciação entre os acessos.

2.2 Específicos

- 1- Quantificar a variabilidade genética de acessos das espécies *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliaceae e *Psychotria ipecacuanha* Brotero Stokes-Rubiaceae, conservados nos BAG'S da Embrapa Amazônia Oriental, por meio de caracteres morfológicos;
- 2- Agrupar e identificar caracteres com menor e maior contribuição para divergência genética entre os acessos das referidas espécies;
- 3- Descrever anatomicamente a lâmina foliar de *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-Rutaceae, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliaceae e *Psychotria ipecacuanha* Brotero Stokes-Rubiaceae.

REFERÊNCIAS

- MAZZA, M. C. M.; BAGGIO, A. J. Pesquisas na área de conservação e manejo de plantas medicinais desenvolvidas na Embrapa Florestas. In: VIEIRA, R. F. et al. (Ed.) **Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas**: resultados da primeira reunião técnica. Brasília: Embrapa/Ibama/CNPq, 2002, p. 142-145.
- MOURA, G.; PINHEIRO NETO, A.; GUIMARÃES, A.; AMORIM, A. C.; PEDROSA, E. C.; QUEIROZ, G. de C.; MACIEL, I.; MAGALHÃES, J. M. Produção de kit básico de cosméticos com base no *Pilocarpus microphyllus* STAPF (Jaborandi). In: REUNIÃO DOS BOTÂNICOS DA AMAZÔNIA, 2, 1997, Salinópolis. **Resumos** -. Salinópolis: Sociedade Botânica do Brasil/Seccional da Amazônia, 1997. p.80.
- MOURA, E. F. **Divergência genética entre acessos de jaborandi** (*Pilocarpus microphyllus*). 2003. Lavras: UFLA. 75. (Tese Mestrado).
- SILVA, G. S. Meloidoginose do jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Starf.) **Fitopatologia brasileira**, v.7, p.121-123, 1982.
- SILVA, A. F. Floresta Atlântica. In: MENDONÇA, M. P. ; LINS, L. V. **Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2000, p.45-53.
- VALOIS, A. C. C.; NASS, L. L.; GOES, M. Conservação *ex situ* de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. DE; VALADARES-INGLIS, M.A. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001, p.29-55.

Capítulo 2: CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOANATÔMICA EM ACESSOS DE *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-Rutaceae

RESUMO

Este estudo teve como objetivos: caracterizar e avaliar os aspectos morfológicos, além de descrever a morfoanatomia da lâmina foliolar, em acessos de *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth (jaborandi). Foram avaliados e caracterizados dez acessos de jaborandi para 21 caracteres qualitativos e quatro quantitativos. Os dados foram organizados em planilhas do Excel, para a obtenção das porcentagens (qualitativos), e os demais, submetidos às análises uni e multivariadas, no programa estatístico GENES. Para o estudo morfoanatômico, foram retiradas de alguns acessos, as amostras submetidas a protocolo usual em anatomia, tais como: a fixação, a conservação, a desidratação, a hidratação e aos cortes para montagem de lâminas, além de estudos para estudo de venação e MEV. Dos 21 caracteres apenas três caracteres apresentaram variações entre os acessos sendo eles: a forma da folha, a base foliar e o ápice foliar. O caráter forma da folha exibiu três fenótipos: a elíptica, a oval e a oblonga, com predominância da elíptica, com 63,3% de ocorrência. O caráter base foliar foi o mais variável apresentado cinco tipos (arredondada, obtusa, aguda, atenuada e cuneada), com predomínio da arredondada (82,3%). Enquanto que o caráter ápice foliar teve variação de dois tipos: o abcordado e o retuso, onde o primeiro tipo ocorreu em 66,7%. Constatou-se que a maior dissimilaridade ocorreu entre os acessos Merck e Bonal 2 e a menor os acessos Açailândia e BRA 167. O caráter largura da folha apresentou a maior contribuição relativa, para a divergência entre os acessos. Os acessos formaram de 2 a quatro grupos divergentes, dependendo do método utilizado e detectou-se durante as análises anatômicas a presença de estruturas secretoras, em aspecto de rosetas apresentando analogicamente: pé, cabeça e pescoço que exudam substâncias de origem lipofílicas de grande importância para atividades farmacológicas. Não houve uniformidade de distribuição das estruturas secretoras, embora, tenha ocorrido maior concentração na base e na epiderme abaxial dos folíolos das amostras analisadas; os cristais são do tipo polimórficos; com a deposição de cera epicuticular ocorrendo em diferentes órgãos vegetativos, apresentando maior incidência na epiderme abaxial e sobre as células-guardas, dos estômatos anomocítico. De um modo geral, as características descritas poderão ser utilizadas como fatores de diferenciações taxonômicas como subsídio na identificação de diferentes táxons de *Pilocarpus*.

Palavras - chaves: plantas medicinais, Amazônia, distâncias Euclidianas, agrupamentos.

**Chapter 2: CHARACTERIZATION AND MORPHOLOGICAL ASSESSMENT ON
ACCESS AND OF LEAF BLADE MORPHOANATOMY *Pilocarpus microphyllus*
Stapf ex Wardleworth-Rutaceae, PRESERVED IN THE GERMPLASM**

ABSTRACT

This study aimed to characterize and evaluate the morphological and describes the morphoanatomy the leaflet blade in *Pilocarpus hits microphyllus* Stapf ex Wardleworth (Jaborandi). They were evaluated and caracaterizados ten Jaborandi access to 21 characters qualitative and four quantitative. Data were organized in Excel spreadsheets, to obtain the percentages (qualitative), and others, submitted to univariate and multivariate in GENES statistical program. For morfoanatômico study were taken from some accesses to the samples subjected to usual protocol anatomy, such as fixation, preservation, dehydration, hydration and cut for mounting blades, in addition to studies for venation of study and . Of the 21 caracetres only three characters showed variations between the accesses being: the shape of the leaf, the leaf base and leaf apex. The character shape of the leaf exhibited three phenotypes: the elliptical, oval and oblong, with a predominance of elliptical, with 63.3% of occurrence. The leaf base character was the most submitted five types variable (rounded, obtuse, acute, attenuated and cuneate), with a predominance of rounded (82.3%). While the leaf apex character had a variation of two types: the abcordado and retuso where the first type occurred in 66.7%. It was found that the greater dissimilarity occurred between Merck and Bonal 2 access and lower the Açailandia and BRA 167. access Character sheet width showed the highest relative contribution to the divergence between the accesses. Accesses formed of two to four different groups, depending on the method used and detected during anatomical analyzes the presence of secretory structures in rosettes aspect performing analogously: foot, head and neck exudam lipophilic substances of great importance for pharmacological activities. There was no uniformity of distribution of secretory structures, though, has been a greater concentration on the base and on abaxial epidermis of the leaflets of the samples; the crystals are the polymorphic type; with the deposition of epicuticular wax occurring in different vegetative organs, with higher incidence in abaxial epidermis and on-cell guards, the anomocítico stomata. In general, the described features may be used as taxonomic differentiation factors as input the identification of different taxa of *Pilocarpus*.

Key - words: medicinal plants, Amazon, Euclidean distances groupings.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Pilocarpus* é a única fonte natural da droga pilocarpina, um alcaloide imidazólico usado na oftalmologia para contração da pupila e em tipos primários de glaucoma. Este alcalóide sempre foi usado pelos índios brasileiros por causar sudorese e salivação (MERCK, 1989).

Dentre as treze espécies que ocorrem no Brasil, o *Pilocarpus microphyllus* é considerado o jaborandi verdadeiro, por possuir maiores teores de pilocarpina em suas folhas e, por isso, é o mais intensamente coletado. Entretanto, há poucas caracterizações genéticas focando germoplasma dessa espécie conservado em bancos ou coleções, e tais estudos podem ser realizados por meio dos recursos genéticos disponíveis em laboratório ou em campo, facilitando a conservação, caracterização e melhoramento genético (COSTA, 2005).

A caracterização de germoplasma é importante, pois auxilia no conhecimento e no uso da variabilidade genética, permitindo aos melhoristas selecionar acessos para obtenção de populações e linhagens que atendam as necessidades específicas de um programa de melhoramento, existindo vários tipos (CARVALHO et al., 2003).

A caracterização morfoagronômica deve considerar caracteres botânicos de alta herdabilidade, fácil mensuração e pouca interação genótipo x ambiente. Os aspectos morfológicos e fenológicos também devem ser observados de forma sistemática nos acessos, por meio de descritores, que são caracteres utilizados para descrever um acesso. Na avaliação de germoplasma, para maior confiabilidade dos dados, torna-se necessário o uso de um modelo experimental, que obedeça aos princípios básicos da experimentação agrícola (VALLS, 1988)

Em 1992, foi estabelecido um banco ativo de germoplasma de jaborandi na Embrapa Amazônia Oriental de Belém-Pa, visando a conservação e utilização em programas de melhoramento genético. Contudo, os acessos desse banco, até o momento, foram negligenciados ou apenas preliminarmente caracterizados e avaliados. O que corrobora para esse capítulo realizar os estudos avaliativos dos caracteres morfológicos, descrever a morfoanatomia da lâmina foliolar e o grau de similariedade.

O objetivo deste estudo foi caracterizar e avaliar morfológica e anatomicamente acessos de jaborandi conservados na Amazônia Oriental.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O material botânico foi coletado no Horto de Plantas Aromáticas e Medicinais pertencentes à Embrapa Amazônia Oriental, localizado na sede dessa instituição, em Belém, PA, a 078°43'42" S de latitude e 98°40'862" W de longitude. Nesse local encontra-se instalado o Banco Ativo de Germoplasma de jaborandi (Figura 1).

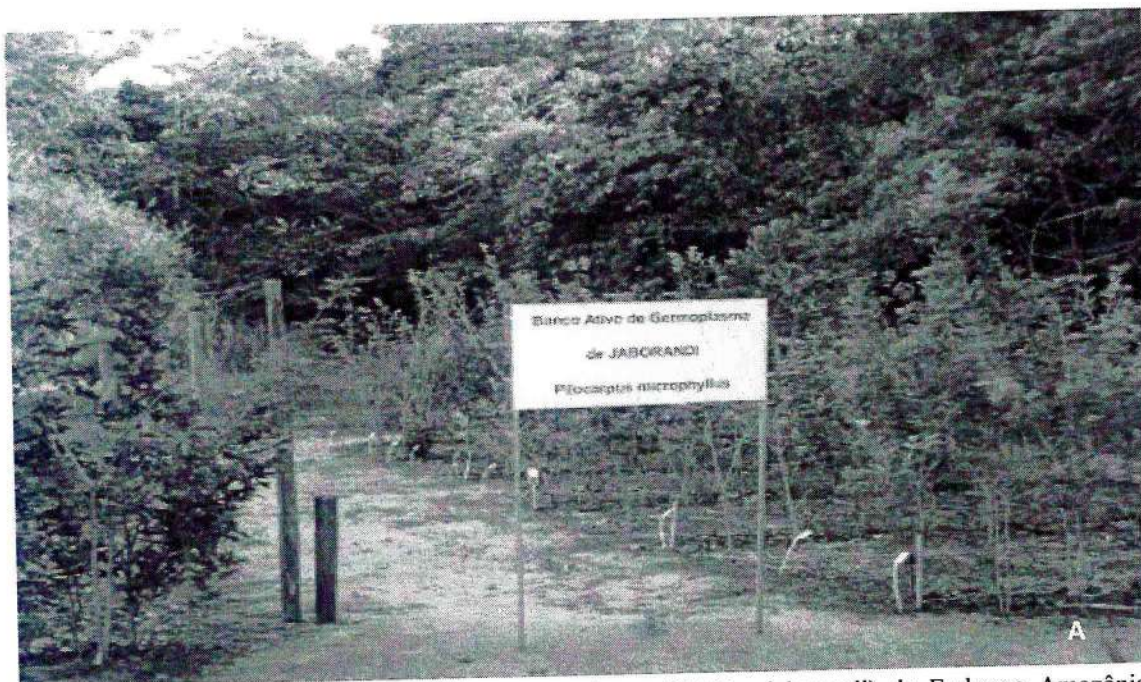


Figura 1. Vista geral do Banco ativo de germoplasma (BAG - jaborandi) da Embrapa Amazônia Oriental, local de coleta dos dados.

2.2 Coleta do material

No BAG-jaborandi, foram selecionados dez acessos aleatoriamente, sendo cultivados a pleno sol e adubados organicamente. As denominações e procedência dos acessos estudados constam na Tabela 1.

Tabela 1. Identificação dos dez acessos de jaborandi utilizados no estudo e conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Acessos (nº)	Código dos acessos	Procedências
1	Merck	Moju, PA
2	Bonal 4	Moju, PA
3	Bonal 3	Moju, PA
4	Bonal 2	Moju, PA
5	Bonal 1	Moju, PA
6	NBB	Novo Breu Branco, PA
7	Maisa	Moju, PA
8	Açailândia	Maranhão, MA
9	BRA 167	Brejo, MA
10	Serra Sul	Maranhão, MA

2.3 Caracterizações e avaliação morfológica

Foram avaliados 28 caracteres morfológicos, em nove plantas de cada acesso, sendo 21 qualitativos e 7 quantitativos, em nove plantas de cada acesso, totalizando 90 plantas. Os caracteres qualitativos analisados foram: cor da folha apical, cor do pecíolo, cor da epiderme, forma da folha, base foliar, ápice foliar, hábito, tipo de folha, filotaxia, tipo de margem, venação foliar, consistência da folha, tipo de inflorescência, cor da flor, tipo de infrutescência, tipo de caule, disposição da folha sobre o caule, estípula, simetria, superfície, divisão do limbo (Apêndice 1).

Os caracteres quantitativos descritos foram: número de folíolos/folha (contados a partir do terceiro nó, sempre de cima para baixo, como metodologia adotada para espécies já diagnosticadas), altura da planta (a partir do colo da planta até a extremidade final da haste e expressa em centímetros-cm), largura do folíolo-Lffo (cm), comprimento do pecíolo-Cpe (cm), largura da folha-LFO (cm), comprimento da folha-CFO (a partir da base do pecíolo até a sua extremidade final, sendo expressa em cm) e comprimento do pecíolo-Cpe (cm), cujas mensurações ocorreram com o auxílio de paquímetros digitais, fitas diamétricas, réguas graduadas e trenas graduadas em centímetros.

Após a obtenção dos dados quantitativos, percebeu-se que três caracteres foram iguais em todas as plantas amostradas (n=90). Assim, optou-se por submeter às análises uni e multivariadas apenas os caracteres variáveis, os quais foram submetidos ao programa estatístico GENES, seguindo-se os estudos realizados por Joly (1977), Agarez et al.(1994) e Castro (2006). Em relação, aos caracteres qualitativos, adaptou-se a metodologia proposta por Fukuda e Guevara (1998).

2.3.1 Análises estatísticas

A fim de verificar a existência de variabilidade genética entre os acessos cada caráter quantitativo foi submetido à análise de variância univariada, pelo delineamento inteiramente casualizado, considerando 10 tratamentos (acessos) e nove repetições (plantas por acesso) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o *software* GENE, versão 5.0.

As análises multivariadas foram feitas com base na média de cada caráter por acesso. Para eliminar problemas com escalas, utilizou-se a distância Euclidiana média, calculada dos dados padronizados.

Na análise de Componente Principal (PCA-Principal Component Analysis), os dados foram pré-processados empregando-se auto escalonamento, com a obtenção de gráficos dos escores e dos pesos, com dois componentes principais (PC) explicados pelas suas variâncias.

Na análise de agrupamento, foi utilizada a Distância Euclidiana média como medida de dissimilaridade e na delimitação dos grupos foi utilizado o método hierárquico das médias das distâncias (UPGMA - *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic*) e o não hierárquico de Tocher.

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2001), sendo os dados da análise univariada por meio do seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

em que:

Y_{ij} : valor observado da parcela que recebeu o tratamento acesso i na repetição planta j ;

μ : média

t_i : efeito do tratamento i ;

eij: erro experimental associado à parcela que recebeu o tratamento i na repetição j.

2.4 Caracterização morfoanatômica

Os folíolos adultos foram seccionados em região apical, basal, central, margem e intermediária. Posteriormente, foram submetidos às etapas usuais em anatomia, como: fixação, conservação, desidratação, hidratação, cortes, montagem de lâminas a fresco, além da metodologia de IAWA (1989).

2.4.1 Secções histológicas

Secções histológicas transversais e longitudinais foram realizadas nos folíolos adultos, utilizando-se de duas técnicas:

a) Preparo de lâminas a fresco: realizado com auxílio de lâmina de barbear, utilizando-se cortiça como suporte. Em seguida, as secções foram clarificadas em solução aquosa de hipoclorito de sódio comercial na diluição de 1:1, até total despigmentação; lavadas com água destilada e coradas com azul de astra, fucsina básica 1% (BRAGA, 1977), e azul de metileno 1% (JOHANSEN, 1940). A montagem foi feita em glicerina aquosa 50% entre lâmina e lamínula, isolando-se os bordos da lamínula com esmalte incolor, segundo Purvis et al. (1964).

b) Secções com micrótomo rotativo: as amostras foram submetidas, previamente, ao amolecimento com solução de etilenodiamina 10% (CARLQUIST, 1962), mantidas em estufa a 55° C, por 24 horas. Após este período, as amostras foram lavadas quatro vezes a cada 30 minutos com solução aquosa de glicerina 20%, até completa retirada do agente amolecedor. Posteriormente, seguiram-se as etapas de desidratação em série etanólica crescente, infiltração e inclusão em parafina (JOHANSEN, 1940). Os blocos de parafinas confeccionados foram desbastados na face a ser seccionada expondo o material incluído, com posterior imersão em solução de glicerina 10% por 24 horas (JEWELL, 1958). As secções seriadas de 20 µm foram distendidas em banho-maria a 40°C, em seguida depositadas por lâminas histológicas albuminadas e acondicionadas em estufas a 55°C, por 24 horas. As secções foram desparafinadas pela série aceto-butílica e ou hidratadas pela série etanólica (JOHANSEN, 1940) decrescente, posteriormente coradas com azul de Astra, fucsina básica 1% (BRAGA, 1977) e azul de metileno 1% (JOHANSEN, 1940), seguindo-se a desidratação e pós-desidratação de acordo com o mesmo autor, sendo montadas em bálsamo do Canadá entre lâmina e lamínula.

2.5 Microscopia fotônica (MFO)

As lâminas foram fotomicrografadas com auxílio de câmera acoplada ao microscópio de luz modelo ZEISS no laboratório de Anatomia Vegetal do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG).

2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os órgãos vegetativos "*in natura*" foram fixados em solução de glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1M por 24h (McDOWELL;TRUMP, 1976). Posteriormente, este material foi lavado três vezes na mesma solução tampão, desidratando-se em série etanólica crescente e em seguida foi substituído por CO₂ líquido (ponto crítico) (BOZZOLA; RUSSEL, 1991), sendo montado em suporte metalizado com ouro. As imagens foram obtidas no Laboratório Institucional de Microscopia eletrônica de Varredura do Museu Paraense Emílio Goeldi, utilizando um microscópio eletrônico LEO modelo 1450 VP.

2.7 Diafanização

Os folíolos adultos foram seccionados nas regiões basal, mediana e apical. Em seguida, fixados em solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 20% (ARNOTT, 1959). A solução foi trocada diariamente até a completa clarificação do material e lavado em água corrente para a retirada de resíduos e em seguida corados em safranina hidro-alcoólica 5% (JOHANSEN, 1940), por 24 horas. Após essa etapa, o material foi desidratado pela série alcoólica crescente (50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%) e em uma série de solução alcoólica aceto-butílica 30%, 50%, 70% e 100% (KRAUS;ARDUIN, 1997).

Os folíolos adultos inteiros foram montados em resina sintética entre lâminas de vidro e o restante do material seccionado foi também montado em resina sintética, entre lâmina e lamínula. A análise da descrição da arquitetura foliolar foi realizada segundo Handro (1964), Felipe ; Alencastro (1966) e Hickey (1974).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização e avaliação morfológica

Dos 21 caracteres qualitativos observados nas 90 plantas de jaborandi, que constituem os dez acessos analisados, foram registrados três que apresentaram variações fenotípicas: a forma da folha, a base foliar e o ápice foliar (Figura 2). Foi percebido durante o estudo que o caráter forma da folha apresentou três gradações: a elíptica, a oval e a oblonga, com predominância da elíptica, que ocorreu em 63,3% das plantas. O caráter base foliar foi o mais variável, exibindo cinco tipos: arredondada, obtusa, aguda, atenuada e cuneada, com predomínio da arredondada (82,3%). Enquanto o caráter ápice foliar apresentou dois tipos: o abcordado e o retuso, onde o primeiro tipo ocorreu em 66,7% das plantas de jaborandi avaliadas.

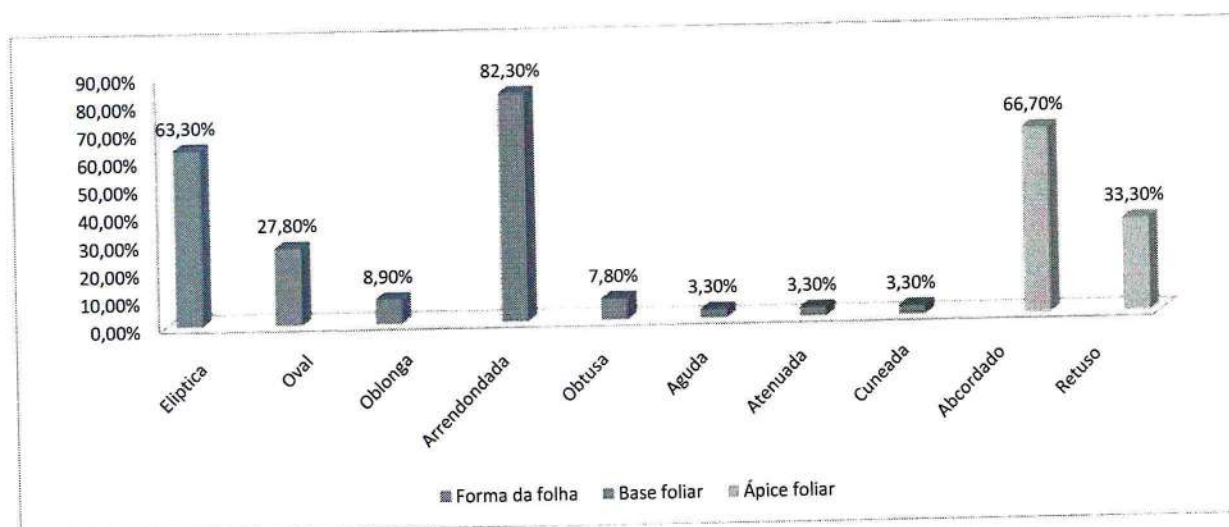


Figura 2. Ocorrência de três caracteres qualitativos observados em 90 plantas de *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth-Rutaceae, conservadas no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental.

Estes três caracteres permitiram distinções nítidas entre os acessos e podem ser identificados como possíveis caracteres morfológicos de jaborandi. Já os demais caracteres qualitativos, como a cor da folha apical, cor da epiderme e o pecíolo, não apresentam distinções, pois todas as plantas apresentaram coloração de verde claro a verde escuro para o pecíolo; todas as plantas tiveram hábito do tipo terrestre, com folhas do tipo completa e compostas, e venação do tipo peninérvia. Durante as análises foram registrados que a consistência das folhas foram do tipo membranácea; inflorescência do tipo cacho com frutos deiscentes, sendo todas as plantas do tipo arbusto, cujas folhas sobre o caule foram do tipo alternas verticiladas, com estípulas, característico da família Rutacea.

Diagnostizou-se que a simetria das folhas, foi do tipo assimétrica, de superfície glabra, cuja divisão do limbo foi pinada e imparipenada. Esses caracteres como não apresentaram diferenças, ao longo de todos os acessos, possivelmente, podem ser desconsiderados como padrão de diferenciação para a espécie em estudo.

Segundo Gonçalves et al., (2008), apesar da análise conjunta dos caracteres quantitativos e qualitativos ser considerada um indicador potencialmente mais completo da variabilidade existente nos bancos de germoplasma, poucos trabalhos têm utilizado esta estratégia. Os autores ainda explicaram que, provavelmente, isso ocorre devido à falta de conhecimento das técnicas estatísticas que permitem essa abordagem, à carência de softwares livres que analisem esses dados conjuntamente, bem como pela tendência dos pesquisadores em dar mais importância àquelas variáveis diretamente relacionadas com caracteres trabalhados em programas de melhoramento.

O resumo das análises de variância, para os quatro caracteres morfológicos quantitativos (altura da planta, comprimento, largura da folha e comprimento do pecíolo) avaliados nos dez acessos de Jaborandi, conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, que constam na Tabela 2. Os coeficientes de variação (CV%) do experimento variaram de 16,90, no que se refere ao comprimento da folha, a 150,51 para a largura.

Tabela 2. Resumo das análises de variâncias obtidas para os caracteres quantitativos altura da planta, comprimento, largura da folha e comprimento do pecíolo, em dez acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Caracteres	Quadrados Médios		Média	CV (%)
	Acessos	Erro		
Altura da planta (cm)	7,2649 ^{**}	1,3231	3,2	36,44
Comprimento da folha (cm)	5,8034 ^{ns}	5,1099	13,4	16,90
Largura da folha (cm)	20,9122 ^{ns}	18.1327	2,8	150,51
Comprimento do pecíolo (cm)	5,0228 ^{**}	1,2984	2,9	39,73

Deve ser salientado que esses caracteres foram mensurados em experimento (Banco de germoplasma) no qual não houve controle local e de maneira aleatória, o que pode ter contribuído para maiores estimativas do erro experimental e, por conseguinte, toda a variação, exceto a dos tratamentos, acumulou-se no erro. Mas, supõe-se que a precisão experimental foi boa, uma vez que permitiu detectar diferença significativa entre os acessos para a maioria dos caracteres avaliados.

Analisando a Tabela 3, que determina a percepção de grupos formados pela comparação de médias, para os quatro caracteres avaliados, nos 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA feita com base no teste de Scott e Knott a 5 % de probabilidade, percebeu-se que houve diferenças significativas entre as médias, referentes ao caráter AP e CPe entre os acessos, os quais formaram dois grupos com alguma semelhança. Para a altura da planta os acessos Bonal 4, Bonal 3, NBB e Merck formaram o primeiro grupo e os demais o segundo.

No caso, do comprimento do pecíolo, o primeiro grupo foi constituído por cinco acessos: Bonal 4, NBB, merck, Bonal 1 e Serra Sul, os quais diferenciam dos demais acessos.

Tabela 3. Grupos formados pela comparação de médias de quatro caracteres avaliados em 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, com base no teste de Scott e Knott a 5 % de probabilidade.

Acessos	AP (cm)	CFo (cm)	LFo (cm)	CPe (cm)
Bonal4	4,75 a	12,98 a	3,31 a	3,66 a
Bonal3	4,34 a	14,42 a	2,59 a	2,28 b
NBB	3,88 a	14,32 a	6,88 a	2,98 a
Merck	3,48 a	12,17 a	3,36 a	4,20 a
Bonal2	2,74 b	14,11 a	2,06 a	1,52 b
Maisa	2,71 b	13,68 a	2,22 a	2,64 b
Bonal1	2,66 b	13,80 a	2,10 a	3,30 a
BRA 167	2,56 b	13,02 a	1,92 a	2,57 b
Serra Sul	2,25 b	12,37 a	1,86 a	3,00 a
Açailândia	2,21 b	12,89 a	2,00 a	2,53 b

As estimativas das dissimilaridades obtidas, entre os 10 acessos de jaborandi, constam na Tabela 4. Verifica-se que a maior distância ocorreu entre os genótipos MERK e BONAL 2, ($d= 2,242$), ambos coletados em Moju, PA. Enquanto a menor distância foi registrada, entre os acessos Açailândia e BRA167 ($d=0.214$), coletadas em diferentes locais do Maranhão sugerindo que os acessos do Pará são mais divergentes que os do Maranhão.

Tabela 4. Estimativas das dissimilaridades entre os 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, expressas pelas distâncias Euclidianas médias padronizadas obtidas com base nos quatro caracteres quantitativos.

Acessos	Merck	Bonal 4	Bonal 3	Bonal 2	Bonal 1	NBB	Maisa	Açailândia	BRA 167	Serra Sul
Merck	0									
Bonal 4	0,940	0								
Bonal 3	1,970	1,329	0							
Bonal 2	2,242	1,991	1,051	0						
Bonal 1	1,332	1,353	1,231	1,206	0					
NBB	1,961	1,584	1,501	1,967	1,752	0				
Maisa	1,516	1,438	1,053	0,797	0,450	1,723	0			
Açailândia	1,465	1,661	1,543	1,059	0,801	2,076	0,575	0		
BRA 167	1,398	1,491	1,353	0,984	0,694	1,979	0,434	0,214	0	
Serra Sul	1,170	1,582	1,811	1,495	0,946	2,239	0,896	0,455	0,527	0

As análises das estimativas das distâncias Euclidianas médias padronizadas, permitiram a formação de três grupos divergentes pelo método de Tocher, entre os dez acessos, com características consideradas como mais similares e com grau de especificidade distinta (Tabela 5). O grupo 1 foi constituído por sete acessos de diferentes localidades; enquanto, que o grupo 2 por dois acessos (Merck e Bonal 4), ambos procedentes de Moju-PA; e o grupo 3 por apenas um acesso (NBB), proveniente de Novo Breu Branco, PA.

Vale ressaltar que os acessos do grupo 1 possuem características genótípicas semelhantes, assim como, os acessos do grupo 2.

Tabela 5. Grupos formados pelo método de Tocher entre os 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA com base nas distâncias Euclidianas médias obtidas nos quatro caracteres quantitativos.

Grupos	Acessos						
1	Açailândia	BRA 167	Serra Sul	Maisa	Bonal 1	Bonal 2	Bonal 3
2	Merck	Bonal 4					
3	NBB						

Utilizando-se da análise de componentes principais (ACP): ($Y'_{\text{fenótipo}} = e_1^* \text{ comprimento do pecíolo (CPe)} + e_2^* \text{ largura da folha (Lfo)} + e_3^* \text{ comprimento da folha (CF)} + e_4^* \text{ altura da planta (AP)}$), foi possível identificar que os dois primeiros componentes explicaram 84% da variação total. No 1º componente ($\lambda=45.09\%$) o autovetor (e_1) de maior importância (peso) foi o correspondente a variável Lfo ($e_1= 0,7158$) e no 2º componente ($\lambda=39.68\%$) foi o CF ($e_1= -0.7066$), este último em contribuição negativa ao componente,

isto é a participação da variável CF gera redução da característica fenotípica. Percebeu-se que os componentes 3 e 4 são irrelevantes.

Moura (2003) obteve correlação de magnitude semelhante à detectada para todos os caracteres, quando avaliou a associação das distâncias geográficas e Euclidianas em diferentes áreas de coletas dos acessos de jaborandi, que constituem o BAG da Embrapa Amazônia Oriental, tendo relacionado a baixa correlação com a pressão de seleção sobre determinados caracteres.

Na Tabela 6 apresenta-se a contribuição relativa para as divergências genotípicas encontradas entre os acessos. Percebe-se que o caráter da largura da folha foi o que mais contribuiu para a divergência. Foi diagnosticado que entre os acessos, seguido pela altura da planta e comprimento da folha.

Tabela 6. Contribuição relativa de quatro caracteres quantitativos para a divergência entre os 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Caracteres	Contribuição (%)
Largura da folha (cm)	53,66
Altura da planta (cm)	18,62
Comprimento da folha (cm)	14,82
Comprimento do pecíolo (cm)	12,91

Percebeu-se que a formação dos grupos é de fundamental importância na escolha dos genitores, pois as novas combinações híbridas a serem estabelecidas, devem ser baseadas na magnitude de suas dissimilaridades e no potencial dos genitores. As cultivares reunidas em grupos mais distantes forneceram um indicativo de serem dissimilares, podendo ser consideradas como promissoras em cruzamentos artificiais (OLIVEIRA et al., 2005). Entretanto, além de dissimilares, é necessário que os genitores associem média elevada para as outras características agronômicas avaliadas.

As dissimilaridades podem ser utilizadas em esquemas de hibridação ou seleção, com o objetivo de incorporar as características favoráveis em uma mesma população ou mesmo obter novas linhagens. A partir desses genótipos, disponibilizando maior variabilidade no melhoramento genético (BORGES et al., 2010). Além disso, o estabelecimento de classes homogêneas com heterogeneidade entre grupos é um ponto de partida nos programas de melhoramento vegetal (CRUZ, 2005).

Cruz, Regazzi e Carneiro (2004) sugerem o não envolvimento de indivíduos de mesmo padrão de dissimilaridade nos cruzamentos, de modo a não se restringir a

variabilidade genética e, assim, evitar reflexos negativos nos ganhos a serem obtidos pela seleção.

Conforme relatado por Asmus (2008), as melhores combinações híbridas a serem testadas em um programa de melhoramento devem envolver parentais tanto divergentes como de elevado desempenho. De acordo com esse autor, o estabelecimento de grupos com genótipos com homogeneidade dentro e heterogeneidade entre os grupos é o ponto de partida para uma avaliação mais minuciosa dos mesmos, a fim de se realizar seu aproveitamento nos programas de melhoramento.

O emprego de técnicas multivariadas no reconhecimento da diversidade genética, impõe certo grau de estrutura nos dados, sendo importante que diferentes critérios de agrupamento sejam utilizados, e que se considere como correta a estrutura resultante da maior parte deles, para assegurar que o resultado obtido não seja um artefato da técnica utilizada (ARRIEL et al., 2006).

Costa et al. (2006) relataram que a identificação dos diferentes graus de divergência genética é importante uma vez que fornece parâmetros para a identificação de genitores promissores.

O melhoramento com extração de linhagens a partir de cultivares melhoradas é mais favorável, pois esses materiais já possuem alta porção de locos favoráveis, além de serem outrora testados em vários ambientes (AMORIM, 2005). Além disso, as baixas estimativas dos coeficientes de repetibilidade, de maneira geral, inferiores a 0,4, resultam em dificuldades para o melhorista identificar os melhores valores genotípicos a partir de análise das médias fenotípicas obtidas (FERREIRA et al., 1999).

No dendrograma gerado pelas análises do método UPGMA, foram formados dois grupos, sendo o grupo II constituído por dois subgrupos (Figura 3). O grupo I foi constituído pelo acesso NBB, o grupo IIa pelos acessos Merck e Bonal 4; e o grupo IIb pelos demais acessos. Tais grupos apresentaram a mesma constituição dos grupos, formados pelo método de Tocher (Tabela 3). Percebeu-se contudo, que neste estudo houve a formação de poucos grupos, o que coincide com os trabalhos de Moura (2003). Além disso, Gazel Filho e Lima (2002) também obtiveram a formação de poucos grupos, quando utilizaram a análise de conglomerados.

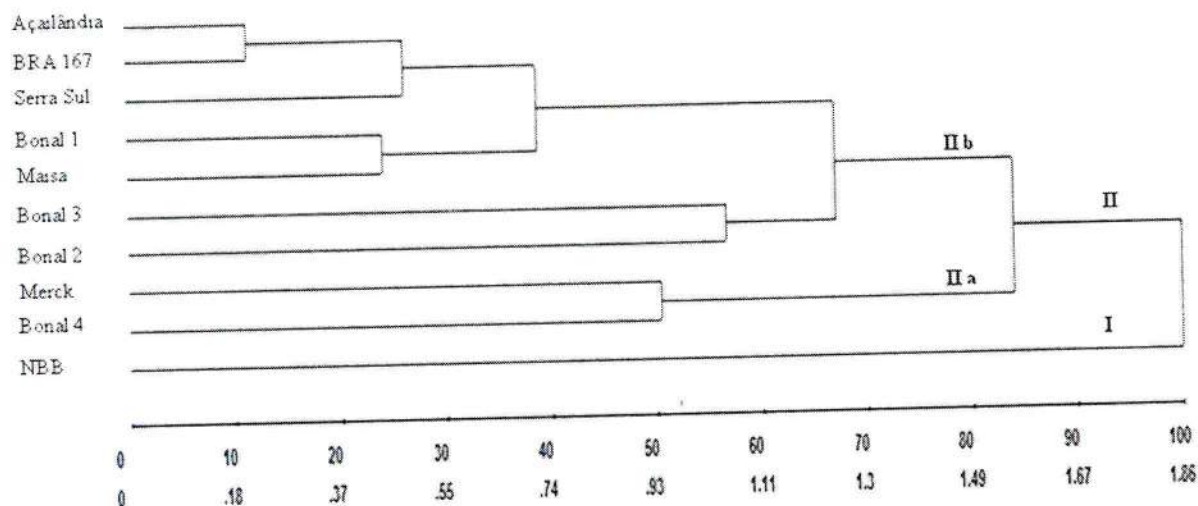


Figura 3. Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas de quatro caracteres quantitativos avaliados em 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Pela dispersão gráfica foram formados quatro grupos. O grupo 1 composto por cinco acessos: Massa, Bonal 1, Açailândia, BRA 167 e Serra Sul, o grupo 2 constituído por: Bonal 4 e Merck, o grupo 3 por: Bonal 2 e Bonal 3 e o grupo 4 pelo NBB, que foi o mais distinto dentre os demais, devido suas características serem individualizadas.

De certa forma este resultado foi coincidente formados pelos métodos de Tocher e UPGMA, com a mesma constituição. Nesse caso, a mudança ficou por conta do grupo I, que na dispersão gráfica foi dividido em dois. Ou seja, no grupo 1 ficaram cinco acessos de diferentes procedências, o grupo 2 por dois acessos Bonal 2 e Bonal 3 do mesmo local, mostrando que a dispersão gráfica foi mais eficiente em separar os acessos.

Em trabalhos, com espécies arbóreas também não foram encontrados o mesmo número de grupos gerados pelos dois métodos em questão (ALVES, 2002). O mesmo fato foi relatado por Carvalho et al. (2003) e Gomes (2007) quando avaliaram acessos de algodão e de plantas adultas de pupunhas, não havendo concordância no agrupamento pelos métodos de Tocher e pela dispersão gráfica.

Foi percebido que os genótipos mesmo sendo pertencentes a uma mesma espécie, é comum e que em alguns deles possuam maior ou menor semelhança genética que outros, e isto é refletido pelas características fenotípicas avaliadas (VIANA et al. 2003; BELLON et al. 2009).

De modo geral, espera-se que os resultados obtidos possam ser úteis na identificação de procedências divergentes para a estruturação de um banco de germoplasma.

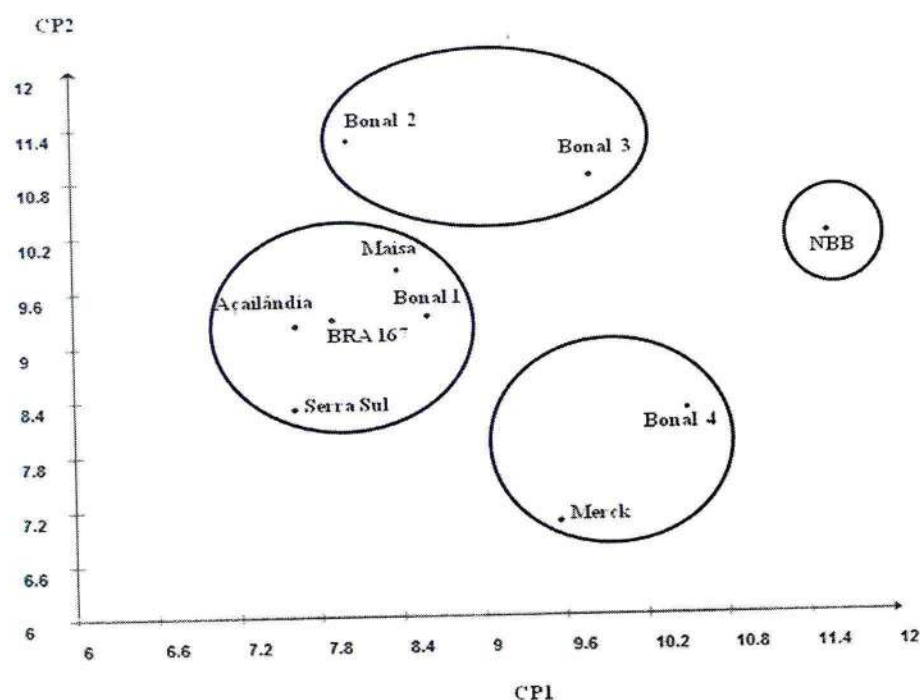


Figura 4. Dispersão gráfica de 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas pelos quatro caracteres quantitativos.

Segundo Arriel et al. (2006), em agrupamentos hierárquicos, a delimitação dos grupos é feita de maneira subjetiva, observando-se pontos de alta mudança de nível no dendrograma. Notou-se também, que caracterização morfológica é uma etapa fundamental em programas de melhoramento de plantas, visto que permite estimar a variabilidade genética e indicar os melhores genótipos a serem utilizados (MARIN et al. 2009).

A análise da diversidade genética para o conhecimento da variabilidade entre materiais de interesse, torna-se muito vantajoso no processo de identificação de novas fontes de genes (AMARAL JUNIOR; THIÉBAUT, 1999). Para o melhoramento, que busca a variabilidade genética na progênie, com o objetivo da seleção de cultivares superiores, os acessos mais dissimilares são os mais apropriados. Já que nestes cruzamentos procura-se obter o efeito heterótico na geração híbrida e maior probabilidade de recuperação de segregantes superiores em gerações avançadas.

Em seguida, foi identificado que as maiores correlações ocorreram entre a altura da planta e o comprimento do pecíolo ($r_{xy} = -0.5869$), quando a altura da planta cresce, o comprimento do pecíolo diminui. As duas primeiras componentes demonstram 84,78% da variação total. Durante o estudo, percebeu-se que os autovetores de maior peso foram: LFo

(C1), CPe (C2), CF (C3) e LFO (C4), e nas componentes 2 e 4. Esses valores contribuem negativamente nas amostras analisadas.

Segundo a classificação observada na Tabela 7, o acesso de maior importância para a C1 foi o NBB e para a C2 foi o BONAL 2, os demais podem ser descartados. Isto é, o acesso NBB, foi o mais importante na C1 ($\epsilon=11.549$.) e o descritor ou caracter de maior importância para este acesso foi o LFO; na C2 ($\epsilon=11.2412$) o acesso mais importante foi o BONAL 2, cujo descritor (caráter) de maior importância foi o CPe.

Tabela 7. Escores de quatro caracteres morfológicos avaliados em 10 acessos de jaborandi conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias padronizadas.

Acessos	Comprimento do pecíolo	Largura da folha	Comprimento foliar	Altura da planta
MERCK	9,555	7,040	-1,349	-11,807
BONAL 4	10,496	8,269	-2,399	-11,605
BONAL 3	9,808	10,825	-2,469	-11,829
BONAL 2	8,021	11,241	-1,465	-11,512
BONAL 1	8,592	9,305	-1,341	-12,828
NBB	11,549	10,178	-0,101	-11,718
MAISA	8,376	9,816	-1,335	-12,119
AÇAILÂNDIA	7,622	9,207	-1,030	-11,579
BRA 167	7,899	9,285	-1,344	-11,625
SERRA SUL	7,612	8,301	-1,106	-11,581

A análise de componentes principais permitiu identificar os caracteres redundantes, ou seja, que pouco influenciaram na discriminação dos acessos. Para tanto, foram consideradas as correlações entre os mesmos, assim como a importância agronômica destes descritores para o programa de melhoramento. O descarte de descritores redundantes permite a otimização do conjunto original, significando redução de custos operacionais, de mão-de-obra e de tempo dispendidos na avaliação dos acessos (DIAS et al. 1997).

3.2 Caracterização morfoanatômica

3.2.1 Padrão de venação de *Pilocarpus microphyllus*

Folíolos adultos dos acessos de jaborandi, em posição ventral mostraram-se levemente curvos para a esquerda, caracterizando aspecto levógiro, podendo apresentar tamanhos distintos em um mesmo ramo; a rede de nervura foi diagnosticada como laxa, e as ramificações chegaram a alcançar até a terceira grandeza. Além disso, a lâmina foliolar possui nervura primária única, proeminente que se adelga em direção ao ápice. Das nervuras primárias partem de 6 a 8 pares de nervuras secundárias, de cada lado do folíolo, que se projetam em direção a margem foliolar, sem tocá-la caracterizando o padrão pinada. A nervura central foi proeminente na face adaxial, plana ou levemente proeminente na abaxial (Figura 5 A).

Trabalhos descritos na literatura por Shobe e Lersten (1967); Mccauley e Evert (1988); Beebe e Evert (1990); Dannenhoffer et al.(1990); Dannenhoffer e Evert (1994), contribuíram para um melhor entendimento, no que se refere a utilização de variadas técnicas de diafanização de folha, o que favorece o entendimento morfológico das espécies.

Parkhurst e Loucks (1972) afirmaram que a hereditariedade é o fator primordial pelo tamanho e a forma das folhas, fato demonstrado em seus estudos pela alta variação de tipos que ocorrem entre diferentes espécies, que coexistem num determinado ambiente.

As nervuras secundárias curvaram-se, formando pequenos arcos anastomosados, definindo o padrão de venação broquidódromo, estando de acordo, com a classificação de Handro (1964), Felipe e Alencastro (1966) e Hickey (1974).

Durante as análises foi registrada a existência de outras nervuras, que se projetaram da primária, mas que não alcançam a margem, sendo classificada como pseudo-secundárias, devido não formarem arcos, estando em torno, de quatro a sete nervuras, nos lados direito e esquerdo do folíolo respectivamente (Figura 5 A).

É conveniente lembrar, que a gênese foliar ocorre durante um breve período de morfogênese inicial, sendo mais influenciada pela formação das nervuras secundárias, uma vez que as nervuras de menor calibre só surgem durante a expansão da folha (DENGLER; KANG, 2001).

Foi observada a presença de aréolas resultantes da fusão das nervuras secundárias, podendo ser consideradas como perfeitas e fechadas. Dependendo da sua localização podem ser formadas de 4 a 8 nervuras secundárias (Figura 5 A-B). Além disso, foi diagnosticada a presença de nervuras secundárias, que se unem a primária, podendo haver formações de arcos (Figura 5 C).

Das nervuras secundárias, pode ocorrer projeções de outras nervuras de pequeno calibre denominadas de nervuras terciárias, que se ramificam e subramificam, caracterizando o tipo de venação chamada de alterna percorrente, ou ainda dicotômica ramificada, cujas terminações não são livres (Figura 5 D).

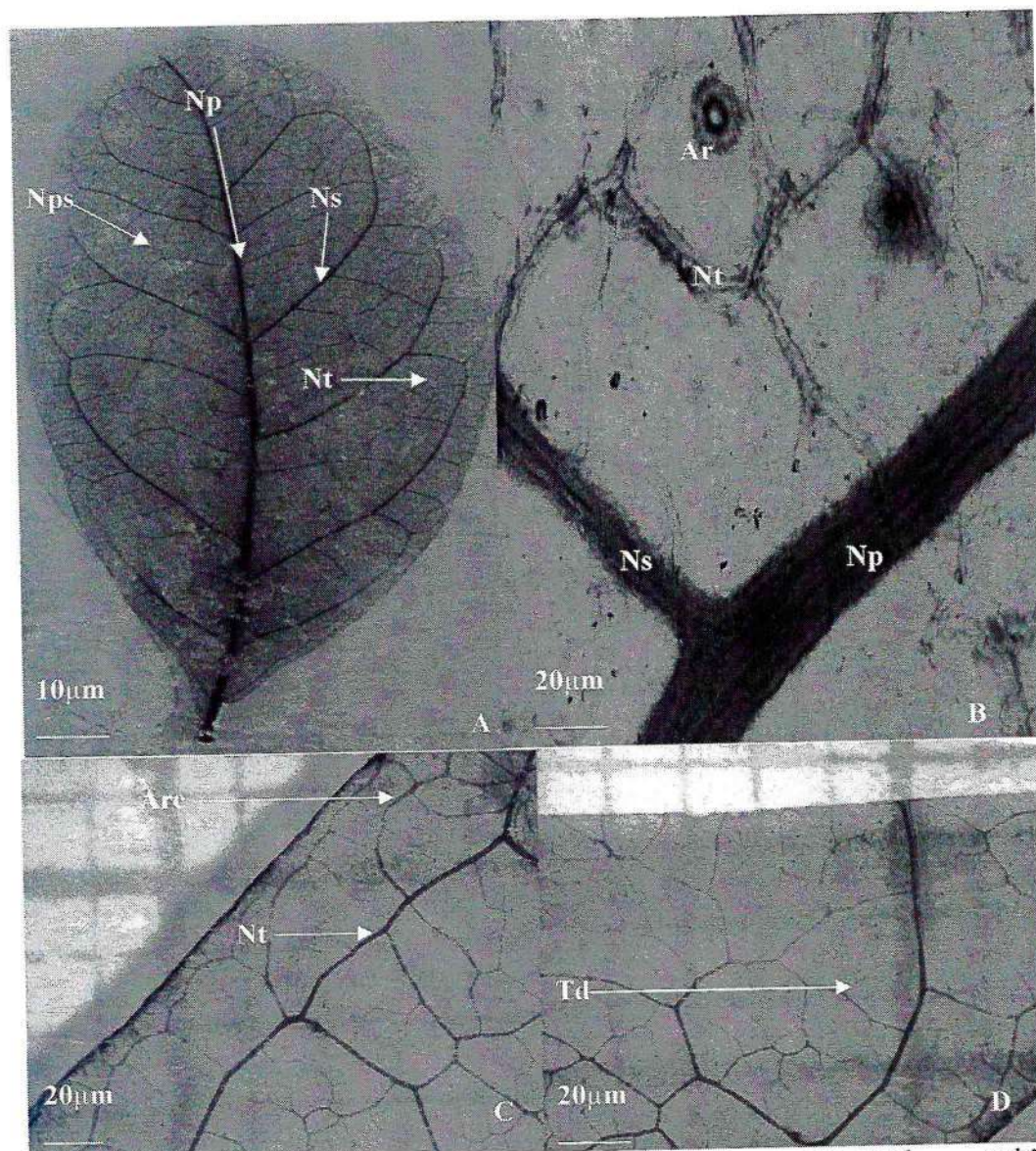


Figura 5. Padrão de venação de *Pilocarpus microphyllus* A: aspecto geral padrão broquidodrómo, nervuras primária (Np), secundária (Ns), terciária (Nt) e nervura pseudo-secundárias (Nps), B: aréolas (Ar), C: nervuras terciárias (Nt) formando arcos (Arc), D: terminações dicotômicas (Td).

3.2.2 Descrição anatômica da lâmina foliolar de *Pilocarpus microphyllus*

As secções transversais da lâmina foliolar de jaborandi apresentaram o seguinte arranjo estrutural: mesofilo dorsiventral sendo delimitado pelas epidermes adaxial e abaxial uniestratificadas; células epidérmicas adaxiais do tipo poligonais recobertas por uma fina cutícula lisa presente tanto na região adaxial, como na abaxial; as paredes anticlinais e periclinais da face adaxial mostraram-se retas, podendo apresentar espessamentos, as células da face adaxial são maiores que a da face abaxial (Figura 6 A-B). Trabalhos descritos por Metcalfe e Chalk(1957) afirmam que folhas dorsiventrals são comuns em Rutaceae.

Dengler (1994) descreve que no mesofilo, a presença de fibras e da bainha vascular podem indicar participações nos processos de conduções, ampliando, assim, o contato entre as células do mesofilo e do sistema vascular; a presença de parênquima clorofiliano paliçádico, com células grandes, alongadas perpendicularmente e unidas, também contribuem para formar barreira de proteção contra a perda de água.

Foi percebido que no mesofilo da espécie em estudo, houve a presença de diversas cavidades secretoras (Figura 6 B). Estudos realizados por Cutler (1978) afirmam que, independente da diferenciação, o mesofilo pode ser utilizado como um critério a mais na identificação de espécies. O referido autor considera, também, que as variações ambientais não alterarão os arranjos celulares deste, visto que estão rigidamente controlados pelo genoma. Complementando, Judd et al. (2002) comentam que a distribuição e a forma das células mesofilicas, assim como a presença ou ausência de espaços intercelulares podem ser utilizadas como características de diagnóstico.

Sabe-se, entretanto, que a quantidade de tecido fundamental do mesofilo, a altura do parênquima paliçádico e a compactação do parênquima lacunoso não são úteis para fins de diagnóstico, uma vez que sofrem influencias de fatores tais como intensidade luminosa, disponibilidade de água do solo, umidade atmosférica e posição da folha na planta, conforme consideram Esau (1974) e Raven (2001).

O contexto acima, descreve que as definições de cavidade, canal e ducto secretores dependem da concepção de cada autor e/ou pesquisador, visto que não seguem um padrão de natureza anatômica descritiva e mensurativa. Por isso, optou-se neste estudo em se utilizar a denominação geral, estrutura secretora interna, uma vez que em secção transversal, pode ser chamadas de cavidades e, em secção longitudinal, de canais, ductos ou, ainda, de cavidades tubulares consoante anteriormente discutido.

Entretanto, Turner et al., (1998) e Turner (1999) ressaltam que, independentemente da origem, as cavidades e os canais são, muitas vezes, artefatos de uma preparação

inapropriada da amostra. Os autores seguem comentando que a aparência lisígena das glândulas de *Citrus limon* (L.) Burm. f. (Rutaceae), frequentemente citadas nos livros textos como sendo cavidades lisígenas em virtude das características estruturais, constitui, na verdade, um artefato de fixação da amostra causado pela turgescência osmótica das células glandulares quanto imersas em solução hipotônica. Como consequência, há uma ruptura celular levando a falsa impressão de que a autólise segue a maturação, por isso denominado de processo lisígeno por alguns pesquisadores.

Para Solereder (1908) e Metcalfe e Chalk (1957), as estruturas descritas na literatura são como manchas translúcidas e como cavidades delimitadas por células secretoras, contendo óleos, estando presentes também em outras espécies da família Rutaceae. As cavidades secretoras encontradas nas espécies estudadas são do tipo lisígena, pois existe rompimento das células que compõem a estrutura para a formação do lume.

Os dados encontrados no presente trabalho contrariam as informações encontradas na literatura referente à família e ao gênero. Como não corroboram com os dados encontrados por Ogundipe (2002) que verificou a presença de cavidades secretoras de óleo de origem esquizógena, no mesófilo e foi observada nas onze espécies estudadas pelo referido pesquisador. As cavidades secretoras são referidas na literatura como manchas translúcidas em folhas de rutáceas.

Em microscopia de luz, foi percebido que entre as células epidérmicas a existência de tricomas constituídos analogicamente por: “pé” sendo constituído por células diminutas e indiferenciadas, estando incrustado entre as células epidérmicas da face adaxial, além de “pescoço” constituído por duas células, sendo a região intermediária responsável por fazer a conexão com a “cabeça multicelular”, essa estrutura foi revestida por cutícula espessa. Sendo composta por cutícula basal formada por células diminutas, cutícula mediana e cutícula apical, que possui como revestimento uma cutícula conspícua (Figura 6 C).

Além disto, foi observado em microscopia de contraste de fase, que os complexos estomáticos estavam distribuídos ao acaso no limbo foliolar. E mais especificamente, na face abaxial, caracterizando a folha como hipostomática e classificando o arranjo estomático como anomocítico; foi diagnosticado no estudo, a ocorrência de cavidade subestomática (Figura 6 D).

Percebeu-se durante as análises que na região mesofilica e mais especificamente, no tecido lacunoso foi detectada a presença de macroesclereídeos (na região paliádica), e de feixes vasculares que estão envolvidos por bainha de esclerênquima, e este revestido por bainha parenquimática. Não sendo comum esse tipo de arranjo na família Rutáceae, pois

esse tipo de arranjo é comum na família Bignoniaceae, o que a literatura descreve como estruturas anômolas (Figura 6 E).

Em MEV, foi detectado a ocorrência de tricomas tectores de aspecto alongado, revestidos por cutícula ornamentada, além da presença de deposição vasta camada de cera, que apresentam estriações visíveis, estando localizadas próximas às células-guardas (Figura 7 A-B). Solereder (1908) descreve que para a família Rutáceae, há variados tipos de tricomas, dentre eles destacam-se, os tricomas tectores estrelados e tricomas glandulares. Porém, no referido estudo foram encontrados tricomas do tipo glandular e tector filiforme.

Metcalf e Chalk (1950) classificam como tricoma estrelado qualquer tricoma não glandular e ramificado. Muitas vezes, os tipos fasciculados, multirradiados e dendríticos são denominados indistintamente como estrelados. De acordo com Larcher (2001), a densa cobertura de tricomas sobre a superfície da folha age como um filtro capaz de modificar a radiação direta em luz difusa e aumentar a reflexão da mesma, minimizando assim o efeito da radiação intensa nos tecidos fotossintetizantes.

De acordo Wardleworth (1893), em *Pilocarpus microphyllus*, os tricomas são do tipo estrelados. Enquanto que os estudos de Kaastra (1982) afirmam os tricomas como do tipo tectores. Segundo Werker (2000), os tricomas tectores densamente distribuídos em folhas podem servir como uma barreira mecânica contra temperaturas extremas, alta intensidade luminosa, perda excessiva de água, entre outros fatores.

Os tricomas glandulares são descritos para os órgãos vegetativos como predominantes em folhas, havendo poucas espécies que possuem esse tipo de tricoma em caule (PAULA;ALVES, 1973).

Várias interpretações têm sido feitas para tentar explicar a presença de estômatos em ambas as superfícies foliares, embora com poucos esclarecimentos a respeito. Cutter (2002) considera que folhas anfiestomáticas e hipoestomáticas são características de plantas que crescem em ambientes mesofíticos. Para Esau (1985), proporciona maior frequência estomática na face abaxial. Porém, Menezes (1984) estudando espécies de Velloziaceae, demonstrou que plantas crescendo numa mesma pedra, sob as mesmas condições climáticas, podem apresentar estômatos restritos às fendas da superfície abaxial ou em ambas as faces, no mesmo nível das demais células epidérmicas, o que representaria uma situação derivada por estar relacionada a mecanismos fisiológicos de retenção de água mais eficientes.

Segundo Kundu e Tigerstedt (1998) a distribuição dos estômatos na face abaxial pode representar proteção contra as condições microambientais, como temperatura mais elevada na face adaxial e o grau de umidade, que é maior na face abaxial.

Para Cutter (2002) as folhas hipoestomáticas possuem características de plantas que crescem em ambientes mesofíticos. Porém, na espécie em estudo, as características das folhas hipoestomáticas, possibilitam concordar com os trabalhos da autora supracitada. Em relação à cera epicuticular, observada em *Pilocarpus microphyllus*.

Metcalf e Chalk (1979) relataram que a forma da cera epicuticular constitui uma característica adicional útil ao diagnóstico taxonômico, já que a mesma permanece constante independente de mudanças da morfologia foliar. Entretanto, para alcançar o referido diagnóstico seria necessário um estudo detalhado com outras espécies de *Microphylus*, o que poderia ou não permitir a utilização em taxonomia.

Embora os estômatos típicos de Rutaceae sejam do tipo paracítico, nas folhas de *Citrus limettoides* foram observados estômatos anomocíticos, também relatados nas espécies *R. echinata* (ARIOLI et al., 2008), *Pilocarpus microphyllus* Stapf (OLIVEIRA et al., 1996), *Spiranthera odoratissima* A. St-Hill e *Citrus sinensis*, integrantes dessa família.

Do ponto de vista fisiológico, Gates (1968) considera que uma cobertura de cera, dentre outros fatores, confere resistência à difusão do vapor d'água do mesófilo para o ambiente externo, atuando de forma efetiva no controle da transpiração exercida pela cutícula. Para a espécie estudada, nada há descrito mesmo em hábitos diferenciados.

Esaú (1974) e Cutter (2002) afirmaram que os depósitos de cera epicuticular parecem não desempenhar papel importante na redução da transpiração, mas afetam o grau de umidade da superfície. Para Rentschler (1974), densas coberturas de cera sobre os estômatos diminuem drasticamente a perda de água pelas folhas. Desta maneira, os depósitos de cera epicuticular verificados sobre as superfícies da *Pilocarpus microphyllus* podem estar relacionados com a resistência à transpiração e desidratação foliares. Com relação à ornamentação cuticular, Metcalf e Chalk (1979) verificaram que cutícula estriada ocorre na maioria das espécies de ambiente xérico ou em folhas de sol e cutícula lisa nas espécies mesófitas, hidrófitas ou em folhas de sombra.

No entanto, Vieira e Gomes (1995) ao estudarem a superfície foliar de quatro espécies de *Microphylus*, encontraram cutícula lisa e estriada em folhas de sombra. Já Mantovani et al., (1995) observaram estriações na cutícula foliar de duas espécies de Rutaceas provenientes de ambiente mesofítico. O exposto permite inferir que os fatores ambientais podem ou não influenciar os padrões de ornamentação cuticular, por isso são considerados por Stace (1965) de valor adicional à anatomia taxonômica.

Pela microscopia eletrônica de varredura, verificou-se que nas amostras avaliadas da espécie, a posição da margem foi do tipo fletida ou involuta, ou seja, voltada para baixo

(Figura 7 C). Além disso, foi notado que na região abaxial houve a presença de amido, diagnosticado durante estudos microquímicos (Figuras 8 A-B).

Foi registrado em microscopia de luz, nas secções transversais da nervura central, que as células epidérmicas adaxiais mostraram-se retangulares, e maiores que as células das abaxiais, formando um único estrato de células. E que a região ventral classificada como côncava e a dorsal convexa (Figura 8 C).

Além disto, foi detectado que na face abaxial as células apresentaram aspecto papilóide, com paredes anticlinais e periclinais externas, recobertas por uma delgada cutícula estriada, e adjacente a ambas às epidermes foram encontradas de 1 a 4 camadas de células colenquimáticas com espessamento anelar (Figura 8 D).

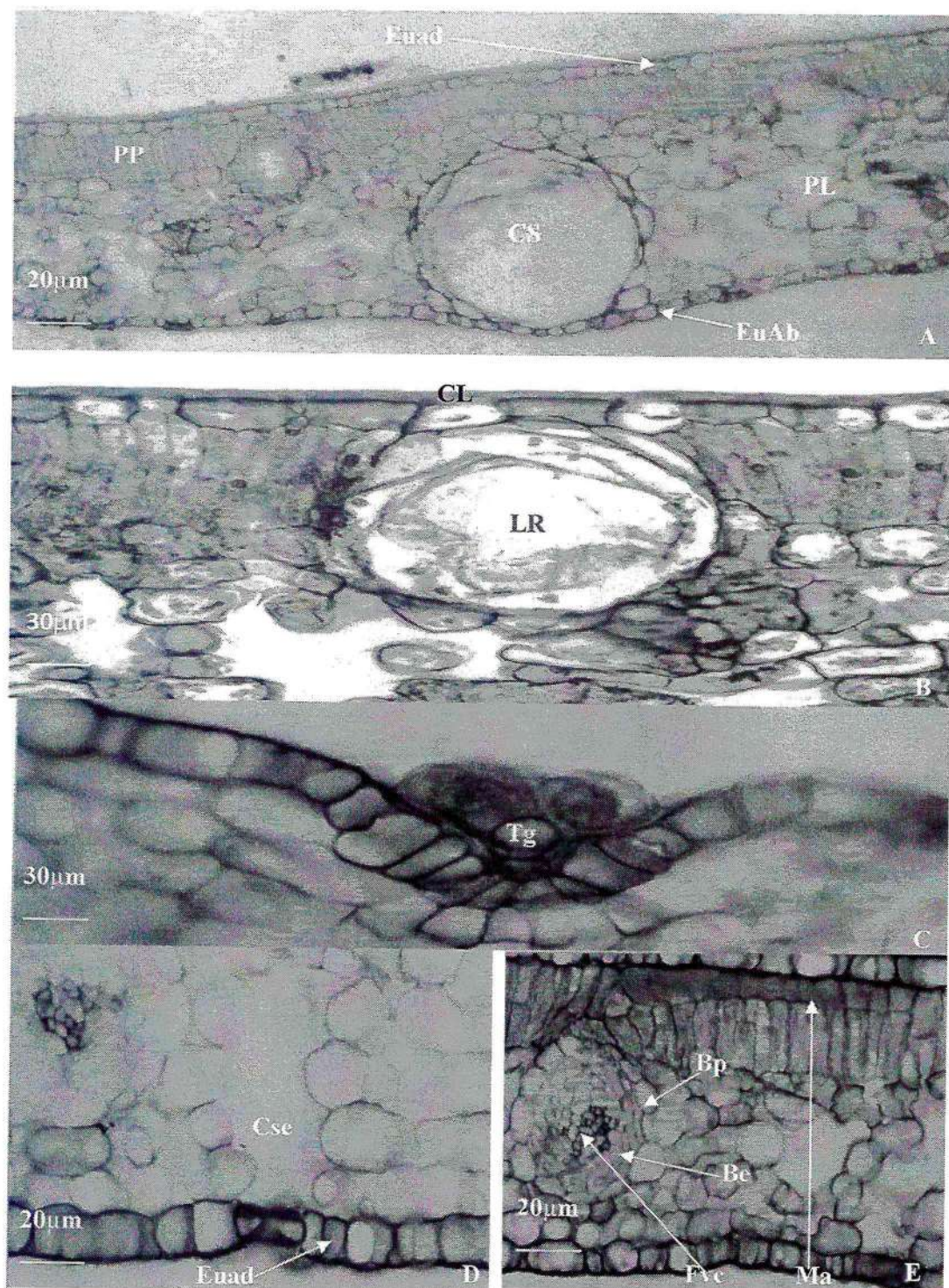


Figura 6. Fotomicrografia da lâmina foliolar envolvendo a epiderme adaxial de *Pilocarpus microphyllus* - **A**: microscopia de luz das epidermes uniestratificada-estriada (Euad e Euab), cutícula lisa (CL), cavidade secretora (CS), detalhe do parênquima paliçádico (PP) e parênquima lacunoso (PL), **B**: detalhe da cavidade secretora com lúmen reduzido (LR), **C**: tricoma glandular (Tg) em microscopia óptica com “pé”, “base” e “cabeça”, **D**: tecido lacunoso, cavidade subestomática (Cse) e epiderme adaxial (Euad), **E**: feixe vascular (Fvc) envolto com bainha parenquimática (Bp) e esclerenquimática (Be), presença de macroesclereídeo (Ma).



Figura 7. **A:** vista frontal em MEV, do tricoma unicelular tector ornamentado e recoberto por cera (TT), **B:** vista frontal de estômatos e póro (Po) com depósito de ceras estriadas (Ce), camada de cera conspícua (CCC) e **C:** corte transversal da lâmina foliolar demonstrando a margem involuta (MI).

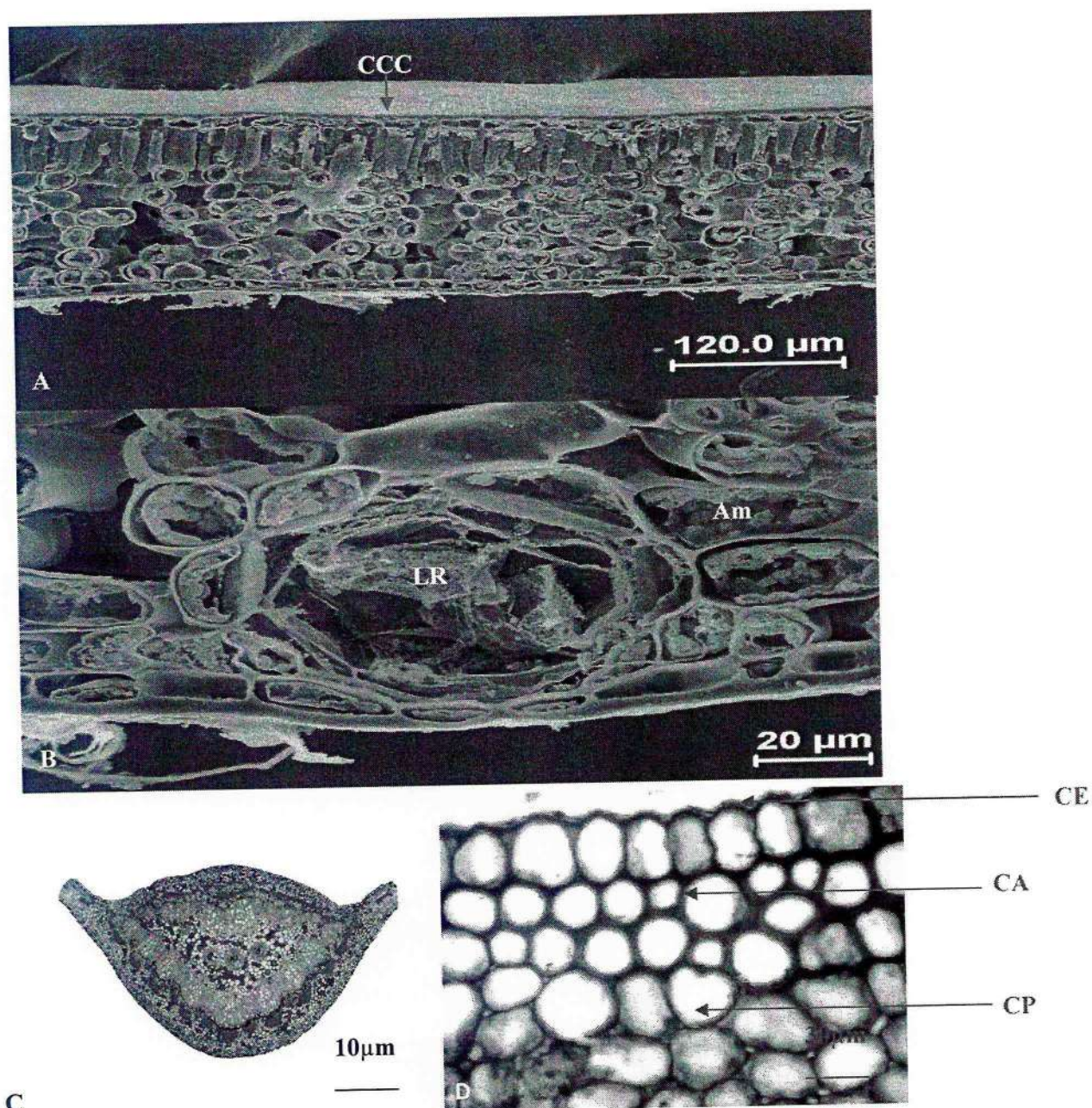


Figura 8. Corte transversal da lâmina foliolar de *Pilocarpus microphyllus*, A: MEV do mesofilo observação das cavidades secretoras ao longo da face abaxial, B: cavidades secretoras com lúmen reduzido (LR) e amido (Am), camada de cera conspicua (CCC), C: visão geral da nervura central, D: detalhe da camada uniestratificada com cutícula estriada (CE), colênquima do tipo anelar (CA) e células parenquimáticas.(CP).

4 CONCLUSÕES

As características morfológicas dos dez acessos de jaborandi, apresentam conformidade a família Rutacea. Entretanto, existem várias especificidades morfológicas para os caracteres qualitativos e quantitativos, além dos anatômicos, para a espécie em estudo, destacando-se:

Os caracteres qualitativos podem ser utilizados para diferenciação dos acessos, destacando-se principalmente: forma da folha, base foliar e ápice foliar.

Os quatro caracteres quantitativos são de suma importância na caracterização do germoplasma de jaborandi, devido disponibilizarem informações primordiais para o melhoramento genético, e devem compor uma listagem mínima de descritores espécie em estudo, sendo complementados pelos três caracteres qualitativos.

A divergência fenotípica detectada entre os acessos, demonstram o potencial para uso em programas de melhoramento genético. Os métodos de agrupamento de Tocher e do UPGMA possuem concordância na separação dos acessos, sendo parcialmente concordante pelo PCA.

A utilização de técnicas morfoanatômicas contribuem de maneira positiva, para a caracterização de estruturas que compõem os órgãos vegetativos, que podem ser utilizados como futuros caracteres de diferenciação entre as espécies ou espécimes.

REFERÊNCIAS

- AGAREZ, F.V., PEREIRA, C., RIZZINI, C. M. **Botânica: taxonomia, morfologia e reprodução dos Angiospermae**: chaves para determinação das famílias. 2ª ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 1994. 256p.
- AMARAL, JÚNIOR, A.T.; THIÉBAUT, J.T.L. **Análise multivariada na avaliação da diversidade em recursos genéticos vegetais**. Campos dos Goytacazes - Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, CCTA, 55 p.1999.
- ARRIEL, N. H. C.; VIEIRA, D. J.; ARRIEL, E. F.; PEREIRA, J. R.; COSTA, I.T. Correlações genéticas e fenotípicas e herdabilidade em genótipos de gergelim (*Sesamum indicum* L.). **Revista de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 3, n.3, 1999.
- ARRIEL, N. H. C.; MAURO, A. O. D.; MAURO, S. M. Z. D.; BAKKE, O. A.; UNÊDATREVISOLI, S. H.; COSTA, M. M.; CAPELOTO, A.; CORRADO, A. R. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p.801-809, 2006.
- ARIOLI, T.; VOLTOLINI, C. H.; SANTOS. Morfoanatomia foliar da reófito *Raulinoa echinata* R.S. Cowan -Rutaceae, **Acta Botânica Brasilica**, v.22, n.3, p.723-732, 2008.
- ASMUS, G. L. Reação de genótipos de soja ao nematóide reniforme. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 1, p. 69-71, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762008000100012>.
- BEEBE, D.U.; EVERT, R. F. The morphology and anatomy of the leaf of *Moricandia arvensis* (L.) DC. (Brassicaceae). **Botanical Gazette**, v. 151, n.2, p. 184-203, 1990.
- BELLON, G.; FALEIRO, G. F.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, K. P.; JUNQUEIRA N. T. V.; FONSCECA, K. G. ; BRAGA, M. F. Variabilidade genética de acessos obtidos de populações cultivadas e silvestres de maracujazeiro-doce com base em marcadores rapd. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 31, n. 1, p.197-202, março 2009.
- BIANCHETTI, L. B. **Aspectos morfológicos, ecológicos e biogeográficos de dez táxons de Capsicum (Solanaceae) ocorrentes no Brasil**. 1996. 174f. Tese (Mestrado em Botânica) - Curso de Pós-graduação em Botânica, Universidade de Brasília.
- BORGES, R. M. E. et al. Phenotypic divergence among wine grape accessions in the semi-arid region of Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.10, n.3, p.260-265, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cbab/v10n3/a12v10n3.pdf>>. Acesso em: 12 fev.2015. doi: 10.1590/S1984-70332010000300012.
- BOZZOLA, J. J.; RUSSEL, L. D. **Electron microscopy: principles and techniques for biologists**. New York: Jones and Barlett Publishers, 1991, 452p.
- BRAGA, M. Anatomia foliar de Bromeliaceae da Campina. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 7, n.3, p.1-74 (Suplemento), 1977.
- CARLQUIST. **Comparative plant anatomy. A guide to taxonomic and evolutionary application of anatomical data in angiosperms**. New York. Holt, Rinehart and Winston, 1962, 143p.
- CARVALHO, L. P.; LANZA, M. A.; FALLIERI, J.; SANTOS, J. W. Análise da diversidade genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.10, p.1149-1155, 2003.
- CASTRO, A. A. J. F. **Morfologia e sistemática vegetal: roteiros teóricos e práticos**. Teresina: reprodução particular, 2006.
- COSTA, N. H. A. D.; SERAPHIN, J. C.; ZIMMERMANN, F. J. P. Novo método de classificação de coeficientes de variação para a cultura do arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.3, 2002.
- COSTA, F. G. **Extrativismo de jaborandi na região de Carajás: histórico, situação atual e perspectivas**. Lavras: Ufla, Monografia. 2005, 41p.

- COSTA, M. N.; PEREIRA, W. E.; BRUNO, R. L. A.; FREIRE, E. C.; NÓBREGA, M. B. M.; MILANI M.; OLIVEIRA, A. P. **Divergência genética entre acessos e cultivares de mamoneira por meio, de estatística multivariada.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, n. 41, p.617- 622, 2006.
- COSTA, J. L., JESUS, O. N. DE, ALVARENGA, G., OLIVEIRA, F., OLIVEIRA, E. J. Effect of selection on genetic variability in yellow passion fruit. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, n. 12, p.253-260, 2012.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, 1994. 390p.
- CUTLER, D. F. **Applied plant anatomy.** London: Longman, 1978. 103p.
- CUTLER, D. F. **Applied plant anatomy.** London: Longman, 1986. 103p.
- CUTTER, E. G. **Anatomia Vegetal.** Parte I - Células e tecidos. 2. ed. São Paulo: Roca, 2002. 304p.
- CHURATA, B. G. M.; AYALA-OSUNA, J. T. Correlações genotípicas, fenotípicas e de ambiente e análise de trilha em caracteres avaliados no composto de milho (*Zea mays*) arquitetura. **Ciências Prática**, v.43, n.249, 1996.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of the classification of flowering plants.** New York: Columbia University Press, 1981. p.1082-1086.
- DANNENHOFFER, J. M.; EVERT, R. F. Development of the vascular system in the leaf of barley (*Hordeum vulgare* L.). **International Journal of Plant Science**, v. 155, n.2, p. 143-157, 1994.
- DANNENHOFFER, J. M.; EBERT JR., W.; EVERT, R. F. Leaf vasculature in barley, *Hordeum vulgare* (Poaceae). **American Journal of Botany**, v. 77, n.5, p. 636-652, 1990.
- DENGLER, N. G. 1. The influence of light on leaf development. In: IQBAL, M. (Ed.). **Growth patterns in vascular plants.** Oregon: Dioscorides Press, 1994, p.100-136.
- DENGLER, N.; KANG, J. Vascular patterning and leaf shape. **Current Opinion in Plant Biology** 4: 50-56, 2001.
- ESAU, K. **Anatomia das Plantas com sementes.** Edgard Blucher, São Paulo. 1974.
- ESAU, K. **Anatomia vegetal.** 3 rd ed. Omega, Barcelona, 1985.
- FELIPE, G. M.; ALENCASTRO, F. M. Contribuição ao estudo da venação foliar das Compostas dos cerrados. 1. Tribos Hilinieae, Heliantheae, Inuleae, Mutisiaeae e Secioneaeae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências.** Rio de Janeiro. v. 38, p. 125-158 (Suplemento), 1966.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar:** sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.1 Build 72. Lavras: DEX/ UFLA, 2007.
- FUKUDA, W. M. G.; GUEVARA, C. L. **Descritores Morfológicos e Agronômicos para a Caracterização de Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).** Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, 1998, 38p.
- GATES, D. M. Transpiration and leaf temperature. **Annual Review Plant Physiology**, v.19, p.211-238, 1968.
- GOMES, D. M. **Variabilidade fenotípica de caracteres vegetativos e reprodutivos em população de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth),** Dissertação (Mestrado), Unicamp, Campinas – SP, 2007.
- GONÇALVES, L. S. A; RODRIGUES, R; AMARAL, JUNIOR, A. T; KARASAWA, M; SUDRÉ, C. P. Comparison of multivariate statistical algorithms to cluster tomato heirloom accessions. **Genetics and Molecular Research**, n. 7, p. 1289-1297, 2008.
- HANDRO, W. Contribuição ao estudo da venação foliar das Amarantáceas dos cerrados. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 36, n.4, p. 479-499, 1964.
- HYCKEY, L. J. Classificación de la arquitectura de las hojas de dicotiledóneas. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v.16, n.1-2, p.1-16, 1974.

- JEWELL, F. F. Softening slash pine tissues for serial sectioning. **Stain Technology**, v. 33, n. 4, p. 191-192, 1958. JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. 2th ed. New York: McGraw-Hill, 1940, 523p.
- JOLY, A. B. **Botânica; introdução à taxonomia vegetal**. 4 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1977, 777p.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer Associates, 2002, 576p.
- KAASTRA, R. C. Pilocarpinæ. Fl. **Neotrop**, n. 33, p. 1-200, 1982.
- KARASAWA, M.; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C.P.; SILVA, M.P.; RIVA, E.M.; AMARAL JÚNIOR, A.T. Aplicação de métodos de agrupamento na quantificação da divergência genética entre acessos de tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n.4, p. 1000-1005, out-dez, 2005.
- KUNDU, S. K.; TIGERSTEDT, P. M. A. Variation in net photosynthesis, stomatal characteristics, leaf area and whole plant phytomass production among ten provenances of neem (*Azadirachta indica*). **Tree Physiology**, n.19, p.47-52, 1998.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2001, 531p.
- LIMA, E. D. P. de A.; LIMA, C. A. de A.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. J. S. Caracterização física e química dos frutos da umbu-cajazeira (*Spondias* sp.) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n.2, p.338-343, 2002.
- LIMA, P. S. G. **Divergência genética e efeito do nitrogênio total no crescimento in vitro de ipeca**, 2002, 83p, Dissertação de Mestrado, Universidade de Lavras Minas Gerais.
- MANTOVANI, A.; GOMES, M.; GOMES, D. M. S.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Rudgea decipiens* Müll. Arg. (Rubiaceae) e *R. macrophylla* Benth. (Rubiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.9, n.2, p. 247-261, 1995.
- MARTINS, F. A. **Integração de dados morfoagronômicos, moleculares e fitopatológicos para estabelecimento de coleção nuclear**. Tese doutorado, UFV, Viçosa-MG, 2011. 119f.
- MATSUO, E. et al. Análise de repetibilidade da ocorrência de oídio em genótipos de soja. **Bioscience Journal**, v. 25, n.2, p.87-98, 2009. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/viewArticle/6865>>. Acesso em: 12 fev.2015.
- MENEZES, N. L. et al. (Eds.) **Anatomia vegetal**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003, p.303-311.
- MERCK. **Index Merck. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals**. Susan Budavari, 1989. Ed., Merck & Co.; Rahway, New Jersey.
- METCALFE, C. R.; CHALK. L. **Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses**, 1950, vol 1. Oxford: Clarendon Press.
- METCALFE, C. R.; CHALK. L. **Anatomy of the Dicotyledons**, 1957, vol 1, Oxford.
- METCALFE, C.R.; CHALK. L. **Anatomy of the Dicotyledons**. 1979. 2.ed. v.1. Oxford: Editora Clarendon Press.
- MOURA, E. F. **Divergência genética entre acessos de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*)**. 2003. 75 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MCCAULEY, M.M.; EVERT, R. F. Morphology and vasculature of leaf of potato (*Solanum tuberosum*). **American Journal of Botany**, v. 75, n. 3, p. 377-390, 1988.
- MCDOWELL, A.; TRUMP, F. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Arch. Pathol Lab. Med.** 1976, p. 405-414.
- NEGREIROS, J. R. da S.; ÁLVARES, V. de S.; BRUCKNER, C. H.; MORGADO, M.A.D.; CRUZ, C.D. Relação entre características físicas e o rendimento de polpa de maracujá-

- amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p.546-549, 2007.
- NEITZKE, R. S. **Caracterização morfológica e distância genética entre variedades de pimentas**. 2008. 59f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas, RS, 2008.
- NOGUEIRA, A. P. O. et al. Novas características para diferenciação de cultivares de soja pela análise discriminante. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p.2427-2433, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782008000900003&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 12 fev. 2015 doi: 10.1590/S0103-84782008005000025.
- OGUNDIPE, O. Leaf anatomical studies on eleven species of *Zanthoxylum* Linn. (Rutaceae), **Phytomorphology**, v. 52, n.2 -3, p.103-112, 2002.
- PAULA, J. E.; ALVES, J. L. H. Anatomia de *Anacardium spruceanum* Benth. ex Engl. (Anacardiaceae da Amazônia). **Acta Amazonica**, n. 3, p. 39-53, 1973.
- PARKHURST, D. F.; LOUCKS, O. L. Optimal leaf size in relation to environment. **Journal of Ecology**, v. 60, n 2, p. 505-537, 1972.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. São Paulo: Nobel, 2009, 467p.
- PURVIS, M. J.; COLLIER, D. C.; WALLS, D. **Laboratory techniques in botany**. London: Butterworths, 1964, p.152.
- OLIVEIRA, F. SAITO, M. L, GARCIA, O. L. Caracterização cromatográfica em camada delgada do extrato fluido de guaco - *Mikania glom.erata* Sprengel. **Lecta-USF**, n. 11,p. 43-55, 1993.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 412p, 1996.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 6ª ed. Guanabara: Koogan S. A. P., 2001, p. 412-435.
- REIS, A. M. M. Distribuição da variabilidade genética em aroeira por marcadores RAPD e Polimorfismo de sequência cpDNA, 1999, 60p, Dissertação de Mestrado ESALQ.
- RENTSCHLER, I. Elektronenmikroskopische untersuchungen an wachstüberdeckten spaltöffnungen. **Planta**, n.117, p. 153-161, 1974.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v. 41, p. 2, p. 237-245, 1981.
- SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the dicotyledons**, 1980. Vol. 1, Oxford.
- STACE, C. A. Cuticular studies as an aid to plant anatomy. **Bulletin of the British Museum (Natural History) Botany**, v.4 , n.1, p. 1-83, 1965.
- TOMLINSON, P. B. **The structural biology of palms**. New York: Oxford University Press, 1990. 477p.
- TURNER, G. W.; BERRY, A. M.; GIFFORD, E. M. Schizogenous secretory cavities of *Citrus limon* (L.) Burm. f. and a reevaluation of the lysigenous gland concept. **International Journal of Plant Science**, n.159, p. 75-78, 1998.
- TURNER, G. W. A brief history of the lysigenous gland hypothesis. **Botanical Review**, n. 65, p. 76-88. 1999.
- WARDLEWORTH, Th. H. A new species of Jaborandi. *Pilocarpus microphyllus* Stapf. **Pharm. J. Trans.** Ser. 3, n. 24, 506 p, 1893.
- WERKER, E. Trichome diversity and development. In: HALLAHAN, D.L.; GRAY, J.C. **Plant Trichomes**. London: Academic, 2000, p.1-30.
- VIANA, A.P., PEREIRA, T.N.S., PEREIRA, M.G., SOUZA, M.M., MALDONADO, J.F.M., AMARAL, A.T., JR. Genetic diversity among yellow passion fruit commercial genotypes and among passiflora species using RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, p. 489-493, 2003.
- VIEIRA, R. C.; GOMES, D. M. S. Superfície da lâmina foliar de *Psychotria nuda* (Cham.&

Schltdl.) Wawra, *P. leiocarpa* Cham. & Schltdl., *P. stenocalyx* Müll. Arg. e *P. tenuinervis* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 9, n.2, p. 263-270, 1995.

Capítulo 3: CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOANATÔMICA EM ACESSOS DE *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L. B.

Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliacea.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo caracterizar e avaliar utilizando os caracteres morfológicos e descrever a morfoanatomia da lâmina foliar, de acessos *Ananas comosus* var. *erectifolius*. Foram selecionados ao Amazônia acaso, dez acessos de curauá e nove plantas por acaso, no banco de germoplasma da Embrapa Amazônia oriental para a caracterização de 16 caracteres qualitativos e avaliação de três quantitativos. Os dados foram organizados em planilha do Excel e confeccionados gráficos com a porcentagem de ocorrência para os caracteres qualitativos e os três quantitativos foram submetidos a análise de variância uni e multivariada no programa GENES. Dos 16 caracteres qualitativos, quatro apresentaram variações fenotípicas: a cor da folha apical, da epiderme e da nervura e a presença de espinhos. Sendo que os três primeiros expressaram as mesmas porcentagens, ou seja, 83,3% verde claro e 16,7% roxo. Em relação, a presença foi de 80% das plantas exibiram espinhos e 20% foram inermes. Os acessos diferiram para dois caracteres quantitativos; altura da planta e comprimento da folha. As dissimilaridades genéticas variaram de 0,296 a 2,530 entre os acessos e permitiram a formação de dois grupos divergentes com dois subgrupos e quatro grupos pelos métodos de UPGMA, Tocher e PCA, expressando considerável divergência. Em relação a anatomia, as amostras foram submetidas a fixação, conservação, desidratação, hidratação e cortes para montagem de lâminas para estudo de venação e MEV. Sendo verificado: a presença de calotas fibrosas localizadas na região abaxial, depósito de camadas de ceras conspícua em ambas as faces; não há uma uniformidade de distribuição das estruturas secretoras, embora ocorra à maior concentração na base e na epiderme abaxial das folhas nas amostras. Os cristais são do tipo ráfides; a cera epicuticular ocorre com maior incidência na epiderme adaxial sobre as células-guarda dos estômatos paracítico; as características descritas poderão ser utilizadas como fatores de diferenciações taxonômicas que poderão subsidiar a identificação de diferentes táxons de *Ananas*.

Palavras-chaves: plantas aromáticas, distâncias Euclidianas, Amazônia, anatomia, PCA, Tocher, agrupamentos, divergência.

**Chapter 3: CHARACTERISTICS AND MORPHOLOGICAL EVALUATION OF
ACCESS BLADE OF LEAF AND MORPHOANATOMY *Ananas comosus* var.
erectifolius (LB Smith) F. Coppens & Leal-Bromeliacea, PRESERVED IN THE
GERMPLASM BANK**

ABSTRACT

This study aimed to characterize and evaluate using morphological characters and describe morphoanatomy leaf blade, *Ananas comosus* var access. *erectifolius*. They were selected to Amazon chance ten hits curauá nine plants by chance in the germplasm bank of Embrapa Amazônia Oriental for the characterization of 16 qualitative characters and evaluation of three quantitative. Data were organized in Excel spreadsheet and graphics made with the percentage of occurrence for the qualitative characters and three quantitative were subjected to univariate and multivariate analysis of variance in GENES program. Of the 16 qualitative characters, four had the phenotypic changes: the color of the apical leaf epidermis and vein, and the presence of thorns. Since the three expressed the same percentages, that is, 83.3% and 16.7% light green purple. Referring presence was 80% of the plants showed 20% and thorns were unarmed. Accesses differ for two quantitative traits; plant height and leaf length. The genetic dissimilarities varied from 0.296 to 2.530 between access and allowed the formation of two different groups with two subgroups and four groups by the methods of UPGMA, Tocher and PCA, expressing considerable divergence. Regarding the anatomy, the samples were subjected to fixation, preservation, dehydration, hydration and cut for mounting blades and SEM study venation. It is checked: the presence of fibrous caps located in the abaxial region storage layers conspicuous wax on both sides; there is a uniformity of distribution of secretory structures, although it occurs to a higher concentration in the base and on abaxial epidermis of folhhas the samples. The crystals are the raphides type; the epicuticular wax occurs with higher incidence in the adaxial epidermis of the guard cells of stomata paracitic; your criteria may be used as taxonomic differentiation factors that may lead to the identification of different taxa of *Ananas*.

Keywords: herbs, Euclidean distances, Amazon, anatomy, PCA, Tocher, groupings

1 INTRODUÇÃO

Ananas comosus var. *erectifolius* (L.B. Smith) Coppens & F. Leal-Bromeliaceae, conhecida por curauá, é uma espécie vegetal pertencente à família das Bromeliáceas, de porte herbáceo, muito comum na Amazônia, e que apresenta duas variedades: a roxa e a branca, cuja folha é aproveitada para a produção de fibra no estado do Pará (ROCHA et. al., 2003; RAMALHO, 2005). A crescente demanda por fibras do curauá por grupos empresariais a torna uma espécie estratégica, criando perspectivas socioambientais do seu uso. O grande problema é que não há suprimento suficiente de matéria-prima para atender à indústria automobilística, que pretende substituir a fibra de vidro, pelas fibras do curauá, na fabricação de peças como pára choque, painel e friso de carros de passeio e de transporte (SILVA, 2004). Uma das formas de viabilizar seu uso, é por meio da caracterização e avaliação de acessos disponíveis em banco e coleções dessa espécie. Mas, pouco ou quase nada tem sido feito neste sentido.

Ressalta-se também que, pouco se sabe sobre a anatomia de órgãos vegetativos de plantas micropropagadas, como são afetadas pelas condições ambientais de cultivo ou como a anatomia de plantas transplantadas é modificada durante a aclimatização antes de serem levadas para ambientes de campo. E tão pouco sobre os caracteres morfoagronômicos, pelos quais essa espécie é utilizada no campo, em sistemas agroflorestais. Frequentemente, esses tipos de plantas são afetadas por excessiva presença de fatores do meio de cultura que conduzem à degeneração metabólica e morfológica (KOZAI; KITAYA, 1995).

A anatomia interna e a ultraestrutura das plantas regeneradas *in vitro* são, geralmente, diferentes daquelas crescidas em casa de vegetação ou em campo (WETZSTEIN et al., 1981). Comparativamente às plantas desenvolvidas *in vitro*, em geral, apresentam-se pouco lignificadas, com células de paredes pouco espessadas, com abundância de espaços intercelulares, sistema vascular pouco desenvolvido e reduzida quantidade de tecidos de sustentação (esclerênquima e colênquima) (DONNELLY et al., 1985), sujeitos a desordens morfológicas e fisiológicas (ZIV, 1986).

Gavilanes (1981) relata que pesquisas de anatomia foliar podem conduzir a soluções para problemas relacionados com a multiplicação, melhoramento e cultivo dos vegetais. Plantas que eventualmente possam vir a apresentar interesses econômicos carecem de pesquisas dessa natureza, como é o caso do curauá.

Em vista, de sua importância econômica e da carência de informações agronômicas, a Embrapa Amazônia Oriental realizou coletas e estabeleceu um banco de germoplasma, o BAG de curauá, instalado em Julho de 2001, em Belém-PA. Mas, os acessos conservados nesse banco têm sido pouco estudados, especialmente, em relação aos caracteres morfológicos e anatômicos.

Este trabalho tem como objetivos: caracterizar e avaliar os aspectos morfológicos, além de descrever a morfoanatomia da lâmina foliar em acessos de *Ananas comosus* var. *erectifolius*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O material botânico foi coletado no Horto de Plantas Aromáticas e Medicinais pertencentes a Embrapa Amazônia Oriental, localizado a $078^{\circ}43'42''$ S de latitude e $98^{\circ}40'862''$ W de longitude da sede dessa unidade, em Belém, PA. Onde se encontra o Banco ativo de germoplasma de curauá, BAG-curauá (Figura 9).



Figura 9. Vista geral do Banco ativo de Germoplasma de curauá (BAG) da Embrapa Amazônia Oriental, local de coleta de dados.

2.2 Coleta do material

Foram selecionados ao acaso dez acessos do BAG-curauá e nove plantas por acesso, totalizando 90 plantas para a coleta de dados morfológicos e morfoanatômicos. A identificação desses acessos se encontrará na Tabela 8.

Tabela 8. Identificação dos dez acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, e avaliados no estudo.

Acessos (n°)	Código dos acessos	Procedências
1	MB	Santarém, PA
2	AB	Santarém, PA
3	CB	Bragança, PA
4	TR	Santarém, PA
5	ER	Belém, PA
6	PB	Santarém, PA
7	PR	Santarém, PA
8	DB	Santarém, PA
9	TB	Ponta de Pedras, PA
10	EB	Bragança, PA

2.3 Caracterização e avaliação morfológica

Foram avaliados 19 caracteres nas 90 plantas, sendo 16 qualitativos e 3 quantitativos. Os caracteres qualitativos foram: cor da folha apical, cor da epiderme, cor da nervura, forma da folha, base foliar, ápice foliar, hábito, tipo de folha, filotaxia, tipo de margem, venação foliar, consistência da folha, tipo de inflorescência, cor da flor, tipo de infrutescência e presença ou ausência de espinho (Apêndice 2).

Os caracteres quantitativos avaliados foram: largura da folha-LFo (cm), comprimento da folha-cfo (cm) e altura da planta-ap (cm), as mensurações foram realizadas com auxílio de fitas métricas, paquímetros digitais e trenas graduados em centímetros.

Os dados obtidos foram organizados em planilha Excel, sendo os qualitativos expressos em porcentagem e os quantitativo submetidos as análises uni e multivariadas no programa estatístico GENES.

2.3.1 Análises estatísticas

A fim de verificar a existência de variabilidade genética entre os acessos para cada caráter, os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância univariada, pelo delineamento inteiramente casualizado, considerando 10 tratamentos (acessos) e nove repetições (plantas por acesso) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o *software* GENE, versão 5.0.

As análises multivariadas foram feitas com base na média de cada caráter por acesso. Para eliminar problemas com escala, utilizou-se a distância euclidiana média, calculada dos dados padronizados.

Na análise de Componente Principal (PCA-Principal Component Analysis), os dados foram pré-processados, além do auto escalonamento e os resultados demonstrados pelos gráficos dos escores e dos pesos, com duas componentes principais (PC) explicadas pelas suas variâncias.

Nas análises de agrupamentos foi utilizada a distância Euclidiana média como medida de dissimilaridade e na delimitação dos grupos foi utilizado o método hierárquico das médias das distâncias (UPGMA - *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic*) e também, o não hierárquico, o método de Tocher.

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2001), sendo os dados analisados por meio do seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

em que:

Y_{ij} : valor observado da parcela que recebeu o tratamento i (acesso) na repetição j (planta);

μ : média

t_i : efeito do tratamento i ;

e_{ij} : erro experimental associado à parcela que recebeu o tratamento i na repetição.

2.4 Caracterização morfoanatômica

Foram coletadas dez amostras pertencentes ao BAG - curauá, em dez acessos (Tabela 8). As amostras são cultivadas a pleno sol e com adubação orgânica.

O material coletado foi dividido em amostras para estudos anatômicos, sendo acondicionadas em recipientes contendo álcool 70% ou FAA, com a finalidade de conservação, fixação.

As folhas adultas foram seccionadas em região apical, basal, central, margem e intermediária. Em seguida, foram submetidas às etapas usuais de anatomia.

2.4.1 Secções histológicas

Secções histológicas transversais e longitudinais foram realizadas nas folhas adultas, utilizando-se de duas técnicas:

- a) Preparo de lâminas a fresco:** realizado com auxílio de lâmina de barbear, utilizando-se a cortiça como suporte. Em seguida, as secções foram clarificadas em solução aquosa de hipoclorito de sódio comercial na diluição de 1:1, até total despigmentação; lavadas com água destilada e coradas com azul de astra, fucsina básica 1% (BRAGA, 1977), e azul de metileno 1% (JOHANSEN, 1940). A montagem foi feita em glicerina aquosa 50% entre lâmina e lamínula, isolando-se os bordos da lamínula com esmalte incolor segundo Purvis et al., (1964).
- b) Secções com micrótomoto rotativo:** utilizadas para folhas adultas, devido ser região de grande rigidez. As amostras dessas regiões foram submetidas, previamente, ao amolecimento com solução de etilenodiamina 10% (CARLQUIST, 1962), mantidas em estufa a 55° C, por 24 horas. Após este período, as mesmas foram lavadas quatro vezes a cada 30 minutos em solução aquosa de glicerina 20%, até completa retirada do agente amolecedor. Posteriormente, seguiram-se as etapas de desidratação em série etanólica crescente, infiltração e inclusão em parafina (JOHANSEN, 1940). Os blocos de parafinas confeccionados foram desbastados na face a ser seccionada expondo o material incluído, com posterior imersão em solução de glicerina 10% por 24 horas (JEWELL, 1958). As secções seriadas de 20 µm foram distendidas em banho-maria a 40°C, em seguida depositadas por lâminas histológicas albuminadas e acondicionadas em estufas a 55°C por 24 horas. As secções foram desparafinadas pela série aceto-butílica e ou hidratadas pela série etanólica (JOHANSEN, 1940) decrescentes, posteriormente coradas com azul de Astra, fucsina básica 1% (BRAGA, 1977) e azul de metileno a 1% (JOHANSEN, 1940), seguindo-se a desidratação e pós-desidratação, de acordo com o mesmo autor, sendo montadas em bálsamo do Canadá, entre lâmina e lamínula.

2.5 Microscopia fotônica (MFO)

As lâminas foram fotomicrografadas com auxílio de câmera acoplada ao microscópio de luz modelo ZEISS nos laboratórios de Botânica e de Anatomia Vegetal do MPEG.

2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os órgãos vegetativos "*in natura*" foram fixados em solução de glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1M por 24h (McDOWELL; TRUMP, 1976). Posteriormente, este material foi lavado três vezes na mesma solução tampão, desidratando-se em série etanólica crescente e em seguida, foi substituído por CO₂ líquido (ponto crítico) (BOZZOLA; RUSSEL, 1991), sendo montado em suporte metalizado com ouro. As imagens foram obtidas no Laboratório Institucional de Microscopia eletrônica de Varredura do MPEG, utilizando um microscópio eletrônico LEO modelo 1450 VP.

2.7 Diafanização

Folhas adultas foram seccionadas nas regiões basal, mediana e apical. Em seguida, fixadas em solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 20% (ARNOTT, 1959). A solução foi trocada diariamente até a completa clarificação do material e lavada em água corrente para a retirada de resíduos e em seguida coradas em safranina hidro-alcoólica 5% (JOHANSEN, 1940), por 24 horas. Após essa etapa, o material foi desidratado pela série alcoólica crescente (50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%) e em uma série de solução alcoólica acetobutila 30%, 50%, 70% e 100% (KRAUS; ARDUIN, 1997). As folhas adultas inteiras foram montadas em resina sintética entre lâminas de vidro e o restante do material seccionado, foi montado em resina sintética, entre lâmina e lamínula. A análise da descrição da arquitetura foliar foi realizada segundo Handro (1964), Felipe e Alencastro (1966) e Hickey (1974).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização e avaliação morfológica

Dos dezesseis caracteres qualitativos observados apenas quatro apresentaram variações fenotípicas, sendo: a cor da folha apical, da epiderme e da nervura e presença de espinhos (Figura 10). Os três primeiros expressaram as mesmas porcentagens, ou seja, 83,3% verde claro e 16,7% roxo. Em relação aos espinhos, a variação foi de 80% das plantas com presença de espinhos e 20% inermes.

A morfologia da folha do curauá é do tipo linear com base revoluta, tendo o ápice do tipo agudo, hábito terrestre, com filotaxia espiralada, margem inteira lisa ou serrilhada, com venação do tipo paraleninérvia e de consistência coreácea. Foi percebido em suma, que essas características não sofreram variação em nenhum acesso, podendo serem excluídas como possíveis descritores (caracteres), assim como também, o tipo de inflorescência, cor da flor e tipo de infrutescência.

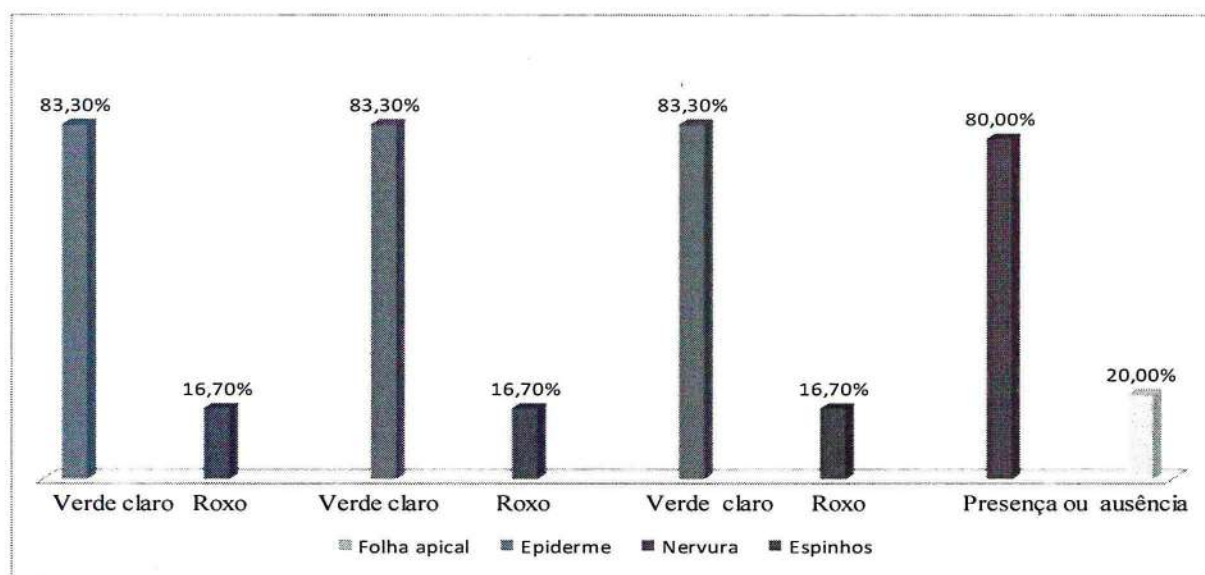


Figura 10. Porcentagens de ocorrência de variações fenotípicas para a cor da folha apical, da epiderme da nervura e da presença ou não de espinhos em 90 plantas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B.Smith) conservadas no BAG curauá, da Embrapa Amazônia Oriental.

Durante as análises foram diagnosticados que os estudos realizados por Vieira et al. (2010) demonstraram que o caráter qualitativo foi o que representou a menor variação entre os acessos, destacando-se: a espinescência, com 55% dos acessos com espinhos, 20% dos acessos com pouco espinho e 25% dos acessos com folhas sem espinhos.

O caráter borda do limbo foliar não apresentou variação e todos os acessos apresentaram a forma do limbo da folha adulta reta (VIEIRA et al., 2010). O que não foi observado no estudo em questão.

Com base nos resumos das análises de variâncias descritas na Tabela 9, percebeu-se que os acessos diferiram entre si, para os caracteres: altura da planta e comprimento da folha, ao nível de 1% e 5% de probabilidade respectivamente, sendo similares para a largura da folha. Os coeficientes não variam abruptamente apresentando de 44,18% a 46,53%. Foi diagnosticado durante o estudo, que o caráter que apresentou maior grau de variação foi a largura da folha 46,53, seguido do comprimento da folha com 44,42 e altura da planta com 44,18. Em média, os acessos apresentaram 65,1 cm de altura da planta, 62,1 cm para o comprimento da folha e 4,0 cm para largura da folha.

Tabela 9. Resumo das análises de variâncias obtidas para os caracteres quantitativos altura da planta, comprimento e largura da folha de dez acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Caracteres	Quadrados Médios		Média	CV (%)
	Acessos	Erro		
Altura da planta (cm)	3559,2457**	827,7556	65,1	44,18
Comprimento da folha (cm)	1730,3654*	740,1229	62,1	44,42
Largura da folha (cm)	3,6802 ^{ns}	3,5222	4,0	46,53

Pela comparação das médias notou-se basicamente a formação de dois grupos, quase similares para os caracteres AP e CFo, que diferiram apenas na classificação do acesso PR, procedente de Santarém (Tabela 10).

Tabela 10. Grupos formados pela comparação de médias dos 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, com base no teste de Scott e Knott.

Acessos	AP (cm)	CFo (cm)	LFo (cm)
TR	90,1 a	83,3 a	3,9 a
EB	85,4 a	74,0 a	4,0 a
ER	84,6 a	66,1 a	5,0 a
DB	84,4 a	67,3 a	4,1 a
PB	63,8 b	52,3 b	4,1 a
PR	62,6 b	75,4 a	4,2 a
CB	53,7 b	45,0 b	4,6 a
MB	46,9 b	43,3 b	3,2 a
TB	43,4 b	55,0 b	4,4 a
AB	36,3 b	50,6 b	2,8 a

As estimativas das dissimilaridades entre os 10 acessos constam na Tabela 11, que possibilitou verificar que a maior distância, ocorreu entre os genótipos dos acessos AB e ER ($d=2,529$) e a menor entre os genótipos dos acessos DB e EB ($d=0,296$). Isto indica que as plantas de curauá, com genótipos mais semelhantes são as existentes nos acessos DB e EB, devido a sua homogeneidade.

Tabela 11. Estimativas das dissimilaridades entre os 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, expressas pelas distâncias Euclidianas médias padronizadas obtidas com base de três caracteres quantitativos.

Acessos	MB	AB	CB	TR	ER	PB	PR	DB	TB	EB
MB	0									
AB	0,585	0								
CB	1,228	1,700	0							
TR	2,171	2,303	2,008	0						
ER	2,163	2,53	1,317	1,243	0					
PB	1,013	1,443	0,587	1,513	1,157	0				
PR	1,676	1,829	1,330	0,914	1,027	0,968	0			
DB	1,683	1,970	1,351	0,714	0,805	0,866	0,726	0		
TB	1,208	1,525	0,522	1,864	1,377	0,671	1,035	1,330	0	
EB	1,838	2,049	1,602	0,423	0,961	1,104	0,696	0,296	1,507	0

Por outro lado, as medidas de dissimilaridade atendem a determinados objetivos dos melhoristas por propiciarem informações acerca do grau de semelhança ou de diferença entre duas ou mais subamostras (VASCONCELOS et al., 2007), o que é importante para a escolha de genitores, pois novas combinações híbridas a serem estabelecidas devem ser baseadas na magnitude de suas dissimilaridade e no potencial *per se* (características agronômicas desejáveis) dos genitores (BENIN et al., 2002), informando também sobre o grau de semelhanças e diferenças apresentados entre quaisquer dois genótipos (CRUZ; CARNEIRO, 2003).

Sudré et al. (2006) caracterizaram a coleta de dados multicategóricos como sendo prática, econômica e com uma demanda menor de tempo, comparada a dados quantitativos e moleculares. Contudo, fazem uma ressalva de que cada um tem sua importância singular, sendo preferível que uma coleção de germoplasma seja amplamente estudada para que possa dar maior suporte aos programas de melhoramento.

Dias et al., (1997) relatam que através da dispersão gráfica, obtida com ACP, recupera-se as informações de indivíduos que são perdidas.

No dendrograma gerado pelo método UPGMA, foi percebido a formação de dois grupos divergentes sendo um com dois subgrupos (Figura 11). O grupo Ia foi constituído por três

acessos: CB, TB e PB de diferentes procedências, enquanto o grupo Ib por dois acessos do mesmo local (Santarém). Os demais acessos formaram o grupo III.

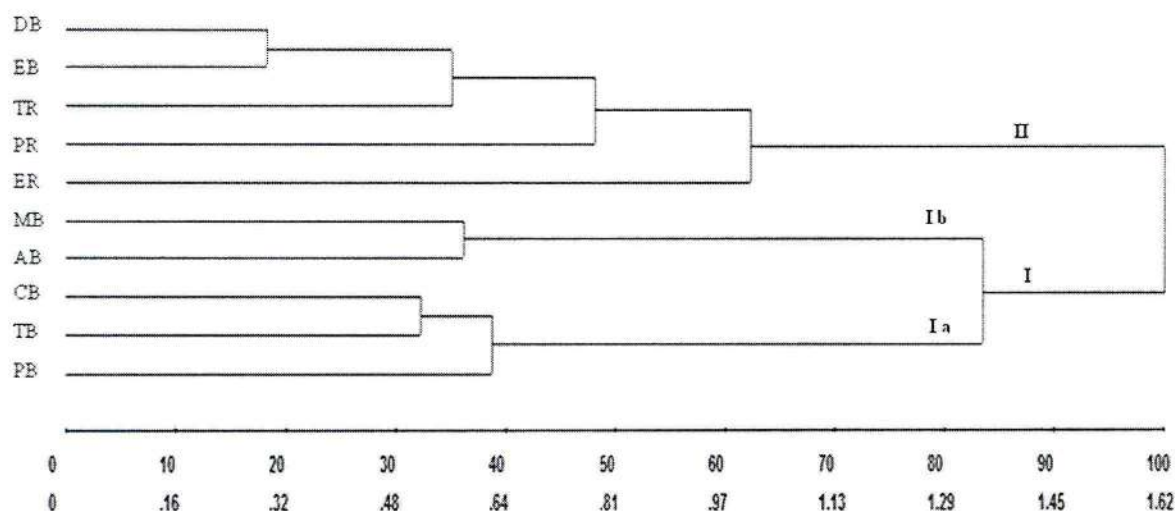


Figura 11. Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das distâncias euclidianas médias padronizadas, obtidas de três caracteres quantitativos avaliados nos 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Pelo método de Tocher foram formados quatro grupos distintos (Tabela 12). O grupo 1 contendo quatro acessos, sendo três deles de Santarém, o grupo 2 por três acessos de diferentes localidades; o grupo 3 por dois acessos da mesma localidade (Santarém); e o grupo 4 por um acesso coletado em Belém.

Tabela 12. Grupos formados pelo método de Tocher entre os 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, com base nas distâncias Euclidianas médias obtidas por três caracteres quantitativos.

Grupos	Acessos/grupo				
1	DB	EB	TR	PR	
2	CB	TB	PB		
3	MB	AB			
4	ER				

Em geral, os agrupamentos formados pelos métodos UPGMA e Tocher apresentam alguma semelhança sugerindo pouca relação com o local de ocorrência. Siqueira et al., (1993) sugerem que a baixa diversidade entre populações de locais distintos pode ser devido a sua origem a partir de uma população local comum. No método de Tocher, um indivíduo ainda não agrupado, só é incluído num grupo, se sua distância média em relação a esse grupo não ultrapassar determinado valor preestabelecido (CRUZ; CARNEIRO, 2003).

Durante as análises foram utilizadas a ACP ($Y' = e_1 \cdot CF + e_2 \cdot AP + e_3 \cdot LFo$) que identificou a importância de duas componentes, sendo que as duas primeiras explicam 93,8% da variação total. Na 1ª componente ($\lambda = 67.7\%$) o autovetor (e_i) de maior importância (peso) foi o correspondente a variável LFo ($e_i = -0,6462$) e na 2ª componente ($\lambda = 26.15\%$) foi o CF ($e_i = -0.7356$), ambos em contribuição negativa à componente. A componente 3 foi irrelevante.

Nos estudos de pré-melhoramento vegetal, as etapas de caracterização e avaliação contribuem para identificar a variabilidade genética de acessos oriundos de bancos de germoplasma ou de amostras de populações naturais e para identificação de genótipos promissores para futuras ações de melhoramento. Todos os descritores, sejam eles quantitativos ou qualitativos, contribuem para a determinação desta divergência, em maior ou menor proporção (MOURA, 2003).

A contribuição relativa dos três caracteres quantitativos para a divergência consta na Tabela 13. O caráter que mais contribui foi a altura (67.24%), seguido pelo comprimento da folha (32.69%), sendo as plantas dos acessos AB (2) e EB (5), as divergentes. Tais resultados sugerem a variável AP, como o melhor caráter para esta divergência genotípica (AB e EB).

Tabela 13. Contribuição relativa de três caracteres quantitativos para a divergência entre os 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Caracteres	Contribuição (%)
Altura da planta (cm)	67,24
Comprimento da folha (cm)	32,69
Largura da folha (cm)	0,07

Os estudos de Vieira et al., (2010) demonstraram que a largura da folha (folha mais ativa fisiologicamente) foi a variável que apresentou maior coeficiente de variação. A avaliação deste aspecto é importante, devido a sua utilização nas práticas culturais de abacaxi, por estar diretamente correlacionado ao período de indução floral.

Sobir & Hajrial (2009) avaliando a diversidade genética de abacaxi por marcadores morfológicos, observou que a maior variabilidade considerada como significativa, foi encontrada no caráter espinho.

No caso, da dispersão gráfica (Figura 12), as distâncias genéticas geradas pela ACP, confirmaram a formação de quatro grupos distintos, de constituições iguais aos formados pelo método de Tocher.

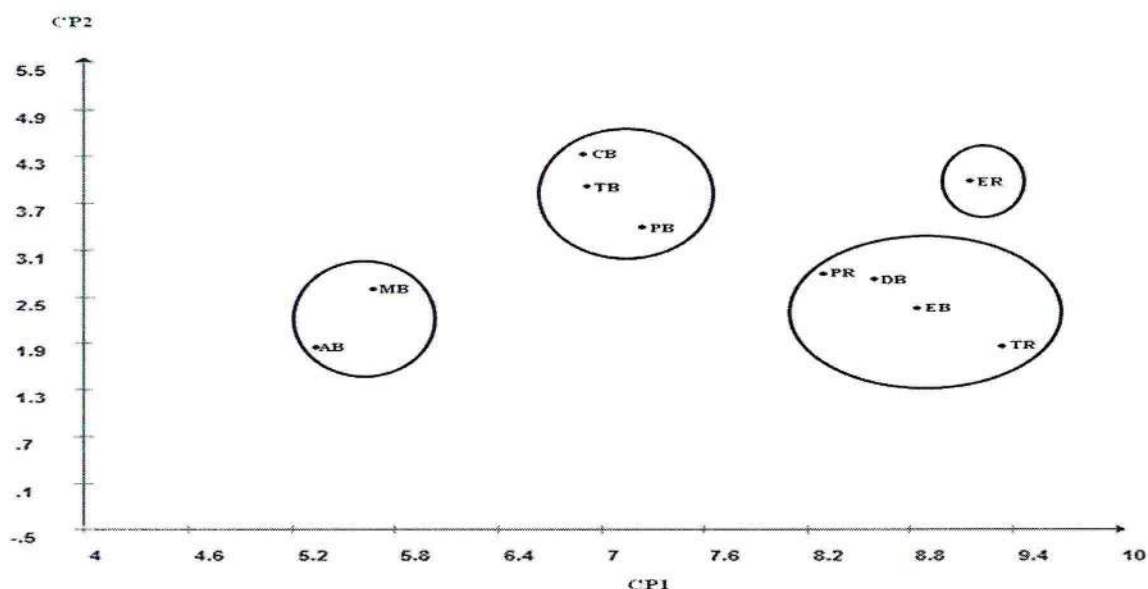


Figura 12. Dispersão gráfica dos 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas de três caracteres quantitativos.

Durante o estudo foi percebido que a utilização da técnica de componentes principais, permite maior importância na componente e na identificação dos acessos, com as características mais divergentes, proporcionando a noção da variabilidade genética presente nos acessos estudados. Os genótipos mais discrepantes para as características estudadas são os de maior interesse em programas de intercruzamentos (AMARAL JÚNIOR; THIÉBAUT, 1999). Porém, não é suficiente que os genótipos de interesse sejam distantes geneticamente, eles precisam apresentar boas médias para as características de interesse.

Os acessos que apresentaram maior dispersão dos escores podem ser utilizados em programas de melhoramento, em futuras hibridações, na tentativa de obtenção de materiais superiores.

Verificou-se que a variação acumulada distribuiu-se entre os dois ou três primeiros componentes, ou seja, restando o máximo de variação nos componentes iniciais, semelhantes ao que vem sendo observado em diversos trabalhos (Tabela 14).

Tabela 14. Escores de três caracteres morfológicos avaliados em 10 acessos de curauá conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas por três caracteres quantitativos.

Acessos	comprimento da folha	largura da folha	altura da planta
MB	5,674	2,606	-1,308
AB	5,341	1,850	-1,896
CB	6,892	4,331	-1,561
TR	9,329	1,860	-1,786
ER	9,148	3,991	-1,542
PB	7,241	3,393	-1,385
PR	8,296	2,792	-2,543
DB	8,587	2,733	-1,320
TB	6,912	3,920	-2,367
EB	8,839	2,355	-1,559

As maiores correlações ocorreram entre a altura da planta e o comprimento foliar ($r_{xy} = 0,7876$). Logo, quando a altura da planta cresce o comprimento da folha aumenta. Percebeu-se que as duas primeiras componentes explicaram 93.87% da variação total. E que os autovetores de maior importância foram: LFo (C1 e C2) e AP (C3), sendo na componente 1, o autovetor contribui negativamente com a componente.

Identificou-se durante o estudo, que o genótipo de maior importância está relacionado a C1 é o TR, para a C2 é o CB e para a C3 é o TB. Isto é, o genótipo TR é o mais importante na C1 ($\Sigma = 9.3292$) e o descritor de maior peso para este genótipo é o LFo; na C2 ($\Sigma = 4.3314$) o genótipo mais importante é o CB cujo descritor de maior peso também é o LFo. A componente 3 (C3), embora seja desprezível, tem como seu descritor a altura da planta.

Designou-se a partir disto, que os acessos que apresentaram maior dispersão dos escores, podem ser utilizados em programas de melhoramento, em futuras hibridações, na tentativa de obtenção de materiais superiores.

Dias et al. (1994), observando alguns trabalhos dessa natureza, atribuíram a dispersão da variação, em vários ou poucos componentes, ao tipo de descritor utilizado.

3.2 Caracterização morfoanatômica

3.2.1 Padrão de venação de *Ananas comosus* var. *erectifolius*

Folhas adultas de curauá em posição ventral são levemente curvas para a esquerda, caracterizando aspecto levógiro (Figura. 13 A); além disso, foi percebido que a margem foliar apresentavam aspectos serrilhados e ou lisos (Figura 13 A).

No que se refere a arquitetura foliar, para a família Bromeliaceae, assemelharam-se aos relatos de Souza (2003) e de Reitz (1983). Além dos resultados de Voltolini (2007) que afirmou que dependendo do ambiente, as características podem manter-se ou diferenciar-se, em relação aos caracteres presença ou ausência de espinhos e serrilhamento nas bordas.

Roth (1984) e Turner (2001) afirmam que a margem lisa das folhas está relacionada com o tipo de venação, sendo que essas características podem contribuir para implicar na não formação de tecidos fundamentais.

Trabalhos descritos por Handro (1964), Felipe e Alencastro (1966), Hickey (1974), Hickey (1979) e Souza (2003) afirmam que a lâmina foliar de formato estreito e alongado, com ápice agudo ou acuminado, margens lisas ou podendo também, ser levemente serrilhadas e de base truncada, são aspectos morfológicos, de grande importância para o processo de venação foliar. Porém, segundo Parhurst e Loucks (1972), as folhas estreitas parecem ser mais eficientes em condições mais secas, mais quentes e de maior insolação. Uma redução na largura da folha pode estar relacionada a um aumento na temperatura (EZCURRA et al., 1997). Ressalta-se, ainda, que um decréscimo no tamanho foliar, além de afetar propriedades mecânicas, atua também acelerando a perda de calor e reduzindo as trocas gasosas (ROTH-NEBELSICK et al., 2001).

Estudos descrevem que a espessa cutícula presente em curauá, poderia atuar como elemento estabilizante da folha (BAKER, 1974), já que as nervuras das folhas das monocotiledôneas, comumente, não apresentam lignina associada ao xilema (ESAÚ, 1974). A esse efeito estabilizante da cutícula soma-se, provavelmente, o elevado conteúdo de água das folhas, atuando mecanicamente através do turgor, e uma estabilidade adicional na região da margem pela presença da nervura coletora.

Em relação, a ocorrência do ápice agudo ou acuminado está relacionado com as folhas de plantas que habitam o sub-bosque, onde há um elevado grau de umidade (ROTH, 1984; TURNER, 2001). O ápice do tipo agudo tem a função de drenar a água da superfície foliar acelerando a secagem da folha e consequentemente, evitando o estabelecimento de organismos epífitos que poderiam se estabelecer na superfície e interferir nos diferentes

processos como a fotossíntese e respiração (DEAN; SMITH, 1978; PYYKKÖ, 1979; ROTH, 1984; JORDAN, 1985; TURNER, 2001).

Estudos realizados por Taiz e Zeiger (2004), demonstram que variação de tonalidade de coloração varia de verde a roxo, baseado em estudos fisiológicos, e isso, pode ocorrer devido a alta ou baixa concentração de clorofila e seus derivados. Além da exposição excessiva de luz, pode danificar o sistema fotossintético, levando a fotoinibição.

Durante o processo descrito das amostras dos acessos de curauá, foi registrado que a rede de nervuras foi do tipo densa, não apresentando nenhum tipo de ramificação. Além disso, a lâmina foliar possui nervura primária única, proeminente que adelga-se em direção ao ápice acuminado. Foi diagnosticado duas ou mais nervuras que se originam na base do limbo e seguem paralelas até a região apical, onde se convergem caracterizando o padrão de venação em paralelodroma (Figura 13 B).

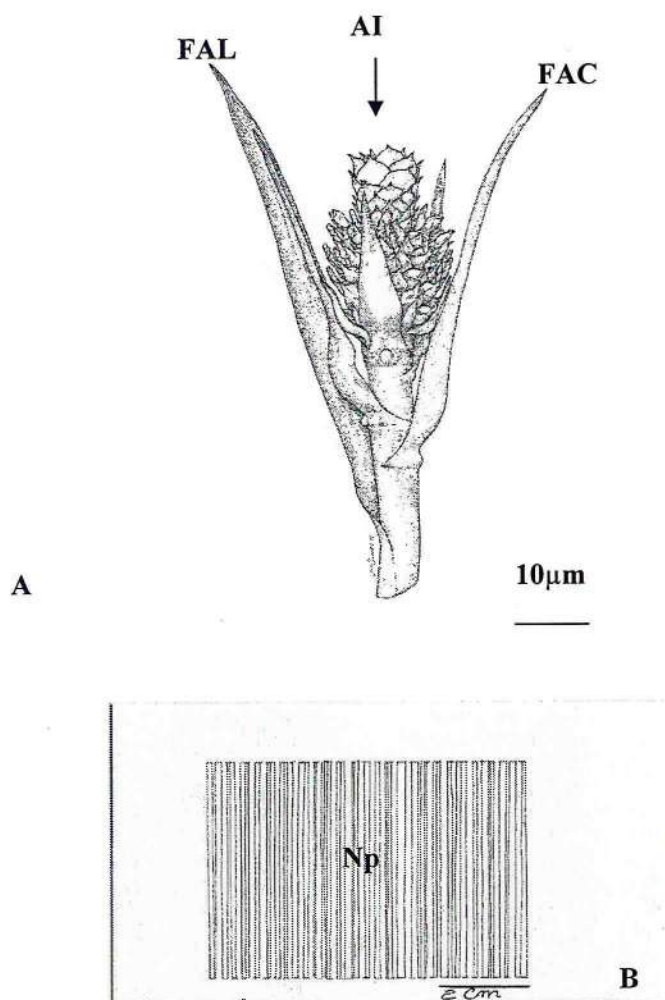


Figura 13. Padrão de venação de *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B.Smith) Coppens & F. Leal (Curaua). **A:** aspecto geral da inflorescência (AI), folha com ápice acuminado (FAC) e de aspecto levógiro (FAL), **B:** aspecto geral padrão paralelodroma rede de nervuras densas, a partir das nervuras primária (Np).

3.2.2 Descrição anatômica da lâmina foliar de *Ananas comosus* var. *erectifolius*

Secções transversais da lâmina foliar de curauá em microscopia de luz e em MEV, apresentaram o seguinte arranjo estrutural: o mesofilo do tipo heterogêneo diferenciado em parênquimas paliádico e lacunoso, portanto, dorsiventral, sendo delimitado pelas epidermes adaxial e abaxial, com apenas uma única camada de células epidérmicas; as células epidérmicas em ambas as faces são do tipo poligonais e estão recobertas por cutícula conspícua e estriada; além disso, foi registrado que ao longo do mesofilo a presença de feixes vasculares fibrosos revestidos por bainha parenquimática, característica não muito comum das monocotiledôneas (Figura 14 A).

De acordo com Milaneze-Gutierrez et al., (2003), independentemente da diferenciação, o mesofilo pode ser utilizado como um critério a mais na identificação de espécies.

As paredes anticlinais e periclinais da face adaxial mostraram-se retas e geralmente, com espessamentos evidentes; e no que se refere, as da face abaxial, as mesmas foram menores do que as da face abaxial. Além disso, foi diagnosticado que as células da face adaxial foram contínuas, enquanto que nas abaxiais ocorreram projeções (Figura 14 B).

Trabalhos realizados Withner (1974) e Santiago (2001) demonstraram que o padrão de espessamento de parede das células epidérmicas é determinado pelo grau de exposição ao sol, e são consideradas características de plantas de ambientes ensolarados.

Em MEV, foi identificado que os feixes de fibras estão localizados em maior contigência, ao longo de todo mesofilo e mais especificamente na região abaxial. (Figura 14 C). Além disto, foi detectada a presença de cristais polimórficos, denominados monoprismáticos que estão localizados no interior das células parenquimáticas, sem conteúdo aparente (Figura 15 A). Tomlinson (1969) ressalta que cada célula epidérmica, em Bromeliaceae, frequentemente apresentam cristais filifomes. Porém, estudos realizados por Metcalfe (1960) citaram que na família Bromeliaceae, além dos tipos encontrados nas amostras em estudo, podem ocorrer cristais em pequenos grãos cristalinos de várias formas. O que não foi observado na espécie em estudo.

Entre as monocotiledôneas, o tipo de corpo cristalino mais frequente é o esférico, com a superfície semelhante a drusas, rugosa ou espinhosa, geralmente um por célula (PRYCHID et al., 2004). Os corpos cristalinos podem ser altamente refrativos (KRAUSS 1949 a). Cristais sob as mais diversas formas são comuns no reino vegetal e representam um caráter marcante em diversas famílias. Milanez (1932) estabeleceu uma correlação entre a

presença desses cristais e o espessamento das paredes celulares e sugeriu que os cristais sejam responsáveis pela formação de esclereídeos em algumas famílias de monocotiledôneas.

Segundo Paiva (2003), é provável que os mesmos estejam envolvidos na inativação do ácido oxálico tóxico, na proteção da planta contra ao ataque de herbívoros e no equilíbrio dos níveis de cálcio no citosol. De um modo geral, os cristais são úteis como suporte estrutural, na proteção contra herbívoros e na manutenção do balanço iônico, pelo armazenamento de oxalato e cálcio nos idioblastos (FRANCESCHI; HORNER JR. 1980).

Para Metcalfe (1960), é comum nas Bromeliaceae a presença de feixes vasculares do tipo colateral nas folhas. Enquanto que para Oliveira e Garcia (1993), uma característica relevante na diagnose da droga vegetal é a calota de fibras localizadas sobre os feixes vasculares. Em contrapartida, em muitas monocotiledôneas, os feixes vasculares são total ou parcialmente circundados por uma bainha morfológicamente distinta formada por uma ou mais camadas de células. Nas monocotiledôneas, os feixes de maior porte localizam-se na nervura central e os de pequeno porte estão imersos no mesofilo (ESAÚ, 1974 ; CUTTER, 1986). Para Cronquist (1981), na família Bromeliaceae pode haver a ocorrência de fibras que são ou não lignificadas, isoladas ou em grupos.

Durante as análises foi percebido em microscopia de contraste de fase, que os complexos estomáticos encontraram-se distribuídos ao longo do limbo foliar, e mais especificamente na face abaxial, caracterizando a folha de curauá como hipoestomática e o arranjo estomático sendo classificado como paracítico (Figura 15 B).

Além disto, durante o estudo de microscopia eletrônica de varredura, verificou-se a presença de depósito intenso de ceras sobre as células subsidiárias, e que as células guardas estavam bastante compactadas, possibilitando a abertura mínima do póro estomático (Figura 15 C). Estudos realizados por Leite e Scatena (2001) consideraram que folhas anfiestomáticas e hipoestomáticas são características de plantas que crescem em ambientes mesofíticos, o que acontece com as amostras em estudo.

Barboza et al. (2006) afirmam que as folhas de *Ananas comosus* (L.) Merr. são hipoestomáticas, independentemente do ambiente do cultivo, o que os autores atribuíram a uma característica inerente ao genótipo. Esau (1959), refere que nas folhas paralelinérvias, como nas monocotiledôneas e coníferas, os estômatos dispõem-se em fileiras paralelas.

Tomlinson (1969) ressalta que os estômatos em Bromeliaceae, estão frequentemente restritos a sulcos epidérmicos e estudos relatam que em *Ananas comosus*, outra espécie de Bromeliaceae os estômatos são constituídos por quatro células subsidiárias, duas laterais e

duas polares, são descritos por Krauss (1949a) ao analisar a ontogênese da espécie supracitada.

Jones (1996) refere que a frequência e o tamanho dos estômatos variam com a posição da folha e as condições de crescimento e que em uma mesma espécie pode ocorrer um componente genético de variação, entre cultivares ou ecótipos.

Em relação a cera epicuticular observada, Metcalfe e Chalk (1979) relataram que a forma da cera epicuticular constitui uma característica adicional útil, ao diagnóstico taxonômico, já que a mesma permanece constante e independente de mudanças da morfologia foliar.

De acordo com Fahn e Cutler (1992) folhas hipoestomáticas são mais comuns em plantas de regiões úmidas do que secas. O fato da maioria das espécies apresentarem estômatos apenas na face abaxial está mais ligado à possíveis relações filogenéticas de Bromeliaceae do que à problemas ecológicos. Para Pyykkö (1966), as ondulações e sinuosidades das paredes das células epidérmicas estão relacionados à ambientes úmidos, e de acordo com Haberlandt (1914) e Krauss (1948), as sinuosidades representam adaptações mecânicas, evitando o colapso das células durante os movimentos de expansão e contração da folha pela entrada e saída de água.

Barros (1998) assinala que a configuração, o tamanho e a distribuição dos depósitos de ceras podem ser de interesse taxonômico. Baker (1982), por sua vez, refere que esses aspectos, apesar de controlados geneticamente, podem ser modificados de acordo com as condições ambientais. Antes de inferir qualquer utilização taxonômica dos padrões de cera visualizados no material em estudo, faz-se necessário observar um maior número de amostras.

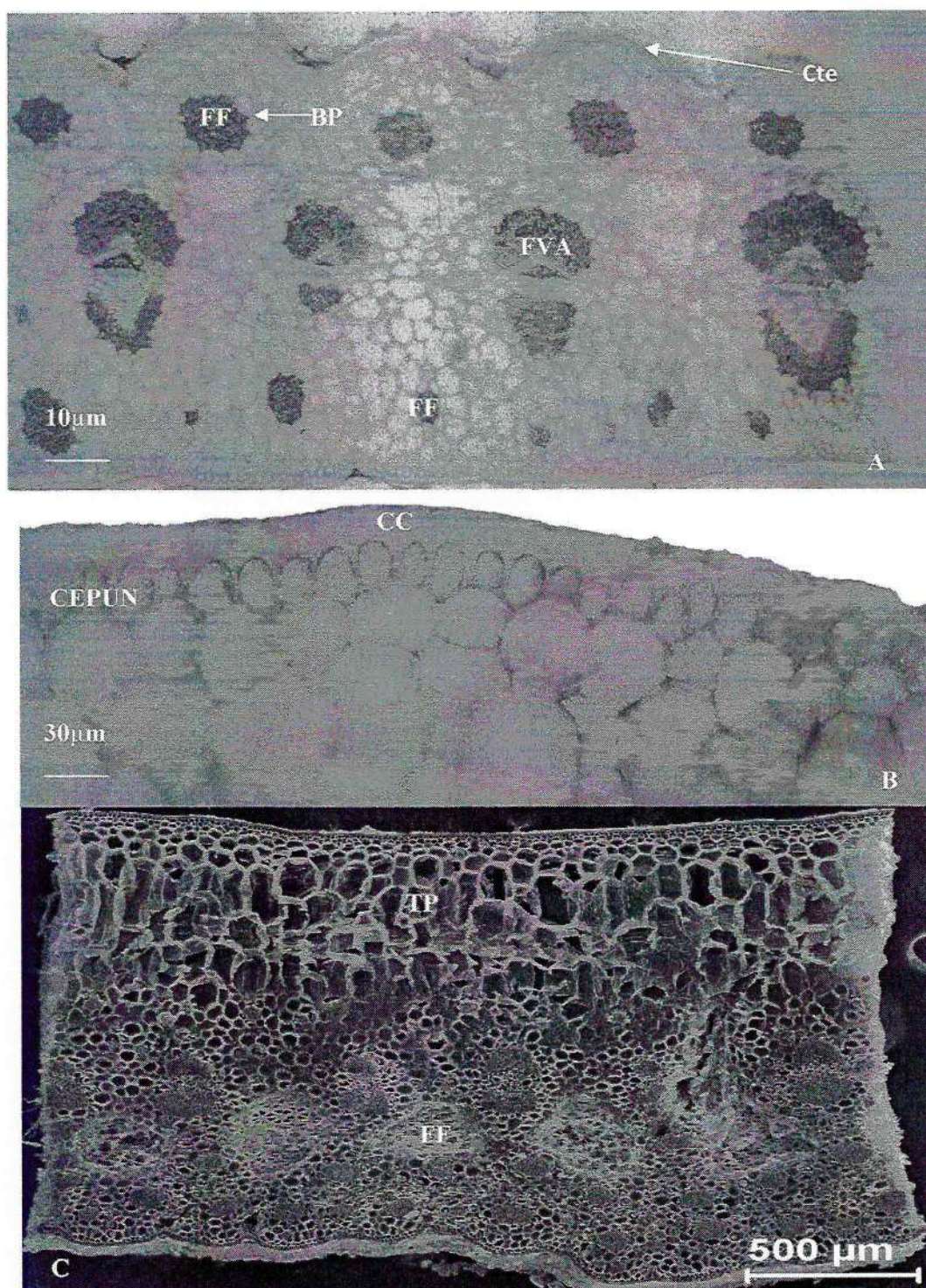


Figura 14. Fotomicrografia do corte transversal da lâmina foliar de *Ananas comosus* var. *erectifolius* - A: mesofilo heterogêneo (dorsiventral alterado por compostos químicos durante a fixação), cutícula estriada (Cte), feixes vasculares feixes vasculares (FV) e fibrosos (FF) revestidos por bainha parenquimática (BP), B: células epidérmicas uniestratificadas (CEPUN), cutícula conspícua (CC) e das paredes anticlinais e periclinais, C: MEV tecido paliádico (TP) e dos feixes de fibras (FF).

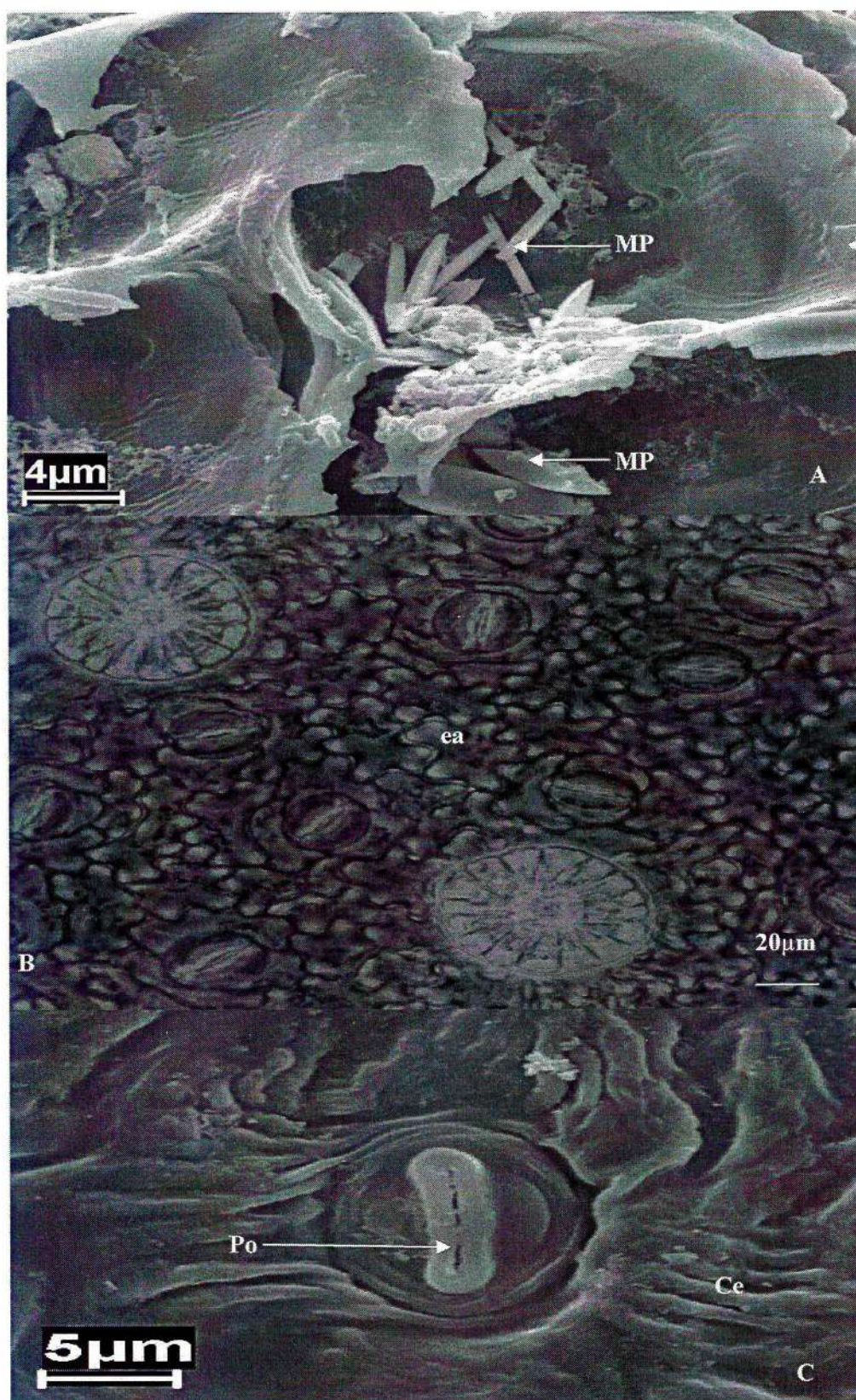


Figura 15. **A:** MEV, células parenquimáticas contendo cristais polimórficos do tipo monoprismáticos (MP), **B:** microscopia de contraste de fase referente a visão frontal da epiderme abaxial (ea), detalhe dos estômatos paracítico, **C:** póro estomático (Po) e depósito de cera (Ce) sobre as células companheiras.

4 CONCLUSÕES

Os caracteres coloração da folha apical, cor da nervura, cor da epiderme e ausência ou presença de espinhos apresentaram variações e podem ser usados na discriminação em acessos de curauá;

Os caracteres altura da planta e comprimento da folha diferenciam os acessos de curauá e são os principais responsáveis pela divergência entre eles, agrupando-os em até quatro grupos distintos;

A morfoanatomia é considerada para o estudo como microferramenta, que possibilita a descrição eficaz para diferenciações de amostras por caracteres.

REFERÊNCIAS

- AGAREZ, F.V., PEREIRA, C., RIZZINI, C. M. **Botânica: taxonomia, morfologia e reprodução dos Angiospermae**: chaves para determinação das famílias. 2 ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 1994, 256p.
- AMARAL JÚNIOR, A.T. **Análise multivariada e isozimática da divergência genética entre acesso de moranga (*Curcubita máxima* Duschene)**. Dissertação de mestrado em genética e melhoramento-Universidade Federal de Viçosa-UFV, Viçosa-Minas Gerais, 95 p, 1994.
- AMARAL JÚNIOR, A. T. do, THIÉBAUT, J. T. de L. **Análise multivariada na avaliação da diversidade em recursos genéticos vegetais**. Apostila. Campos dos Goytacazes: UENF, 55p, 1999.
- BAKER, E. A. The influence of environment of leaf wax development in *Brassica oleracea* var. *gemmifera*. **New Phytologist**, v. 73, n.5, p. 955-966, 1974.
- BARBOZA, S. B. S. C.; GRACIANO RIBEIRO, D.; TEIXEIRA, J. B.; PORTES, T. A.; SOUZA, L. A. C. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.185-194, 2006.
- BARROS, L. de M. **Caracterização morfológica e isoenzimática do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), tipos comum e anão precoce, por meio de técnicas multivariadas**. 1991. 256p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- BENIN, G.; CARVALHO, F. I. F.; ASSMANN, I. C.; CIGOLINI, J.; CRUZ, P. J.; MARCHIORO, V. S.; LORENCETTI, C.; SILVA, J. A. G. Identificação da dissimilaridade genética entre genótipos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo preto. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, n.3, p.179-184, 2002.
- BOZZOLA, J. J.; RUSSEL, L. D. **Electron microscopy: principles and techniques for biologists**. New York: Jones and Barlett Publishers, 1991, 452p.
- BRIGHIGNA, L.; FIORI, A. C.; PALANDRI, M. R. Structural characteristics of mesophyll in some *Tillandsia* species. **Phytomorphology**, n. 34, p.191-200, 1984.
- CAMPOSTRINI, E.; OTONI, W. C. Aclimação de plantas: Abordagens recentes. [ABCTP NOTÍCIAS, 25], [S.l.: s.n.], 1996. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/laborato/biocel/abctp25.htm>>. Acesso em: abr. 2014.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B.; BUSTAMANTE, P. G.; SILVA, D.B. **Catálogo de germoplasma e pimenta e pimentões (*Capsicum* spp.) da Embrapa Hortaliças, Brasília**: Embrapa, 2003, 49p. (Documentos, 49).
- CARVALHO, M. F.; CRESTANI, M.; FARIAS, F. L.; COIMBRA, J. L. M.; BOGO, A.; GUIDOLIN, A. F. Caracterização da diversidade genética entre acessos crioulos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) coletados em Santa Catarina por marcadores RAPD. **Ciência Rural**, v.38, n.6, p.1522-1528, 2008.
- CASTRO, A. A. J. F. **Morfologia e sistemática vegetal: roteiros teóricos e práticos**. Teresina: reprodução particular, 2006.
- COSTA, M. R.; LAMEIRA, O. A.; YOSBINO, V. C. Caracterização genética do curauá (*Ananas erectifolius*) através de marcadores RAPD. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v.5, p. 28-30, 2002.
- CRUZ, C. D. **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**. Tese de doutorado, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade São Paulo, Piracicaba, 1990, 188p.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFRV, 2006, 585p.
- CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal: células e tecidos**. 2ª.ed. São Paulo: Roca, 1986.

- CUTTER, E. G. **Anatomia Vegetal**. Parte I - Células e tecidos. 2. ed. São Paulo: Roca, 2002. 304p.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981.
- DEAN, J. M.; SMITH, A. P. Behavioral and morphological adaptations of a tropical plant to high rainfall. **Biotropica**, Lawrence, v. 10, p.152-154, 1978.
- DONNELLY, D. J. et al. The anatomy of tissue cultured raspberry prior to and after transfer to soil. **Plant. Cell. Tissue Organ. Cult.**, Dordrecht, v. 4, n. 1, 1985, p. 43-50.
- ESAU, K. **Anatomia Vegetal**. Barcelona: Omega, 1959. 729p.
- ESAU, K. **Plant anatomy**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1965. 767p.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Blücher, 1974.
- ESAU, K. **Anatomia de plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blücher, 1976. 293p.
- EZCURRA, C.; RUGGIERO, A.; CRISCI, J. V. Phylogeny of *Chuquiraga* sect. *Acanthophyllae* (Asteraceae - Barnadesioideae), and the evolution of its leaf morphology in relation to climate. **Systematic Botany**, v. 22, n.1, p. 151-163, 1997.
- FAHN, A.; CUTLER, D. F. Xerophytes. In: **Encyclopedia of plant anatomy**. Berlin, Gebrüder Borntraeger, 1992, Pp.1-171.
- FELIPE, G. M.; ALENCASTRO, F. M. Contribuição ao estudo da venação foliar das Compostas dos cerrados. 1. Tribos Hilinieae, Heliantheae, Inuleae, Mutisiaeae e Secioneae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Rio de Janeiro, v. 38, p.125-158 (Suplemento), 1966.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar**: sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.1 Build 72. Lavras: DEX/ UFLA, 2007.
- FUKUDA, W. M. G.; GUEVARA, C. L. **Descritores Morfológicos e Agronômicos para a Caracterização de Mandioca (Manihot esculenta Crantz)**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMP, 1998, 38p.
- FRANCESCHI, V. R.; HORNER Jr., H. T. Calcium oxalate crystals in plants. **Bot. Ver**, n. 46, p.361-427, 1980.
- GANGA, R. M. D., RUGGIERO, C., LEMOS, E. G. M., GRILI, G. V. G., GONÇALVES, M. M., CHAGAS, E.A., WICKERT, E. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares Aflp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n.3, p. 494-498, 2004.
- GAVILANES, M. L. **Anatomia e nervação foliar de espécies nativas do gênero Gomphera L. (Amaranthaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil**. 1981. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1981.
- GOMES FILHO, A. **Diversidade genética em acessos de goiabeiras (Psidium guajava L.) provenientes de Bom Jesus do Itabapoana - RJ**. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas), Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 121p, 2009.
- HANDRO, W. Contribuição ao estudo da venação foliar das Amarantáceas dos cerrados. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 36, n.4, p. 479-499, 1964.
- HABERLANDT, G. F. J. **Physiological plant anatomy**. Macmillan Co, London. 1914.
- HYCKEY, L. J. Clasificación de la arquitectura de las hojas de dicotiledóneas. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v.16, n.1-2, p.1-16, 1974.
- HICKEY, L. J. A revised classification of the architecture of Dicotyledonous leaves. In: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. (Eds.). **Anatomy of the Dicotyledons**. vol.I. 2 ed. Oxford: Clarendon Press, 1979, p.25-39.
- KRAUSS, B. H. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Ananas comosus* (L) Merr. I. Introduction, organography, the stem, and the lateral branch or axillary buds. **Botanical Gazette**, v.110, p. 159-217, 1948.

- KOZAI, T.; KITAYA, Y. **Environmental control for large scale production of in vitro plantlets**. In: TERZI, M. et al. (Ed.). *Current issues in plant molecular and cellular biology*. London: Kluwer Academic Publishers, 1995, p. 659-667.
- KRAUSS, B. H. Anatomy of the vegetative organs of the pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. II - The leaf. **Botanical Gazette**, v. 110, n. 3, p. 333-404, 1949a.
- LEITE, K. R. B.; SCATENA, V. L. Anatomia do segmento foliar de espécies de *Syagrus* Mart. (Arecaceae) da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Sitientibus. Série Ciências Biológicas**, v.1, p.3-14, 2001.
- JEWELL, F. F. Softening slash pine tissues for serial sectioning. **Stain Technology**, v. 33, n. 4, p. 191-192, 1958.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. 2th ed. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- JOLY, A. B. **Botânica; introdução à taxonomia vegetal**. 4 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1977, 777p.
- JORDAN, C. F. **Nutrient Cycling in tropical Forest Ecosystems**. Georgia: John Wiley e Sons, 1985.
- MARDIA, K. V.; KENT, J. T.; BIBBY, J. M. **Multivariate analysis**. London: Academic, 1979. 521p.
- MARIM, B. G., JOSÉ, D., CRESCÊNCIO, P., CARNEIRO, S. Variabilidade genética e importância relativa de caracteres em acessos de germoplasma de tomateiro. **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v. 44, n.1, p. 1283-1290 2003.
- MERCK. **Index Merck. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals**. Susan Budavari, 1989. Ed., Merck & Co.; Rahway, New Jersey.
- METCALFE, C. R. **Anatomy of monocotyledons**. Oxford, Clarendon Press. v.1. 207 p. il. 1960.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. Cactaceae. IN: C. R. METCALFE, L. CHALK. **Anatomy of the dicotyledons**. 1 ed. Clarendon Press, Oxford, pp. 698-705, 1979.
- METCALFE, C. R. Ecological Anatomy and Morphology General Survey. In: Metcalfe, C. R. & Chalk, L. 1983. **Anatomy of the Dicotyledons**. vol.II. 2^a ed. Oxford, Clarendon Press, 1983, p.126-149.
- MILANEZ, F. R. Ação modificadora do oxalato de cálcio sobre as estruturas celulares. **Revista Florestal**, n. 3, p. 5-12, 1932.
- MILANEZE-GUTIERRE, M. A.; MELLO, J. C. P.; DELAPORTE, R. H. Efeitos da intensidade luminosa sobre a morfo-anatomia foliar de *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae) e sua importância no controle de qualidade da droga vegetal. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, p.23-33, 2003.
- MCDOWELL, A.; TRUMP, F. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Arch. Pathol Lab. Med.** 1976, p.405-414.
- PARKHURST, D. F.; LOUCKS, O. L. Optimal leaf size in relation to environment. **Journal of Ecology**, v. 60, n. 2, p. 505-537, 1972.
- PEREIRA, A.V.; VENCOVSKY, R.; CRUZ, C. D. Selection of botanical and agronomical descriptors for the characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) germplasm. **Revista Brasileira de Genética**, v.15, p.115-124, 1992.
- PURVIS, M. J.; COLLIER, D. C.; WALLS, D. **Laboratory techniques in botany**. London: Butterworths, 1964. p.152.
- PYYKKO, M. The leaf anatomy of East Patagonian xeromorphic plants. **Annales Botanici Fennici**, n. 3, p. 453-622, 1966.
- PRYCHID, C.J.; RUDALL, P.; GREGORY, M. Systematics and biology of silica bodies in Monocotyledons. **The Botanical Review**, v.69, p.377-440, 2004.
- RAMALHO, E. A folha amazônica que virou arte. [S.l.: s.n.], 2005. Disponível em: <http://www.rfi.fr/actubr/articles/068/article_124.asp>. Acesso em: ago. 2014.

- REITZ, R. Bromeliáceas e a malária-bromélia endêmica. In: **Flora Ilustrada Catarinense**. Parte I. Fascículo Bromélia. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1983. 808p.
- ROCHA, E. C.; GHELIER JÚNIOR, J. Aproveitamento de resíduos gerados na aglomeração de fibras de coco com Látex natural. *Matéria Técnica*. [S.l.: s.n.], 2003. Disponível em: <<http://www.biologo.com.br>>. Acesso em: jun. 2014.
- ROTH, I. **Stratification of tropical forest as seen in leaf structure**. Tasks for Vegetation Science. Ed. H. Lieth. Junk, The Hague. 1984.
- ROTH-NEBELSICK, A.; UHL, D.; MOSBRUGGER, V.; KERP, H. Evolution and function of leaf venation architecture: a review. **Annals of Botany**, n. 87, p. 553-566, 2001.
- SANTIAGO, E. J. A. de; PINTO, J. E. B. P.; CASTRO, E. M. de; LAMEIRA, O. A.; CONCEIÇÃO, H. E. O. da; GAVILANES, M. L. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 5, p.1035-1042, 2001.
- SILVA, C. País pesquisa mais fibras naturais para carros. [S.l.: s.n.], 2004. Disponível em: <http://www.sebrae_sc.com.br/novos_destaque/oportunidade/mostra_matéria.asp?cdnoticia=8356>. Acesso em: out. 2014.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. *The Indian Journal of Genetics e Plant Breeding*, v.41, p.237-245, 1981.
- SIQUEIRA, C.M.F.; NOGUEIRA, J.C.B.; KAGEYAMA, P.Y. Conservação dos recursos genéticos *ex situ* do cumbaru *Dipteryx alata* Vog.- Leguminosae. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v.5, n.2, p.231-243, 1993.
- SOUZA, L. S. **Morfologia e Anatomia Vegetal**. Ponta Grossa, PR: Editora UEPG, 2003. 259p.
- SUDRÉ, C. P. et al. Variáveis multicategóricas na determinação da divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 01, p. 88-93, 2006.
- TOMLINSON, P. B. **Anatomy of the monocotyledons: III Commelinales-Zingiberales**. Oxford: Oxford University Press, 1969. 446p.
- TURNER, I. M. **The ecology of trees in the tropical rain forest**. New York: Cambridge University Press, 2001.
- VASCONCELOS, E. S.; CRUZ, C. D.; BHERING, L. L.; JÚNIOR, M. F. R. R. Método alternativo para análise de agrupamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.42, n.10, p.1421-1428, 2007.
- VIANA, A. J. C., SOUZA, M. M., ARAÚJO, I. S., CORRÊA, R. X. Genetic diversity in *Passiflora* species determined by morphological and molecular characteristics. **Biol. Plant.** 54: 535-538, 2010.
- VIEIRA, R. F. Conservation of medicinal and aromatics plants in Brazil. In: JANICK, J. **Perspective on new crops and new uses**. Alexandria: ASHS Press, 1999.p. 152 -159.
- VIEIRA, J. L.; SANTOS, R. L; CASTELLEN, S. M.; JUNGHANS, T. D; Caracterização morfológica de acessos de abacaxizeiro, **C&D-Revista Eletronica da Fainor**, Vitoria da Conquista, v.3, n.1, p.68-77, jan./dez. 2010
- VOLTOLINI, C. H. **Morfoanatomia de órgãos vegetativos da reófito *Dyckia distachya* Hassler (Bromeliaceae)**, Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Santa Catarina- UFSC, 62p, 2007.
- WETZSTEIN, H.Y. et al. Anatomical changes in tissue cultured sweet gum leaves during hardening off period. **Hortscience**, Alexandria, v. 16, n. 3,. p.290, 1981.
- WITHNER, C. L.; NELSON, P. K.; WEJKNORA, P. J. The anatomy of orchids. In: WITHNER, C. L. (Ed.). **The Orchids: scientific studies**. New York: John Wiley, 1974. p. 267-334.
- ZIV, M. The control of bioreactor environment for plant propagation in liquid culture. **Acta Horticult.** Wageningen, v. 393, p. 25-38, 1986.

Capítulo 4 : CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOANATÔMICA EM ACESSOS DE *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes-Rubiaceae.

RESUMO

Objetivou-se caracterizar e avaliar os aspectos morfológicos, e descrever a morfoanatomia em acessos de *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes (Rubiaceae), foram selecionados ao acaso dez acessos e pos acaso, totalizando 90 plantas no banco Ativo de Germoplasma de Ipeca da Embrapa Amazônia Oriental. Os 27 caracteres qualitativos foram organizados em planilha Excel, para obtenção da porcentagem de ocorrência. Os caracteres quantitativos foram submetidos as análises uni e multivariadas no programa GENE. Para a caracterização morfoanatômica, as amostras retiradas dos dez acessos foram submetidas a fixação, conservação, desidratação, hidratação e cortes para montagem de lâminas, para o estudo de venação e MEV. Nove caracteres qualitativos exibiram fenótipos distintos. Os acessos de ipeca diferiram entre si, apenas para o caráter diâmetro médio da raiz, separados em dois grupos. A maior dissimilaridade ocorreu entre os acessos 834 e 714 de diferentes locais e a menor entre os acessos 836 e 837 do mesmo local. As dissimilaridades permitiram a formação de três, dois e quatro grupos divergentes pelo método de Tocher, UPGMA e componentes principais, respectivamente. O caráter comprimento da folha apresentou a maior contribuição relativa para estas divergências. Foi registrada a presença de estruturas secretoras em aspecto de rosetas filifirmas com células anexas em torno de sete células basais. Não houve uniformidade de distribuição das estruturas secretoras, embora tinha ocorrido alta concentração na base e na epiderme abaxial das folhas; os cristais foram ráfides; a cera epicuticular ocorreu em diferentes órgãos vegetativos com maior incidência na epiderme abaxial sobre as células-guarda dos estômatos paracítico. Os caracteres variáveis entre os acessos poderão ser utilizados como fatores de diferenciações taxonômicas e como subsidiar na identificação de diferentes táxons de ipeca.

Palavras- chaves: plantas aromáticas, distâncias Euclidianas, Amazônia, anatomia, divergência, agrupamentos.

**Chapter 4: CHARACTERISTICS AND MORPHOLOGICAL EVALUATION OF
ACCESS BLADE LEAF AND MORPHOANATOMY *Psychotria ipecacuanha*
(Brotero) Stokes-Rubiaceae, PRESERVED IN THE GERMPLASM BANK**

ABSTRACT

This study aimed to characterize and evaluate the morphological, and describe the morphoanatomy in access *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes (Rubiaceae), were randomly selected ten hits and post accident, totaling 90 plants in active bank Ipecac Germplasm Amazon Embrapa Eastern. The 27 qualitative characters were organized in Excel spreadsheet to obtain the percentage of occurrence. Quantitative characters were subjected to univariate and multivariate the GENE program. For morphoanatomical the samples taken of the top ten hits were subjected to fixation, preservation, dehydration, hydration and cut for mounting blades, for the study of venation. Nine qualitative characters showed distinct phenotypes. The ipecac access differed only for the character average root diameter, separated into two groups. The biggest dissimilarity occurred between accesses 834 and 714 of different locations and the lowest among the accessions 836 and 837 of the same place. Dissimilarities allowed the formation of three, two and four different groups by Tocher method, UPGMA and major components, respectively. The character length of the sheet had the highest relative contribution to these differences. the presence of secretory structures in respect of rosettes filifirmas with attached cells around seven basal cells was recorded. There was no uniformity of distribution of secretory structures, although it had been high concentration in the base and on abaxial epidermis of the leaves; the crystals were raphides; the epicuticular wax occurred in different vegetative organs with the highest incidence in the abaxial epidermis of the guard cells of stomata paracitic. The characters ranging from the access can be used as taxonomic differentiation factors and as support in the identification of different taxa of ipeca.

Keywords: herbs, Euclidean distances, Amazon, anatomy.

1 INTRODUÇÃO

Conhecida no mercado mundial como ipeca e cientificamente como *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes (Rubiaceae), esta espécie foi a primeira planta medicinal explorada racionalmente na floresta tropical da Costa Rica e Nicarágua (ASSIS et al., 1999).

Estudos afirmam que os principais componentes da ipeca são isoquinólicos alcaloides, cefalina e emetina, que é de grande importância para a indústria farmacêutica (COSTA et al., 2000). O uso da ipeca como droga vegetal é conhecido na Europa, desde 1762 e durante a década de 40 do século XX, se tornou uma das mais importantes, para a indústria farmacêutica, principalmente nos Estados Unidos e Europa (ATAL; KAPUR, 1982). A emetina, além de induzir o vômito pode atuar como expectorante, possui atividade contra o protozoário intestinal *Entamoeba histolytica*, causador da amebíase (TREASE; EVANS, 1988). Entretanto, a maioria dos estudos realizados sobre a *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes (Rubiaceae) está direcionado aos aspectos farmacológicos, o que deixa lacunas, principalmente, no que se refere a estudos morfológicos, anatômicos, ecológicos e, até mesmo ecogeográficos (MAXTED et al., 2000).

A coleta de recursos genéticos foi descrita por Christiansen et al. (1999), que classificou a ipeca como planta medicinal e aromática, de grande importância para Amazônia. O que possibilitou o despertar de muitos pesquisadores sobre vários aspectos. E dentre eles, destacaram-se os pesquisadores da Embrapa Amazônia Oriental, que realizaram coletas em locais de ocorrência da espécie e instalaram o BAG de ipeca (*Psychotria ipecacuanha* Stoke-Rubiaceae), em Agosto de 1988, em Belém-PA, localizado no horto de plantas medicinais e aromáticas dessa instituição. Os acessos são oriundos de diversos locais, sendo todos catalogados. Entretanto, tais acessos têm sido pouco caracterizados e avaliados, nos mais diferentes níveis.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar e avaliar os aspectos morfológicos presentes nos acessos, além de descrever a morfoanatomia da lâmina foliar da espécie *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes-Rubiaceae, conservados no Banco ativo de germoplasma de ipeca da Embrapa Amazônia Oriental, visando a diferenciação entre os acessos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O material botânico foi coletado no Horto de Plantas Aromáticas e Medicinais pertencente a Embrapa Amazônia Oriental, localizado a 078°43'42" S de latitude e 98°40'862" W de longitude. (Figura 16).



Figura 16. Visão geral do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, BAG de ipeca local de coleta dos dados de Ipeca (BAG- Ipeca)

2.2 Coleta do material

No BAG da ipeca foram selecionados ao acaso dez acessos (Tabela 13) e de cada acesso nove plantas, que estão protegidas do sol por telado sombrite e adubadas organicamente. O material coletado foi dividido em: amostra para estudos anatômicos, as quais foram acondicionadas em recipientes contendo álcool 70 % ou FAA, com a finalidade de conservação e fixação e para estudos morfológicos.

2.3 Caracterização e avaliação morfológica

Foram caracterizados e avaliados 36 caracteres morfológicos, sendo 27 qualitativos e 9 quantitativos. Esses caracteres foram observados e mensurados em nove plantas de cada acesso, totalizando 90 plantas.

Os caracteres qualitativos caracterizados foram: cor da folha apical, cor do pecíolo, cor externa do caule, cor externa da raiz, cor do córtex da raiz, cor da polpa da raiz, cor da epiderme, cor da nervura, posição do pecíolo, forma da raiz, tipo de planta, forma da folha, base foliar, ápice foliar, hábito, tipo de folha, filotaxia, tipo de margem, venação foliar,

consistência da folha, tipo de inflorescência, cor da flor, tipo de infrutescência, tipo de caule, estípula, simetria, superfície.

Tabela 15. Identificação dos acessos de ipeca conservados no BAG Ipeca da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, e avaliados no estudo.

Acessos (nº)	Código dos acessos	Procedência
1	833	Costa Marques, RO
2	834	Costa Marques, RO
3	836	Costa Marques, RO
4	837	Costa Marques, RO
5	LAB	Barra do Bugres, MT
6	746	Barra do Bugres, MT
7	751	Tangara da Serra, MT
8	753	Tangara da Serra, MT
9	714	Barra do Bugres MT
10	712	Barra do Bugres, MT

Os caracteres quantitativos avaliados foram: nº de nós na haste principal, largura da folha LFO (cm), comprimento da folha, altura da planta-AP (cm), altura da 1ª ramificação, comprimento do pecíolo-Cpe (cm), número de flores por inflorescência, diâmetro médio da raiz (rizoma Dmr (cm)) e comprimento médio da raiz-Cmr (cm), as mensurações foram realizadas com auxílio de fitas métricas, paquímetros digital e analógico, com escalas em centímetros.

2.3.1 Análises estatísticas

A fim de verificar a existência de variabilidade genética entre os acessos para cada caráter, os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância univariada, pelo delineamento inteiramente casualizado, considerando 10 tratamentos (acessos) e nove repetições (plantas) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o *software* GENE.

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2001), sendo os dados analisados por meio do seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

em que:

Y_{ij} : valor observado da parcela que recebeu o tratamento i na repetição;

μ : média

t_i : efeito do tratamento i ;

e_{ij} : erro experimental associado à parcela que recebeu o tratamento i na repetição.

As análises multivariadas foram feitas com base na média de cada caráter por acesso. Para eliminar problemas com escala, utilizou-se a distância euclidiana média, calculada dos dados padronizados.

Na análise de agrupamento foi utilizada a distância Euclidiana média como medida de dissimilaridade e na delimitação dos grupos foi utilizado o método hierárquico das médias das distâncias (UPGMA - *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic*) e não hierárquico de Tocher.

Na análise de Componente Principal (PCA-Principal Component Analysis).os dados foram pré-processados empregando-se auto escalonamento e os resultados estão demonstrados pelos gráficos dos escores e dos pesos, com duas componentes principais (PC) explicadas pelas suas variâncias.

2.4 Caracterização morfoanatômica

As folhas adultas foram seccionadas em região apical, basal, central, margem e intermediária, sendo submetidas às etapas usuais em anatomia. Além dos protocolos usuais de laboratório como: fixação, conservação, desidratação, hidratação, cortes, montagem de lâminas a fresco e permanentes, além da metodologia de IAWA (1989).

2.4.1 Secções histológicas

Secções histológicas transversais e longitudinais foram realizadas nas folhas adultas, utilizando-se de duas técnicas:

a) **Preparo de lâminas a fresco:** realizado com auxílio de lâmina de barbear, utilizando-se a cortiça como suporte. Em seguida, as secções foram clarificadas em solução aquosa de hipoclorito de sódio comercial na diluição de 1:1, até a total despigmentação; lavadas com água destilada e coradas com azul de astra, fucsina básica 1% (BRAGA, 1977),

e azul de metileno 1% (JOHANSEN, 1940). A montagem foi feita em glicerina aquosa 50% entre lâmina e lamínula, isolando-se os bordos da lamínula com esmalte incolor segundo Purvis et al., (1964).

b) Secções com micrótopo rotativo: utilizado para folhas adultas, submetidas, previamente, ao amolecimento com solução de etilenodiamina 10% (CARLQUIST, 1962), mantidas em estufa a 55° C por 24 horas. Após este período, as mesmas foram lavadas quatro vezes a cada 30 minutos com solução aquosa de glicerina 20% até a completa retirada do agente amolecedor. Posteriormente, seguiram-se as etapas de desidratação em série etanólica crescente, infiltração e inclusão em parafina (JOHANSEN, 1940). Os blocos de parafinas confeccionados foram desbastados na face a ser seccionada expondo o material incluído, com posterior imersão em solução de glicerina 10% por 24 horas (JEWELL, 1958). As secções seriadas de 20 µm foram distendidas em banho-maria a 40°C, em seguida depositadas em lâminas histológicas albuminadas e acondicionadas em estufas a 55°C, por 24 horas. As secções foram desparafinadas pela série aceto-butílica e ou hidratadas pela série etanólica (JOHANSEN, 1940) decrescentes, posteriormente coradas com azul de Astra, fucsina básica 1% (BRAGA, 1977) e azul de metileno 1% (JOHANSEN, 1940), seguindo-se a desidratação e pós-desidratação de acordo com o mesmo autor, sendo montadas em bálsamo do Canadá entre lâmina e lamínula.

2.5 Microscopia fotônica (MFo)

As lâminas foram fotomicrografadas com auxílio de câmera acoplada ao microscópio de luz modelo ZEISS nos laboratórios de Botânica e de Anatomia Vegetal do Museu Paraense Emílio Goeldi-MPEG.

2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os órgãos vegetativos "*in natura*" foram fixados em solução de glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato 0,1M por 24h (McDOWELL; TRUMP, 1976). Posteriormente, este material foi lavado três vezes na mesma solução tampão, desidratando-se em série etanólica crescente e em seguida foi substituído por CO₂ líquido (ponto crítico) (BOZZOLA; RUSSEL, 1991), sendo montado em suporte metalizado com ouro. As imagens foram obtidas no Laboratório Institucional de Microscopia eletrônica de Varredura do Museu Paraense Emílio Goeldi, utilizando um microscópio eletrônico LEO modelo 1450 VP.

2.7 Diafanização

As folhas adultas foram seccionadas nas regiões basal, mediana e apical. Em seguida, fixadas em solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 20% (ARNOTT, 1959). A solução foi trocada diariamente até a completa clarificação do material e lavada em água corrente para a retirada de resíduos. Em seguida foram coradas em safranina hidro-alcoólica 5% (JOHANSEN, 1940), por 24 horas. Após essa etapa, o material foi desidratado em uma série alcoólica crescente (50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%) e em uma série de solução alcoólica aceto-butílica 30%, 50%, 70% e 100% (KRAUS; ARDUIN, 1997). As folhas adultas inteiras foram montadas em resina sintética entre lâminas de vidro e o restante do material seccionado, foi montado em resina sintética, entre lâmina e lamínula.

A análise da descrição da arquitetura foliar foi realizada segundo Handro (1964), Felipe e Alencastro (1966) e Hickey (1974).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização e avaliação morfológica

Dos 27 caracteres qualitativos, apenas nove exibiram variações fenotípicas (Figura 17). A coloração da folha apical variou de verde escuro e verde claro, sendo que 55,6% das plantas apresentaram fenótipo verde claro e 44,40% verde escuro. Percebeu-se também que o fenótipo da cor do pecíolo, foi idêntico ao fenótipo da folha apical, ou seja, variou de verde claro e verde escuro, mas com porcentagens distintas. Outro caráter com diferenças fenotípicas foi a cor externa da raiz, cuja coloração variou de marrom escuro (66,7%) e marrom claro (33,3%). Para o caráter cor do córtex da raiz, o fenótipo variou de marrom escuro e marrom claro, com predominância do marrom escuro (88,9%). Estudos comprovam que a variação para o caráter está relacionada a genes polimórficos, o que pode-se observar neste estudo em relação ao caráter em questão, corroborando com as análises de Anthony et al. (2001).

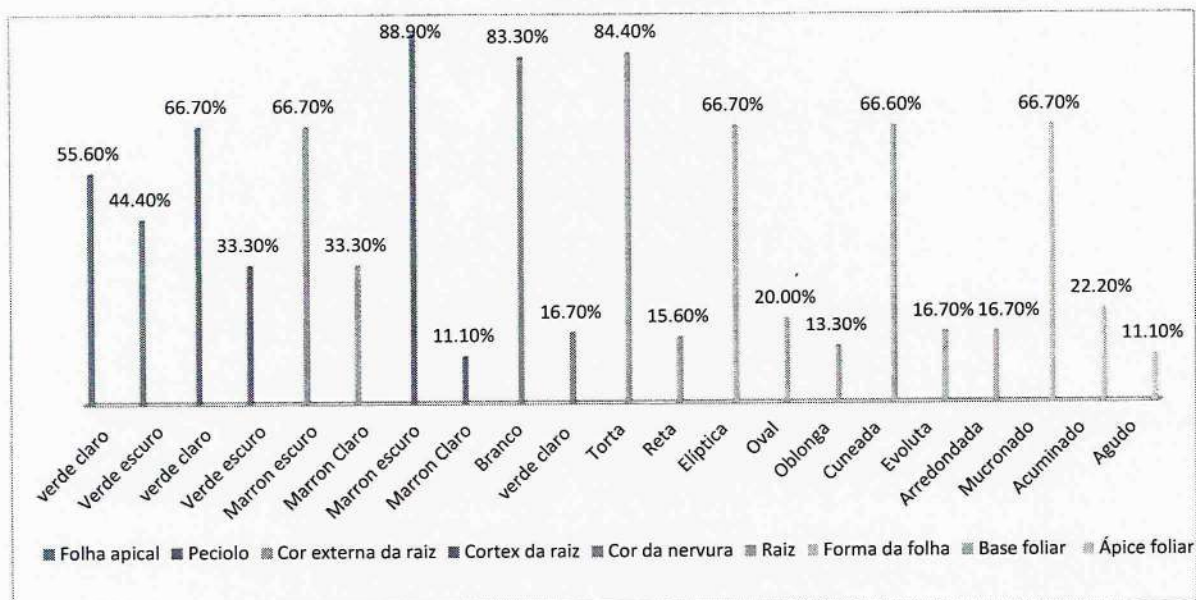


Figura 17. Porcentagens de ocorrência das variações fenotípicas de nove caracteres qualitativos nas 90 amostras de *Psychotria ipecacuanha* (Brotero) Stokes-Rubiaceae conservadas no BAG - ipeca da Embrapa Amazônia Oriental.

Em relação, a cor da nervura o fenótipo variou de branco e verde claro, sendo que 16,7% das plantas, apresentaram nervura verde claro e as demais nervura branca. Foi diagnosticado durante o estudo, que a forma da raiz variou de cilíndrica torta e reta, sendo que 84,4% apresentaram aspecto torto e 15,6% o fenótipo reto; verificou-se também, que a forma da folha variou de elíptica, oval e oblonga, com predominância do fenótipo elíptico.

No caso, dos fenótipos para a base foliar foram constatados três: cuneado, evolutivo e arredondado; sendo que, o aspecto cuneado esteve presente em 66,6% das plantas. Além disso, diagnosticou-se que o ápice foliar variou de mucronado, acuminado e agudo com o aspecto agudo com maior frequência.

Os fenótipos observados nos nove caracteres podem ser considerados como de médio grau de variabilidade genética, estando de acordo com os apresentados por Carvalho-Okano (1992). A alta variabilidade para caracteres de morfologia foliar em espinheira-santa foi identificada em matrizes de onde foram retiradas sementes para a formação do banco ativo de germoplasma da Embrapa Clima Temperado (MARIOT, 2005).

Os caracteres qualitativos apresentaram fenótipos nítidos, podendo ser considerados como possíveis caracteres morfológicos para a espécie em estudo. Já o caráter cor externa da raiz, teve a cor marrom como predominante em todos os acessos. Percebeu-se também, que a coloração da epiderme para todos os acessos foi verde; a posição do pecíolo foi do tipo oposta, em todas as amostras dos acessos; as amostras em estudo foram classificadas como subarbustos, de hábito terrestre, folhas simples com filotaxia opostas decussadas e de margem inteira, simetria desigual ou obliqua e venação do tipo penínervia.

Além disto, foi registrado que as folhas apresentaram consistência membranosa; as inflorescências quando observadas foram do tipo terminal com flores brancas; o fruto quando presente foi do tipo baga; notou-se também, que o caule foi do tipo ereto, não havendo nenhuma variabilidade entre os acessos; as estípulas estiveram presentes, em todos os acessos, o que é comum na família em estudo.

Embora, pareça redundante usar características morfológicas e agrônômicas para estudar a variabilidade em bancos de germoplasma, resultados eficientes foram obtidos para discriminar os acessos, a partir desta avaliação primordial. Assim como, os trabalhos realizados por Bekele et al., (2006) e Gonçalves et al., (2007).

O resumo das análises de variância que se encontram na Tabela 16. Verificou-se que os acessos analisados diferiam apenas para o caráter diâmetro médio da raiz. E os coeficientes de variação (CV%), do experimento variaram de 18,20, no que se refere comprimento médio da raiz (cm) a 77,05 comprimento da folha (cm), assim sendo, os valores de CV% observados neste estudo foram satisfatórios, para os experimentos de campo.

Tabela 16. Resumo das análises de variâncias obtidas para a altura da planta, comprimento, diâmetro médio da raiz, comprimento médio da raiz, em dez acessos de ipeca conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Caracteres	Quadrados Médios		Média	CV (%)
	Acessos	Erro		
Altura da planta (cm)	64,3176 ^{ns}	59.2534	19,26	39,96
Comprimento da folha (cm)	77,8015 ^{ns}	57,9155	9,9	77,05
Diâmetro médio da raiz (cm)	0,1719**	0,05829	0,3	35,03
Comprimento médio da raiz (cm)	18,2126 ^{ns}	20,9263	25,05	18,26

Analisando a Tabela 17, que determina a percepção de grupos formados pela comparação de médias percebeu-se que o diâmetro médio classificou os acessos em dois grupos: um com dois acessos (grupo a) 753 e 746, os de maiores diâmetros, sendo precedentes do Mato Grosso e, o outro com oito acessos grupo (b).

Tabela 17. Grupos formados pela comparação de médias de quatro caracteres avaliados em 10 acessos de Ipeca conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, feita com base no teste de Scott e Knott a 5 % de probabilidade.

Acessos	AP (cm)	CFo (cm)	Dmed(cm)	Cmr (cm)
714	19,48 a	16,73 a	0,15 b	26,22 a
712	18,64 a	6,91 a	0,15 b	24,22 a
836	14,48 a	10,17 a	0,26 b	24,11 a
837	17,01 a	10,84 a	0,27 b	24,44 a
IAB	22,92 a	10,33 a	0,29 b	26,44 a
834	20,22 a	6,31 a	0,32 b	22,33 a
833	22,87 a	8,83 a	0,34 b	24,50 a
751	17,90 a	8,36 a	0,34 b	25,22 a
753	17,73 a	11,62 a	0,51 a	25,77 a
746	21,37 a	8,61 a	0,59 a	27,22 a

Em relação as dissimilaridade, a maior distância ocorreu entre os genótipos 2 e 9 ($d=2,324$) e a menor entre os genótipos 836 e 837 ($d=0.502$) ambos de Costa Marques. Isso indica, que as plantas de ipeca, que apresentam os genótipos mais semelhantes estão localizadas nos acessos 836 e 837, registrados na Tabela 18.

As dissimilaridades permitiram a formação de três grupos utilizando o método de Tocher (Tabela 19). O primeiro grupo foi formado por oito acessos, enquanto que o segundo

e o terceiro por um acesso cada, sendo os dois de Barra de Bugres, MT, fornecendo indícios de que os acessos dessa localidade sejam mais divergentes.

Tabela 18. Estimativas das dissimilaridades genéticas entre dez acessos de ipeca conservados no BAG da Embrapa, Amazônia Oriental, expresas pelas distâncias Euclidianas médias padronizadas, com base em quatro caracteres quantitativos.

Acessos	833	834	836	837	LAB	746	751	753	714	712
833	0									
834	1,008	0								
836	1,617	1,421	0							
837	1,175	1,258	0,502	0						
LAB	0,749	1,679	1,679	1,315	0					
746	1,341	2,023	2,023	1,756	1,185	0				
751	0,967	1,160	1,160	0,586	1,099	1,312	0			
753	1,313	1,723	1,723	0,990	1,291	1,032	0,848	0		
714	1,743	2,324	2,324	1,339	1,363	2,157	1,644	1,599	0	
712	1,099	0,955	0,955	0,855	1,357	1,988	0,818	1,625	1,819	0

Tabela 19. Grupos formados pelo método de Tocher entre os 10 acessos de ipeca conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, com base nas distâncias Euclidianas médias obtidas de quatro caracteres quantitativos.

Grupos		Acessos						
1	836	837	751	712	753	833	834	LAB
2	746							
3	714							

Diversos trabalhos com aplicação do método de otimização de Tocher, também afirmam que o mesmo auxilia o melhorista na seleção de material divergente para compor o melhoramento por meio da geração de híbridos (ARNHOLD et al., 2010; COIMBRA et al., 2010). Corroborando a possibilidade de escolha de progenitores, em programas de melhoramento genético, visando à obtenção de genótipos superiores em plantas perenes Cardoso et al., (2009a). Assim no estudo em foco, pode-se sugerir que o acesso 746 seja um acesso desejável, pois além de ter apresentado o maior diâmetro médio da raiz, mostrou considerável divergência.

Pelo método da UPGMA houve a formação de dois grupos divergentes, com um exibindo dois subgrupos (Figura 18). O grupo I foi formado apenas pelo acesso 714, sendo o mais divergente e procedente de Barra de Bugres, MT. Já o grupo II foi constituído por dois

subgrupos o IIa e o IIb por quatro acessos. A análise de componentes principais permitiu mostrar que as duas primeiras componentes explicaram 74,7% da variação total. Na 1ª componente ($\lambda=41.23\%$) o autovetor (e_i) de maior importância (peso) foi o correspondente denominada de variável AP ($e_i= -0,7571$) e na 2ª componente ($\lambda=33.49\%$) foi o Dmd ($e_i= 0,7861$). O caráter AP contribuiu negativamente e as componentes 3 e 4 são irrelevantes.

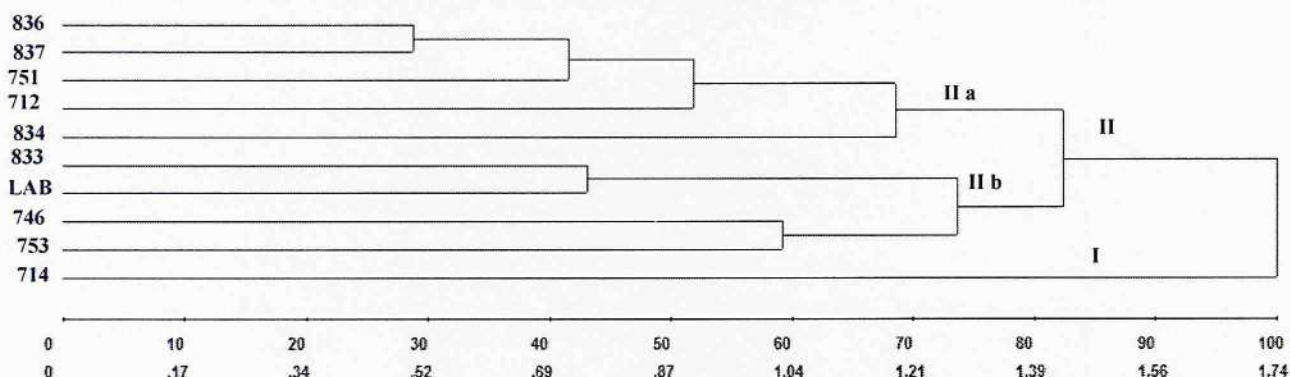


Figura 18. Dendrograma gerado pelo método UPGMA, a partir das distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas de três carcatres quantitativos avaliados em dez acessos de ipeca.

A ACP no que tange a contribuição relativa dos caracteres para a divergência, a maior contribuição foi registrado no caráter comprimento da folha com 48,45%, seguido pelo caráter altura da planta com 40,09%. Por outro lado, a menor contribuição ocorreu no caráter diâmetro médio da raiz com menos de 0,2% (Tabela 20).

Tabela 20. Contribuição relativa dos três caracteres quantitativos para a divergência entre os 10 acessos de ipeca conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Caracteres	Contribuição (%)
Comprimento da folha (cm)	48,45
Altura da planta (cm)	40,09
Diâmetro médio da raiz (cm)	0,11
Circunferência média da raiz (cm)	11,35

No caso da dispersão gráfica foi constatada a formação de quatro grupos distintos: um grupo formado apenas pelo acesso 714, de Barra de Bugres, MT; outro constituído pelo acesso 834, procedente de Costa de Marques, RO; e os outros dois contendo quatro acessos cada, de diferentes localidades. Este resultado difere dos demais métodos na formação dos grupos divergentes, porém o acesso 714 que formou um grupo isolado e foi o mais divergente, mostrou-se coincidente em todos os métodos.

Assim como neste trabalho, inúmeros outros com diferentes espécies, têm comprovado que a análise da divergência genética através de procedimentos multivariados, são concordantes entre si, mas podem ser eficientes na discriminação de genótipos. Ao avaliar a divergência genética entre acessos de *Capsicum* spp., Sudré et al., (2006) confirmaram a eficiência de análises multivariadas na análise da variabilidade genética entre os diferentes acessos; Coimbra et al., (2010) realizaram a caracterização e divergência genética de populações de milho do Sudeste de Minas Gerais e Bertini et al., (2010), estudando a divergência genética entre genótipos de coentro, também obtiveram sucesso ao utilizar variáveis multicategóricas na discriminação de genótipos, bem como Campos et al., (2010) ao quantificar a divergência genética entre acessos de mandioca. Estas evidências experimentais comprovam que as análises multivariadas são eficientes para discriminar os indivíduos, geneticamente, permitindo agrupá-los de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos. Sendo, que neste trabalho sofreram variações.

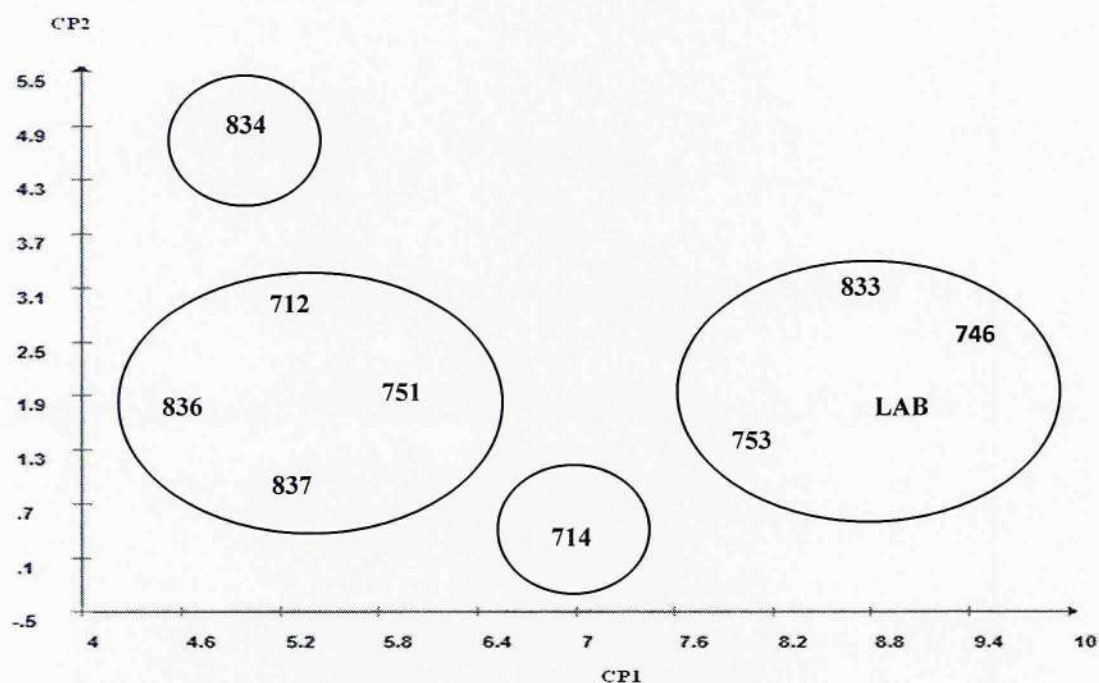


Figura 19. Dispersão gráfica de 10 acessos de ipeca conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias padronizadas, obtidas de quatro caracteres quantitativos.

identificou-se na Tabela 21, o caráter que apresenta maior importância na componente. Os estudos demonstraram que as maiores correlações, ocorreram entre comprimento foliar e a altura da planta ($r_{xy} = 0.4993$), quando a altura da planta cresce, o

comprimento foliar cresce. As duas primeiras componentes explicam 74.72% da variação total.

Assim como, os autovetores de maior importância são: AP para o acesso 833, Dmed para 834, Dmed para 836 e CF para 837, e nas componentes 1 e 3 esses valores são negativos mostrando a contribuição desses coeficientes na componente. Foi percebido que os valores positivos aumentam os caracteres, enquanto que os negativos realizam a proporção inversa.

Tabela 21. Escores de quatro caracteres morfológicos avaliados em 10 acessos de ipeca conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, a partir da análise de componentes principais com base nas distâncias Euclidianas médias padronizadas.

acessos	altura da planta	diâmetro médio da raiz	comprimento médio da raiz	comprimento da folha
833	17,987	-1,279	3,961	6,621
834	16,144	-1,279	3,360	6,396
836	16,361	-3,072	1,886	7,162
837	17,027	-2,888	2,576	6,932
LAB	18,968	-2,111	4,106	7,379
746	19,929	-1,969	2,266	7,296
751	17,525	-1,989	2,453	7,484
753	18,693	-2,346	1,668	6,606
714	18,542	-4,715	3,806	6,764
712	16,352	-2,020	3,542	7,817

Segundo a classificação oriunda da tabela acima, o genótipo de maior importância para a C1 é o do acesso 746 e para a C2 é o do acesso 714, os demais são desprezíveis. Isto é, o genótipo do acesso 746 é o mais importante na C1 ($\Sigma=19.9289$) e o descritor de maior peso para este genótipo é o AP; na C2 ($\Sigma=-4.7147$) o genótipo mais importante é o do acesso 714 cujo descritor de maior peso é o Dmed.

A existência de correlação entre os caracteres possibilita a aplicação da análise de componentes principais, uma vez que aplicar tal análise para caracteres não correlacionados não traria benefícios às interpretações. A eficiência desta nova descrição dos dados através dos componentes vai depender da porcentagem de variação total que cada componente contém, quando arranjados em ordem decrescente de variância (MANLY, 2008).

3.2 Caracterização morfoanatômica

3.2.1 Padrão de venação de *Psychotria ipecacuanha*

As folhas adultas de ipeca em posição ventral são levemente curvas para a esquerda, caracterizando aspecto levógiro, com ápice do tipo acuminado; a rede de nervuras do tipo laxa, e as ramificações chegam a alcançar a quarta grandeza (Figura 20 A). Além disso, a lâmina foliar pode apresentar diferenças de coloração, além de possuir nervura primária única, proeminente que se adelga em direção ao ápice, dela partem de 6 a 8 nervuras secundárias de cada lado da lâmina foliar, que se projetam em direção a margem, sem tocá-la caracterizando o padrão pinada (Figuras 20 A-B).

Estas nervuras secundárias curvam-se, formando pequenos arcos anastomosados, definindo o padrão de venação como broquidódromo (Figura 20 B), enquadrando-se na classificação dos estudos de Handro (1964), Felipe e Alencastro (1966) e Hickey (1974) estabelecida para família Rubiaceae.

Durante o estudo foi registrado, que o tipo de venação foi caracterizado pela união das nervuras laterais, formando arcos proeminentes próximos à margem; notou-se, a existência da formação de aréolas, que resultaram das fusões das nervuras secundárias, podendo serem consideradas como perfeitas e fechadas (Figura 20 B). Das nervuras secundárias, houve projeção de outras nervuras de pequeno calibre, denominadas de nervuras terciárias, que se ramificaram e subramificaram caracterizando o tipo de venação denominada de alterna percorrente. Além, da presença de nervuras do tipo quaternárias (Figura 20 C-D). Estudos realizados por Vieira et al., (1992), afirmam que essas características são similares as características encontradas em *Psychotria nuda* e *Psychotria leiocarpa*.

Nos estudos em *Psychotria velloziana*, realizados por Cunha et al. (1997) foi diagnosticado que a venação era do tipo camptódromo-broquidódromo, descaracterizando o padrão da família Rubiaceae, o que não foi verificado na espécie em estudo. Porém, os estudos descritos por Silva (2006) demonstraram que várias populações de *Psychotria ipecacuanha*, presente nas florestas amazônica e atlântica apresentaram as mesmas características morfológicas da espécie em estudo. Assis e Giulietti (1999) relataram que as características morfológicas aqui descritas distintas estão relacionadas a variação da forma das folhas que variaram de elípticas até ovais, oblongo-lanceoladas ou obovais, enquanto que o padrão de venação permaneceu condizente com o da espécie em estudo.

Foi contatado que a presença de ápice acuminado está relacionado com as folhas de plantas que habitam o subbosque, onde há um elevado grau de umidade (ROTH, 1984;

TURNER, 2001), como na floresta ombrófila densa. Esse ápice tem a função de drenar a água da superfície foliar acelerando a secagem da folha e consequentemente evitando o estabelecimento de organismos epífilos (DEAN; SMITH, 1978; PYYKKO, 1979). As características morfológicas manifestam-se por componentes estruturais das plantas e o seu valor aprecia-se pela sua constância, podendo ser usadas com confiança na identificação de espécies (LAWRENCE, 1973).

Estudos realizados por Nultisch (2000) descreveram também que tais diferenças contribuem para a multiplicidade de manifestações externas. De acordo com Damião Filho & Môro (2005), a folha tanto no seu aspecto externo, quanto anatômico, é o órgão que apresenta mais variação entre as espécies vegetais. Anthony et al. (2001) afirmaram que do ponto de vista filogenético a característica cor da folha jovem ou até mesmo adulta podem ser consideradas como estáveis nas bases de alguns cultivares.

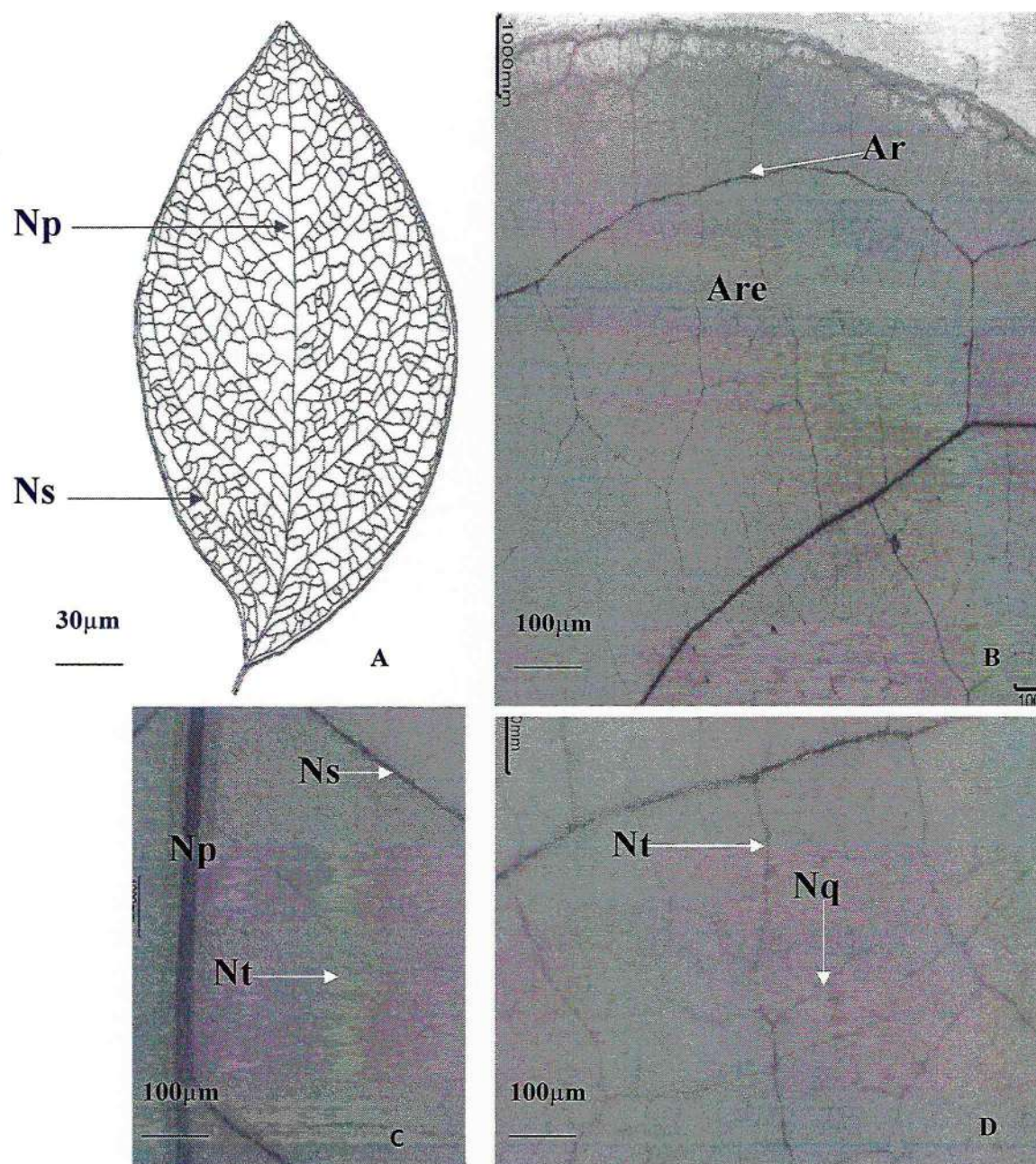


Figura 20. Padrão de venação de *Psychotria ipecacuanha* A: aspecto geral padrão broquidódromo, nervuras primária (Np), secundária (Ns), B: aréolas (Are) e arcos (Ar) derivados das nervuras secundárias (Ar), C: nervuras primária (Np), secundária (Ns), terciária (Nt), D: detalhe das nervuras terciária (Nt) e quaternária (Nq).

3.2.2 Descrição morfoanatômica da lâmina foliar de *Psychotria ipecacuanha*

Secções transversais da lâmina foliar de ipeca apresentaram o seguinte arranjo estrutural: o mesofilo do tipo dorsiventral delimitado pelas epidermes uniestratificadas em ambas as faces; as células epidérmicas adaxiais poligonais, recobertas por uma fina cutícula lisa, estando presente também na face abaxial. Além disso, foi diagnosticado que as paredes anticlinais e periclinais da face adaxial são retas, com espessamentos evidentes; geralmente, as células da face adaxial são maiores que a da face abaxial. O mesofilo possui uma camada de parênquima paliádico composto por células do tipo justapostas e aerênquima denominado clorofiliano. Enquanto, que o parênquima lacunoso possui de 3-5 estratos de células (Figura 20 A). Além disto, durante a análise em microscopia de luz, foi identificado a presença de tricomas dos tipos tectores podendo ser: uni ou tricelulares, estando localizados ao longo de toda epiderme em ambas as faces (Figura 21 B).

A presença de cutícula lisa, epiderme de paredes retas e tricomas providos de ornamentações foram, também, observados em outras espécies de Rubiaceae, tal como apresentados por Salatino et al. (1986), Nascimento et al. (1996) e Raven et al. (2007). Barthlott (1990) ressalta que a ornamentação cuticular dificilmente é visualizada em microscopia óptica. Haberlandt (1928) e Larcher (2000) afirmam que as características da membrana cuticular são de suma importância no mecanismo de proteção ao excesso de luminosidade.

O arranjo do mesofilo mostrou-se típico de mesófitas, encontrado em outras espécies de Rubiaceae (VIEIRA et al., 1992, CUNHA et al., 1993; 1997, GOMES et al., 2000; KOCSIS et al., 2004). Esse tipo de arranjo agregado com uma proporção de parênquima paliádico significativa em maior condutividade do dióxido de carbono, principalmente em plantas de sombra (IVANOVA; P'YANKOV, 2002). Contribuindo com as citações anteriores, que afirmam que a presença das células que compõem o mesofilo é característico da família Rubiaceae sendo, portanto, uma característica taxonômica adicional (VIERA, 1986;1988).

A radiação solar excessiva no ambiente estimula o desenvolvimento do parênquima paliádico, o qual pode apresentar-se com maior estratificação ou maior alongamento celular, e tornar-se um atenuante da quantidade e da qualidade da luz que atingirá todo o parênquima clorofiliano (LARCHER, 2000).

Em microscopia eletrônica foi percebido que os estômatos foram localizados na face abaxial, sendo denominado de hipostomático e o arranjo do complexo estomático classificado como paracítico (Figura. 21 D). Coutinho (1962) relata que folhas

hipoestomáticas são usuais em florestais tropicais, ressaltando que tal característica pode contribuir para proteção a obliteração das fendas estomáticas pela flora epifítica, que constantemente recobrem a face adaxial de espécies florestais. Dickison (2000) ressalta que estômatos ocorrem tipicamente na face abaxial da folha quando sua face adaxial está exposta diretamente ao sol, desta forma, a temperatura nesta região tende a ser significativamente maior do que na face abaxial, levando a uma maior taxa de transpiração.

De acordo com Metcalfe e Chalk (1979), estas características gerais são comuns ao gênero e família em estudo. Além disso, os caracteres encontrados na epiderme da ipeca são comuns em Rubiaceae, iniciando pelos tipos de estômatos paracítico, que é o mais comum na família (KOCSIS et al., 2004).

Em MEV, foi registrada a ocorrência das distribuições abundantes dos tricomas dos tipos tectores filiformes, que apresentam células subjacentes, com aspectos de rosetas, que estavam morfológicamente constituídos em média, por sete células (Figura 21 C). Além disso, foram observados que células companheiras do complexo estomático encontravam-se recobertas por camadas conspícuas de cera (Figura 19 A).

Robbrecht (1988) afirma que os tricomas presentes apresentam pequena diversidade estrutural, um caráter de fundamentação a família Rubiaceae. Os estudos realizados por Mauseth (1988) apontam a abundância de tricomas como uma característica xeromorfa importante para bloquear o excesso de luz. O aumento na densidade de tricomas pode ser considerado como uma resposta às condições mais xéricas do ambiente (FANH; CUTLER, 1992).

A forma poligonal das células epidérmicas, estruturada por paredes anticlinais retas a levemente curvas, foi verificada em outras espécies do mesmo gênero, como *Psychotria nuda* e *Psychotria leipocarpa* (VIEIRA et al., 1992), *Psychotria velloziana* (CUNHA; VIEIRA, 1993; 1997), ou em espécies de outros gêneros e habitats semelhantes, como *Rudgea decipens* Müll. Arg e *Rudgea macrophylla* Benth. (MANTOVANI et al., 1995) e espécies de *Bathysa* (GOMES et al., 2000).

Estas características refletem os caracteres da família Rubiaceae, citadas por Solereder (1908), Accorsi (1947) e Metcalfe e Chalk (1950).

Durante as análises das secções transversais da nervura central, utilizando a microscopia de luz, foi detectado que as células epidérmicas da face adaxial foram retangulares e maiores, que as células da face abaxial, sendo formando apenas um único estrato de célula em todo o conjunto. Porém, em algumas regiões pode-se observar camadas com vários extratos celulares; a região ventral foi côncava e a dorsal convexa; a face abaxial

as células tinham aspecto papilóide, com paredes anticlinais e periclinais externas sendo cobertas por uma leve cutícula e adjacente a ambas às epidermes foram encontradas em torno, de 1 a 4 camadas de células colenquimáticas com espessamento anelar, além de bainhas de fibras concêntricas localizadas ao redor dos feixes. (Figura 22 A). No centro da região em questão ocorreram feixes vasculares do tipo anficrival (Figuras 22 B-C).

Foi diagnosticado em microscopia de luz, que nas adjacências da epiderme, houve a presença de colênquima anelar constituído por três estratos celulares, voltados para a face abaxial da lâmina foliar; abaixo do estrato colenquimático sendo o parênquima fundamental formado por células arredondadas heterodimensionais ricas em cristais de várias formas e tamanhos, tais como ráfides, drusas e monocristais e cristais prismáticos. Além de conter fibras isoladas ou em grupos, os feixes mostraram-se organizados em aspectos anficlival (Figuras 23 A, B e C).

As ráfides e drusas mostraram-se mais comumente do que as referidas no gênero *Psychotria*. Lersten (1974) cita que a ocorrência de ráfides é típica da subfamília Rubioideae, a qual pertence o gênero *Psychotria*, e que a presença de drusas é frequente em espécies dessa subfamília. Entretanto, não foram encontrados relatos sobre a ocorrência de uma drusa por célula epidérmica no gênero *Psychotria*, como observado neste estudo. Na revisão feita por Nakata (2003), foi relatado que enquanto a formação de feixes de ráfides tem duas funções prováveis, a regulação de cálcio intracelular e a defesa da planta contra herbivoria. Além disso, Webb (1999) discute que pouco se sabe a respeito dos mecanismos em que as células controlam a morfologia dos cristais, sendo consenso, que estas formas estão sobre controle genético, sendo os tipos e padrões suficientemente estáveis para serem empregados com fins taxonômicos, o que corrobora a afirmação de Lersten (1974), sobre a utilização da distribuição dos cristais com tal finalidade no gênero *Psychotria*.

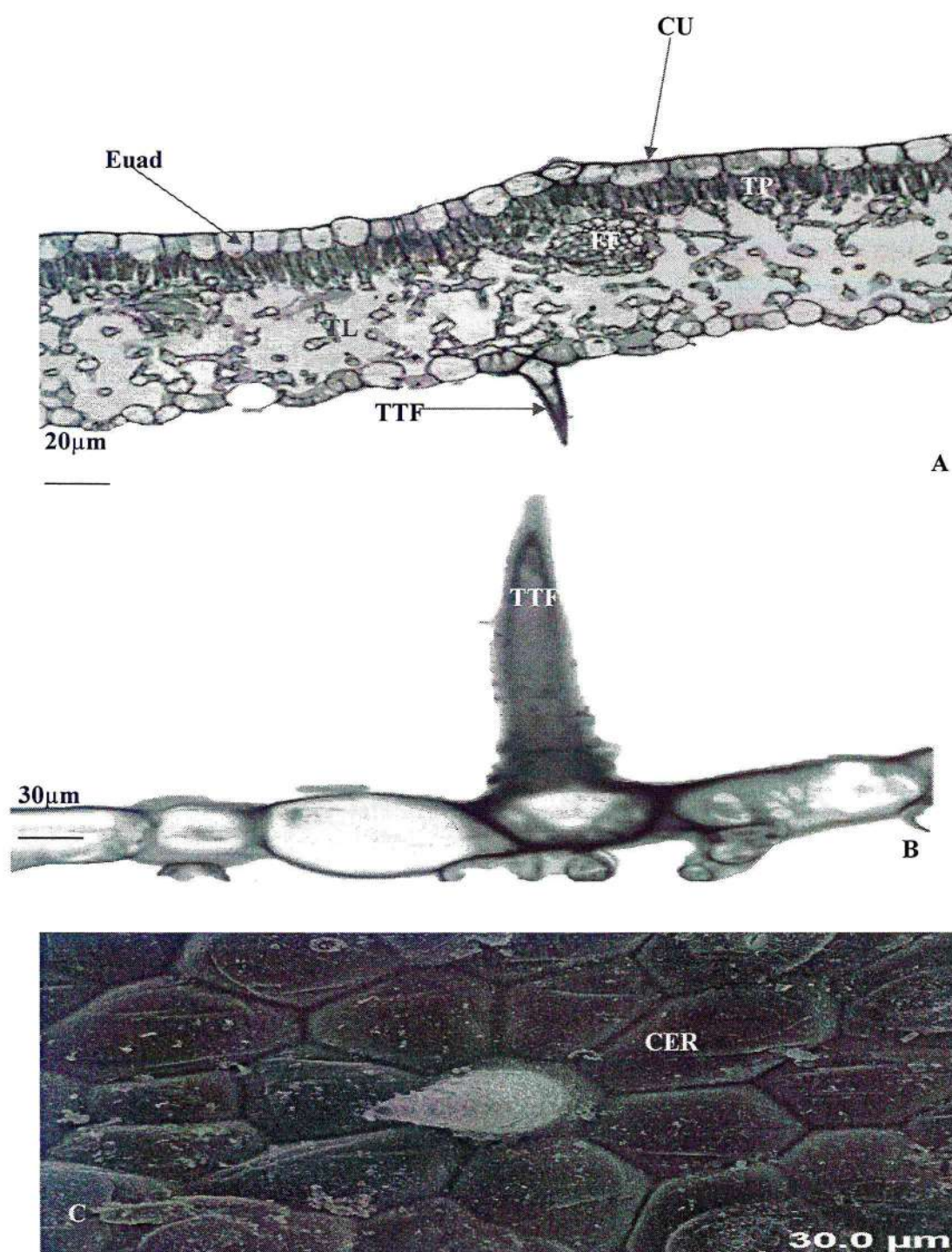


Figura 21. Fotomicrografia da lâmina foliar de *Psychotria ipecacuanha*, **A**: visão geral em corte transversal da lâmina foliar do mesófilo, epiderme uniestratificada face adaxial (Euad) com cutícula (CU), tricomas tectores filiformes (TTF) recoberto por cutícula espessa em ambas as faces, células do tecido paliádico (TP), lacunosos (TL) e feixes de fibras (FF), **B**: vista frontal do tricoma tector filiforme (TTF) recoberto por cutícula encrustado entre as células epidérmicas adaxial, **C**: MEV, visão frontal do tricoma tector filiforme, detalhes das células subjacentes em aspecto de roseta com ceras (CER).

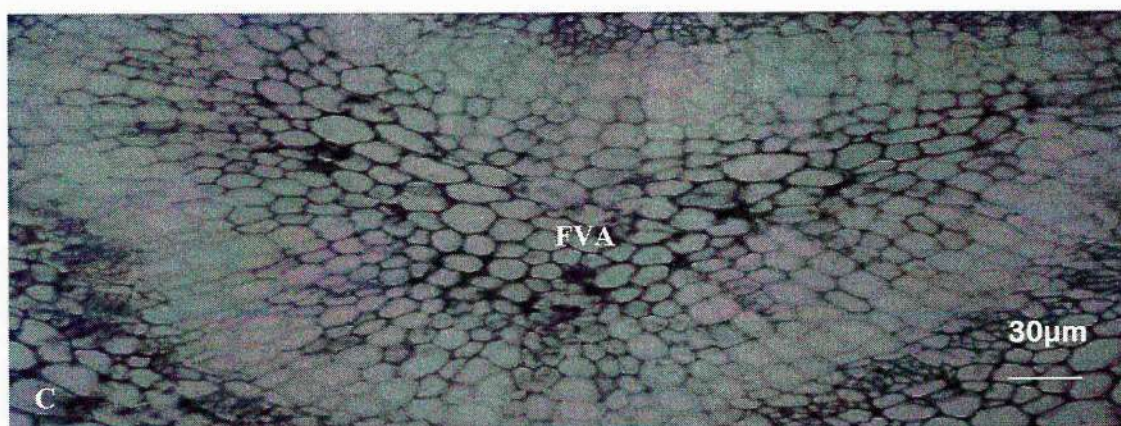
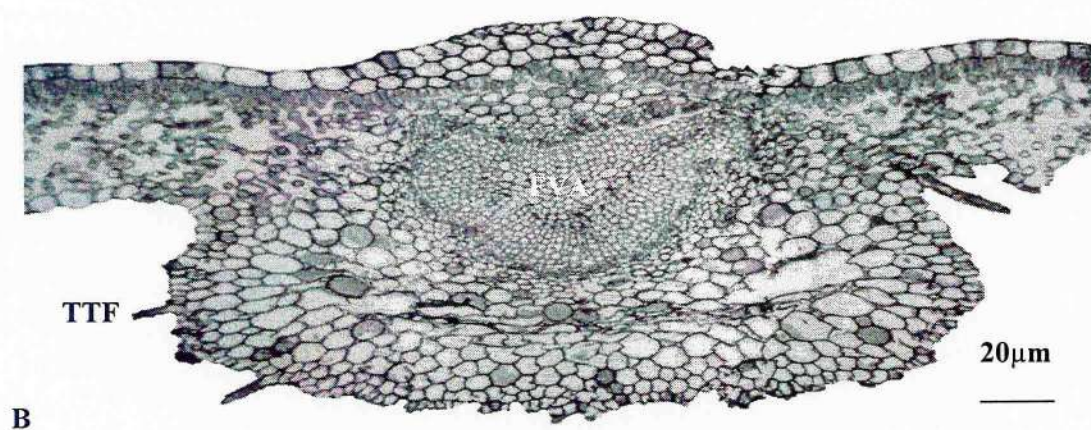
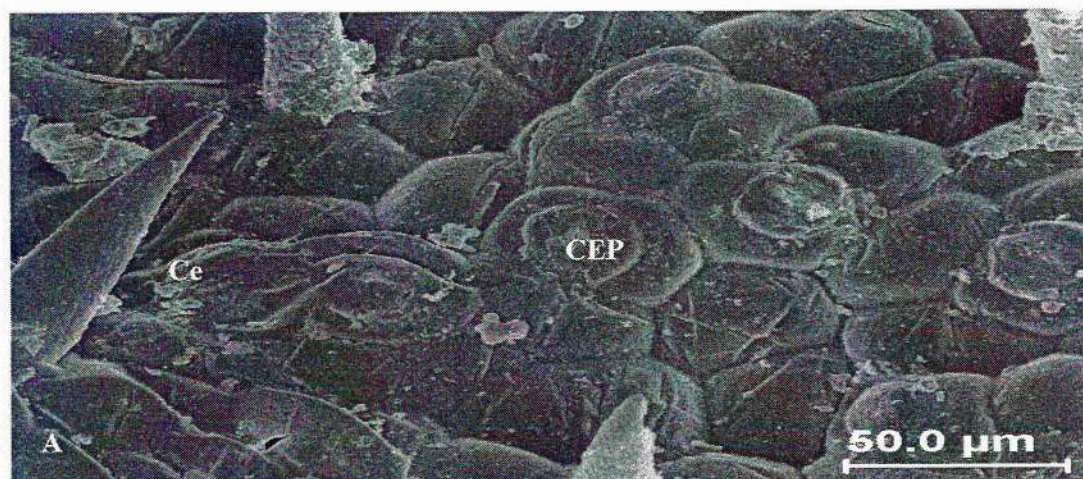


Figura 22. Fotomicrografia da lâmina foliar de *Psychotria ipecacuanha*, **A**: visão geral MEV do complexo estomático e estômatos do tipo paracítico (CEP) recobertos por camada de cera (Ce), **B**: visão geral em microscopia de luz da nervura central camada multicelular na face adaxial central (CEM), feixe vascular do tipo anficrival (FVA), **C**: detalhe do feixe vascular anficrival (FVA).

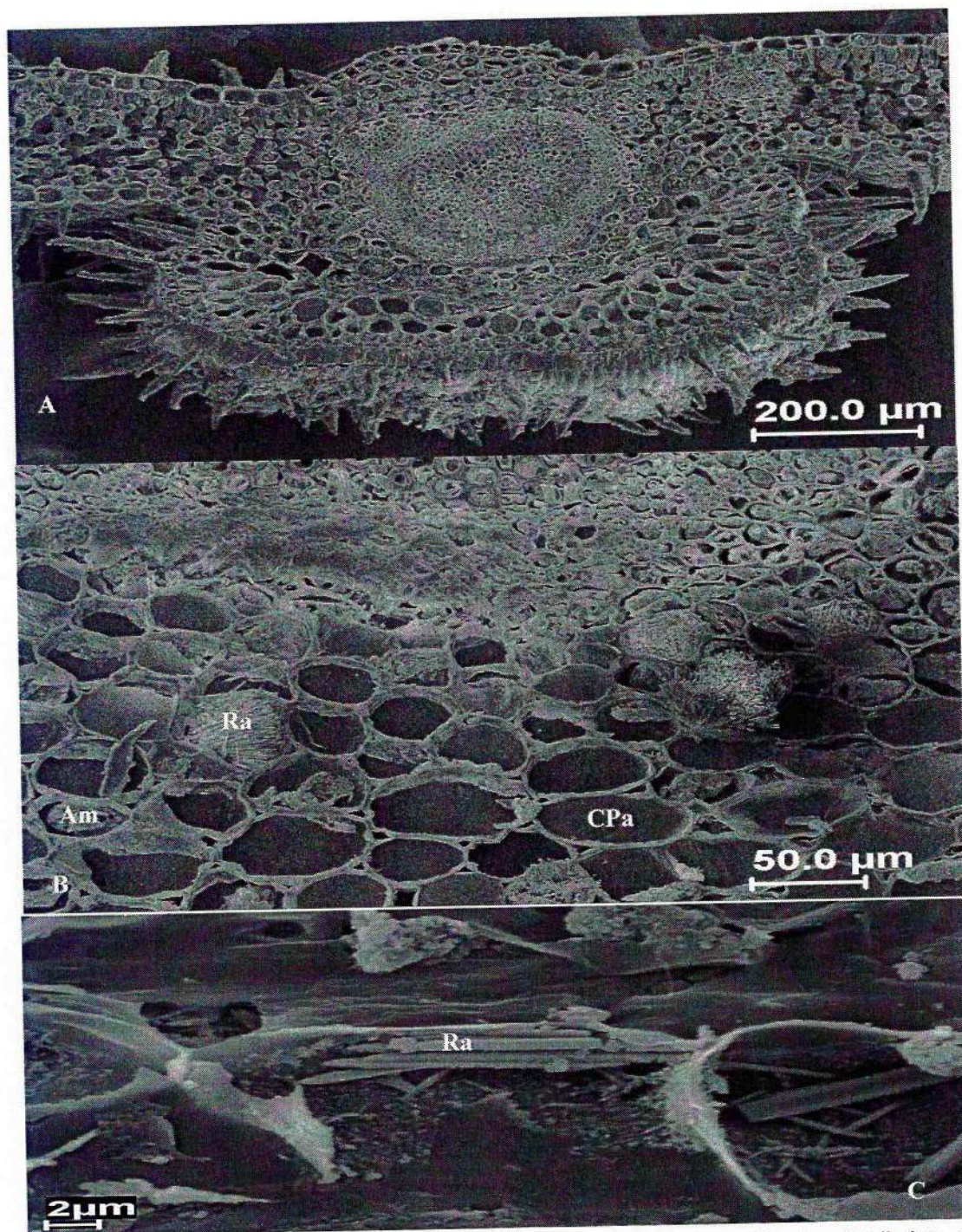


Figura 23. **A:** visão geral em MEV da nervura central com células uniestratificadas, distribuição de tricomas tectores filiformes em ambas as faces adaxial e abaxial, feixe vascular anficrival central envolvido por bainha de esclerequímica, **B:** visão em MEV, das células parenquimáticas sem conteúdo celular (CPa), e em outras com amido (Am), ráfides (Ra), **C:** detalhe de ráfides (Ra).

4 CONCLUSÕES

Dos caracteres qualitativos nove mostram-se úteis na diferenciação dos acessos, os demais não possuem fenótipos distintos. O descarte desses últimos proporciona redução no tempo, na mão-de-obra e nos custos das atividades de avaliação e caracterização em bancos e coleções de germoplasma dessa espécie.

O caráter diâmetro médio da raiz permite diferenciar os acessos de ipeca, enquanto que os quatro caracteres avaliados mostram-se capaz de agrupá-los, em pelo menos dois grupos divergentes.

O uso de ferramentas de anatomia vegetal, possibilita a descrição exata dos aspectos morfoanatômicos nos órgãos vegetativos dos acessos, possibilitando a diferenciação dos mesmos.

REFERÊNCIAS

- ACCORSI, W. R. Ocorrência das células anexas dos estômatos na família Rubiaceae. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, v. 4, p.421-436, 1947.
- AGAREZ, F.V.; PEREIRA, C.; RIZZINI, C. M. **Botânica: taxonomia, morfologia e reprodução dos Angiospermae**: chaves para determinação das famílias. 2 ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 1994, 256p.
- AGUILERA, G. J.; PESSONI, L. A.; RODRIGUES, B. G.; ELSAYED, A. Y.; SILVA, D. J. H.; BARROS, E. G. Genetic variability by ISSR markers in tomato. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Recife, v. 6, n. 2, p.243-252, 2011.
- AMARAL JUNIOR, A.T, THIEBAUT, J. T. **Análise multivariada na avaliação de diversidade de recursos genéticos vegetais**. Campo dos Goytacazes-Rio de Janeiro-Universidade Estadual do Norte Fluminense-RJ, p.55, 1999.
- ANTHONY, F.; BERTRAND, B.; QUIROS, O.; WILCHES, A.; LASHERMES, P.; BERTHAUD, J.; CHARRIER, A. Genetic diversity of wild coffee (*Coffea arabica* L.) using molecular markers. **Euphytica**, v.118, p.53-65, 2001.
- ARNHOLD, E., SILVA, R., VIANA, J. Seleção de linhagens S5 de milho-pipoca com base em desempenho e divergência genética. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.32, n. 2, p. 279-283, 2010.
- ASSIS, M. C; GIULIETTI, A. M. Morphological and anatomical differentiation in: populations of "ipecacuanha"- *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, n.22, p. 205-216, 1999.
- ATAL, C. K.; KAPUR, B. M. **Cultivation and utilization of medicinal plants**. Regional Research Laboratory, Jammu-Tawi. India. Editores. 1982.
- BARTHLOTT, W. Scanning electron microscopy of the epidermal surface in plants. In: Claugher D [ed.], **Scanning electron microscopy in taxonomy and functional morphology**, p. 69-94, 1990. Clarendon, Oxford.
- BEKELE, F.L.; KENNEDY, A. J.; McDAVID, C.; LAUCKNER, F.B.; BEKELE, I. Numerical taxonomic studies on cacao (*Theobroma cacao* L.) in Trinidad. **Euphytica**, Dordrecht, v.75, n. 3, p.231-240, 2006.
- BERTINI, C. H. C. DE M., TEÓFILO, E. M., DIAS, F. T. C. (2009) Divergência genética entre acessos de feijão-caupi do banco de germoplasma da UFC. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n.1, p. 99-105, 2010.
- BOZZOLA, J. J.; RUSSEL, L. D. **Electron microscopy: principles and techniques for biologists**. New York: Jones and Barlett Publishers, 1991, 452p.
- CAMPOS, A. L. de. et al. Avaliação de acessos de mandioca do banco de germoplasma da UNEMAT Cáceres - Mato Grosso. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 04, n. 02, p. 44-54, 2010.
- CARVALHO-OKANO, R. M. **Estudos taxonômicos do gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (CELASTRACEAE) do Brasil extra-amazônico**. 1992. 253p. Tese (Doutorado em Ciências - Biologia Vegetal) - Universidade de Campinas, Campinas.
- CARLQUIST. **Comparative plant anatomy. A guide to taxonomic and evolutionary application of anatomical data in angiosperms**. New York. Holt, Rinehart and Winston, 1962, 143p.
- CASTRO, A. A. J. F. **Morfologia e sistemática vegetal: roteiros teóricos e práticos**. Teresina: reprodução particular, 2006.
- COIMBRA, R. R., MIRANDA, G. V., CRUZ, C. D., MELO, A. V. DE, ECKERT, F. R. Caracterização e divergência genética de populações de milho resgatadas do Sudeste de Minas Gerais. **Rev. Ciênc. Agron.**, v.41, n.1, p. 159-166, 2010.
- COLLEVATTI, R. G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J. D. Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliensis*, based on variability at

- microsatellite loci. **Molecular Ecology**, Oxford, v.10, n. 2, p.349- 356, Feb. 2001.
- COSTA, M. P.; PINTO, J. E. B.; FRANÇA, S. C.; LAMEIRA, A. O.; CONCEIÇÃO, H. O.; SANTIAGO, E. J. A. Crescimento e teor de emetina em plantas de ipeca (*Cephaelis ipecacuanha* A. Richard.) obtidas *in vitro* e submetidas às condições de soluções nutritivas em casa de vegetação. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, n. 24, p. 46-5 REASE GE; EVANS WC. 1988. **Tratado de farmacognosia**. México: Nueva Editorial Interamericana. p.611- 615, 2000.
- COSTA, M. R.; OLIVEIRA, M. do S. P.; MOURA, E. F. Variabilidade genética em açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v.21, p. 46-50, jul./ago. 2002.
- COSTA, F. G. **Extrativismo de jaborandi na região de Carajás: histórico, situação atual e perspectivas**. Lavras: Ufla, Monografia. 2005, 41p.
- COUTINHO, L. M. Contribuição ao conhecimento da ecologia da mata pluvial tropical. **B. Fac. Fil. Cio Leu: USP BOL.** São Paulo, n.18, p.1-219. 1962.
- CUNHA, M.; CARDOSO, R. Anatomia foliar de *Psychotria velloziana* (Benth)- Rubiaceae. **Rodriguesia-Rj**, v. 45, p.45-49, 1997.
- CHRISTIANSEN, J. L.; RAZA, S.; ORTIZ, R. White lupin (*Lupinus albus* L.) germplasm collection and preliminary in situ diversity assesment in Egypt. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.46, p.169-74, 1999.
- CRUZ, C. D.; CASTOLDI, F. L. Decomposição da interação genótipos x ambientes em partes simples e complexa. **Revista Ceres**, v. 38, n. 219, p. 422-430, maio/jun. 1991.
- CRUZ, C. D.; SCHUSTER, I. **GQMOL - Aplicativo computacional para análise de dados moleculares e de suas associações com caracteres quantitativos**. Versão 2004. 2.1. Viçosa, MG: UFV, 2004.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2006, 585p.
- CUNHA, M.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Psychotria velloziana* Benth. **Rodriguesia**, v.45-49, n.71-75, p.39-50,1993-1997.
- DATTATREYA, A.; RANKIN, S. A. Moderately acidic pH potentiates browning of sweet whey powder. En: **International Dairy Journal**, n. 16, p. 822-828, 2010.
- DEAN, J. M.; SMITH, A. P. Behavioral and morphological adaptations of a tropical plant to high rainfall. **Biotropica**, Lawrence, v. 10, p.152-154, 1978.
- DICKISON, W. C. **Integrative Plant Anatomy**. Academic Press, USA. 2000, 533p.
- FAHN, A.; CUTLER, D. F. **Xerophytes**. Gebrüder Borntraeger, Berlim. 1992. 180p.
- FELIPE, G. M.; ALENCASTRO, F. M. Contribuição ao estudo da venação foliar das Compostas dos cerrados. 1. Tribos Hilinieae, Heliantheae, Inuleae, Mutisiaceae e Secioneaeae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Rio de Janeiro. v. 38, 125-158 (Suplemento), 1966.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar: sistema de análise de variância para dados balanceados**, versão 5.1 Build 72. Lavras: DEX/ UFLA, 2007.
- FUKUDA, W. M. G.; GUEVARA, C. L. **Descritores Morfológicos e Agronômicos para a Caracterização de Mandioca (Manihot esculenta Crantz)**. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, 1998, 38p.
- GONÇALVES, T. C. M., S. C. NEVES-NEVES, J. R. S. MALLET, A. L. CARBAJAL-DE-LA- FUENTE AND C. M. LOPES. *Triatoma jatai* sp. nov. in the state of Tocantins, Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n. 108, p. 429-437, 2007.
- GOMES, D. M. S.; MANTOVAN, A.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Psychotria tenuinervis* Muell. Arg.e *Psychotria stenocalix* Muell. Arg. (Rubiaceae).

Arquivos de Biologia e Tecnologia, v.38, n.1, p.15-33, 2000.

GOMES, F.; GARCIA, C. H. **Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais**. Piracicava: FEALQ, v.11, p.309, 2002.

GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C.P.; BENTO, C. S.; MOULIN, M.M.; ARAÚJO, M. L.; DAHER, R. F.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M. G. Divergência genética em tomate estimada por marcadores RAPD em comparação com descritores multicategóricos. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.364-370, 2008.

HAYATI, A.; WICKNESWARI, R.; MAIZURA, I.; RAJANAIDU, N. Genetic diversity of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) germoplasm collections from Africa: implications for improvement and conservation of genetic resources. **Theoretical Applied Genetic**, Berlin, v.108, n.7, p. 1274-1284, May 2004.

HANDRO, W. Contribuição ao estudo da venação foliar das Amarantáceas dos cerrados.

Anais da Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, v. 36, n.4, p. 479-499, 1964.

HYCKEY, L. J. Classificación de la arquitectura de las hojas de dicotiledóneas. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 16, n.1-2, p.1-16, 1974.

IVANOVA, L. A.; PYANKOV, V. I. Structural adaptation of the leaf mesophyll to shading. **Russian Journal of Plant Physiology**, v.49, n.3, p.419-431, 2002.

JEWELL, F. F. Softening slash pine tissues for serial sectioning. **Stain Technology**, v. 33, n. 4, p. 191-192, 1958.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. 2th ed. New York: McGraw-Hill, 1940, 523p.

JOLY, A. B. **Botânica; introdução à taxonomia vegetal**. 4 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1977, 777p.

JORDAN, C. F. **Nutrient Cycling in tropical Forest Ecosystems**. Georgia: John Wiley e Sons, 1985.

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

LAWRENCE, G. H. M. **Taxonomia das plantas vasculares**. Lisboa: Fundação Caluste Gulbekian, v.1, 296 p, 1973.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2000, 531p.

LERSTEN, N. R. Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, v.61, n. 9, p. 973-981, 1974.

MAXTED, N.; PAINTING, K.; GUARINO, L. Ecogeographic surveys: training materials. **International Plant Genetic Resources Institute**. Itália: IPGRI, 1997. 54p. Disponível em <<http://www.cgiar.org/ipgri/TRAINING/5-2/index.htm>>. Acesso em: 18 jan. 2013.

MANLY, B. F. J. **Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in Biology**. London: Chapman & Hall, 1997.

MANTOVANI, A.; GOMES, M.; GOMES, D. M. S.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Rudgea decipiens* Müell. Arg. e *R. macrophylla* Benth. (Rubiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.9, n.2, p.247-261, 1995.

MARIOT, M. P. **Recursos genéticos de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* e *M. aquifolium*) no Rio Grande do Sul**. 2005. 131p. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de Fitomelhoramento) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MAUSETH, J. D. **Plant Anatomy**. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., California, 1988, 560p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, v.2. 1500p., 1950.

- METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**. 2.ed. v.1. Oxford: Editora Clarendon Press. 1979.
- MCDOWELL, A.; TRUMP, F. Histological fixatives for diagnostic light and electron microscopy. **Arch. Pathol Lab. Med.**, 1976, p. 405-414.
- McKAY, J. K.; LATTA, R. G. Adaptative population divergence: markers, QTL and traits. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 17, n. 6, p. 285-291, June 2002.
- NAKATA, P. A. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. **Plant Science**, v.164, p.901-909, 2003.
- 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.
- NULTSCH, W. **Botânica Geral**. Porto Alegre: Artmed. 10 ed., 2000, 489p.
- PANTHEE, D. R.; PANTALONE, V. R.; WEST, D. R.; SAXTON, A. M.; SAMS, C. E. Quantitative trait loci for seed protein and oil concentration and seed size in soybean. **Crop Science**, v.45, p.2015-2022, 2005. DOI: 10.2135/cropsci2004.0720.
- PERERA, L.; RUSSELL, J. R.; PROVAN, J.; POWELL, W. Levels and distribution of genetic diversity of coconut (*Cocos nucifera* L., var. *Typica* form *typica*) from Sri Lanka assessed by microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, v.122, n. 2, p.381-389, 2001.
- PEREIRA, Z. V.; MEIRA, R. M. S. A.; AZEVEDO, A. A. Morfoanatomia foliar de *Palicourea longepedunculata* Gardiner (Rubiaceae). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 6, p. 759-767, 2003.
- PURVIS, M. J.; COLLIER, D. C.; WALLS, D. **Laboratory techniques in botany**. London: Butterworths, 1964, p.152.
- PYYKKO, M. Morphology and anatomy of leaves from some woody plants in a humid tropical forest of Venezuelan Guayana. **Acta Botanica Fennica**, n. 112, p.1-41, 1979.
- RAMALHO, M.A P.; Goiânia: UFG, 1993, 272p.
- RAVEN, P. H.; EVERT R. F.; EICHHORN SANTOS, J.B. dos; ZIMMERMANN, M.J. **Genética Quantitativa em plantas autógamas**. S. E. **Biologia Vegetal**. 7th ed. Editora Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 2007.
- ROBBRECHT, E. Tropical wood Rubiaceae. **Opera Bot Belg**, n. 1, p. 1-271, 1988.
- ROTH, I. **Stratification of tropical forest as seen in leaf structure**. Tasks for Vegetation Science. Ed. , G.; SALATINO, M. L. F. Microscopia eletrônica de varredura de superfícies foliares de espécies lenhosas do cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 9, n. 2, p.117-124, H. Lieth. Junk, The Hague, 1984.
- SENSOY, S.; BUYUKALACA, S.; ABAK, K. Evaluation of genetic diversity in Turkish melons (*Cucumis melo* L.) based on phenotypic characters and RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.59, n.1, p.1-16, 2006.
- SILVA, R.S. **Morfologia Floral Comparativa de *Psychotria ipecacuanha* (BROTE) STOCKES (RUBIACEAE) nas Florestas Amazônica e Atlântica**, Universidade Federal de Viçosa, Tese de Doutorado, 55p, 2006.
- SIQUEIRA, C.M.F.; NOGUEIRA, J.C.B.; KAGEYAMA, P.Y. Conservação dos recursos genéticos *ex situ* do cumbaru *Dipteryx alata* Vog.- Leguminosae. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v.5, n.2, p.231-243, 1993.
- SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. Vol. II. Clarendon Press, Oxford. 1908, 1182p.
- SUDRÉ, C. P.; LEONARDECZ, E.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; 43
- MOURA, M.C. L.; GONÇALVES, L. S. A. Genetic resources of vegetable crops: a survey in the Brazilian germplasm collections pictured through papers published in the journals of the Brazilian Society for Horticultural Science. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 4, p. 496-503, 2007.
- TELLES, M. P. C.; SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; DINIZ FILHO,

- J. A. F. Divergência entre subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) em resposta a padrões edáficos e distribuição espacial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n. 11, p. 1387-1394, 2001.
- TREASE, G. E; EVANS W. C. **Tratado de farmacognosia**. México: Nueva Editorial Interamericana, 1988, p.611-615.
- TURNER, I. M. **The ecology of trees in the tropical rain forest**. New York: Cambridge University Press, 2001.
- WEBB, M. A. Cell - Mediated crystallization of calcium oxalate in plants. **The Plant Cell**, v.11, p.751-761, 1999.
- VIEIRA, R. C. *Toxoyena bullata* (Vell.) Mart (Rubiaceae). Anatomia foliar. **Rodriguesia**, v.64/66, n.38/40, p. 33-39, 1986/1988.
- VIEIRA, R. C.; GOMES, D. M. S.; FERRAZ, C. L. A. Anatomia foliar de *Psychotria nuda* Wawra e *Psychotria leiocarpa* Mart. (Rubiaceae). **Hoehnea**, v.19, n.1/2, p. 185-195, 1992.
- VIEIRA, R. F. Conservation of medicinal and aromatics plants in Brazil. In: JANICK, J. **Perspective on new crops and new uses**. Alexandria: ASHS Press, 1999, p.152-159.
- VIEIRA, R. C.; GOMES, D. M. S.; FERRAZ, C. L. A. Anatomia foliar de *Psychotria nuda* Wawra e *Psychotria leiocarpa* Mart.(Rubiaceae). **Hoehnea**, v.19, n.1/2, p.185-195, 1992.
- XAVIER, K. G. Divergência genética em clones de *Eucalyptus* avaliada por marcadores RAPD, e variações nas propriedades da madeira. **Dissertação de Mestrado** (Engenharia Florestal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento de caracteres morfológicos em nível externo, favorece a diferenciação fenotípica entre as espécies, o que possibilita a separação de indivíduos com menor potencial de similaridade. Para os caracteres qualitativos pode-se utilizar as diferenciações morfológicas fenotípicas. Mas deve-se ter cuidados, em relação aos aspectos externos, pois, as colorações devem ser baseadas em estudos de outras espécies com comprovação científica, para que não haja divergências ao acaso e ineficácia, em relação aos estudos. Já para os caracteres quantitativos, foi diagnosticado que nos acessos das plantas de jaborandi as dissimilaridades encontradas são significativas para os caráter AP e CPe, para a ipeca o caráter Dmed e para o curauá, AP e CF.

A formação de agrupamentos em dendogramas, devido à aplicabilidade de métodos quantitativos, possibilita a indicação de clados divergentes, através dos caracteres morfológicos. Para as plantas jaborandi e ipeca, 3 grupos divergentes foram identificados. Os genótipos NBB (jaborandi), 746 e 714 (ipeca) e ER (curauá) ficaram isolados em um único grupo, mostrando características específicas e diferenciadas aos demais.

Caracteres morfoanatômicos da lâmina foliar dos acessos não apresentam diferenças morfológicas e nem anatômicas. Porém, a utilização da anatomia nos órgãos vegetativos é uma excelente ferramenta para estudos de caracteres.

Cristas polimórficos distintos podem contribuir como caráter de diferenciação, pois, observa-se a ocorrência de polimorfia.