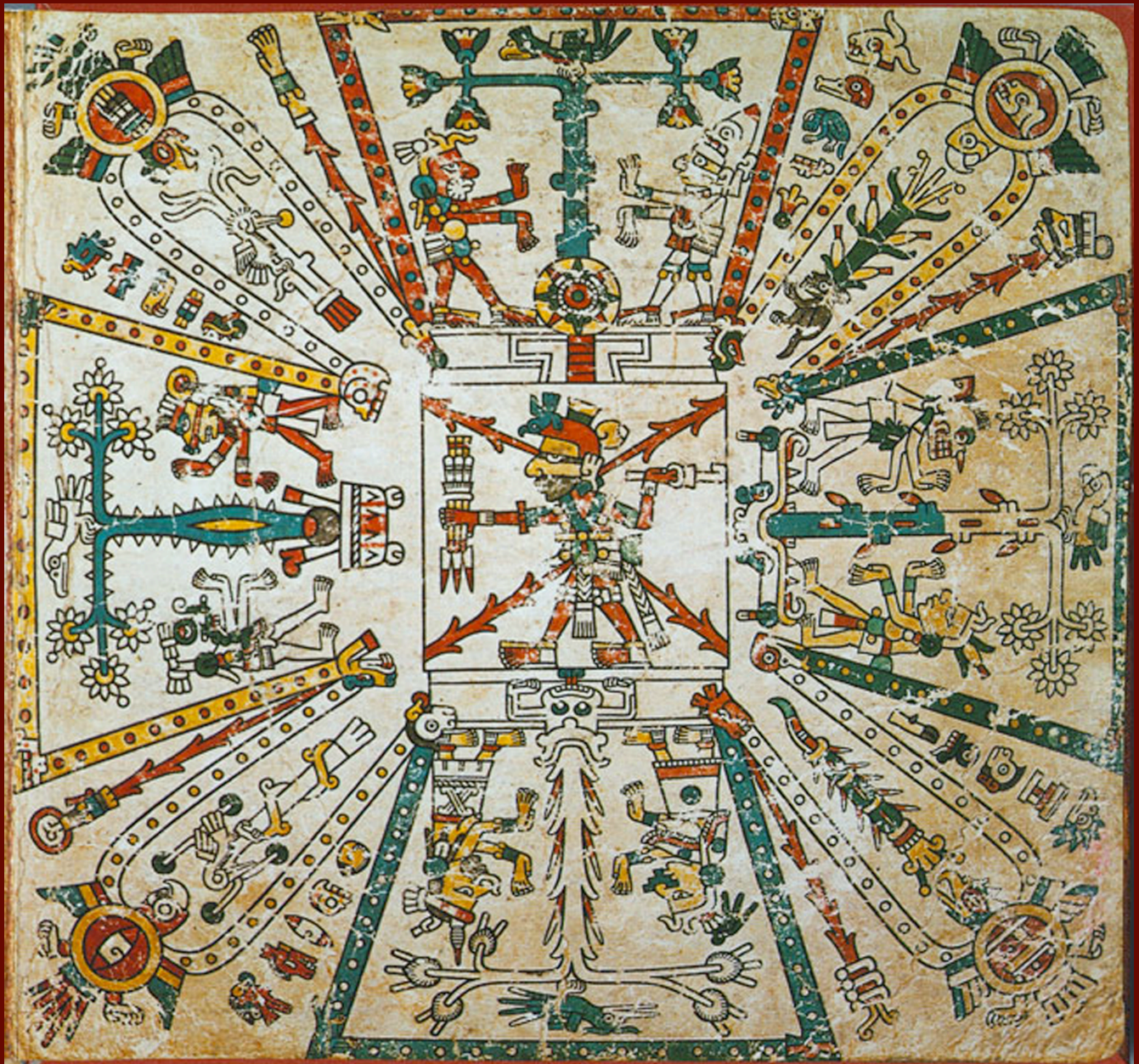


MARCELO RODRIGO PACE

EVOLUÇÃO DA VARIAÇÃO CAMBIAL E DO FLOEMA SECUNDÁRIO EM BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE)



SÃO PAULO
2009

MARCELO RODRIGO PACE

EVOLUÇÃO DA VARIAÇÃO CAMBIAL E DO
FLOEMA SECUNDÁRIO EM BIGNONIEAE
(BIGNONIACEAE)

SÃO PAULO
2009

MARCELO RODRIGO PACE

EVOLUÇÃO DA VARIAÇÃO CAMBIAL E DO
FLOEMA SECUNDÁRIO EM BIGNONIEAE
(BIGNONIACEAE)

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências
da Universidade de São Paulo, para a obtenção do
título de Mestre em Ciências, na área de Botânica.

Orientação: Prof. Dr. Veronica Angyalossy

SÃO PAULO
2009

PACE, MARCELO RODRIGO

2009

EVOLUÇÃO DA VARIAÇÃO CAMBIAL E DO FLOEMA SECUNDÁRIO EM
BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE)

123 PÁGINAS

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

I. Variação cambial 2. Evolução 3. Desenvolvimento 4. Caule 5. Floema secundário 6. Bignoniaceae

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Prof. Dr. Veronica Angyalossy

*Nothing in biology makes sense except in the
light of evolution.*

Theodosius Dobzhansky
The American Biology Teacher 35

Com muito carinho, admiração e amor dedico este trabalho à minha mãe, por ter-me transmitido todo o seu amor pelas plantas e por torcer pelo meu sucesso.

AGRADECIMENTOS

À **Universidade de São Paulo**, ao **Instituto de Biociências** e em especial ao **Laboratório de Anatomia Vegetal** e todos os que nele trabalham, no qual passei os últimos oito anos da minha vida, no qual me formei e que me acolheu com tanto carinho.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** – CAPES, pelos dois anos de bolsa concedida, e ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico** - CNPQ, pelo auxílio.

Aos meus pais, tão amados e queridos, **Adriana De Grandis Pace** e **Héctor Eduardo Pace**, cujo apoio sentimental, profissional e financeiro foi crucial para a elaboração desse trabalho. Sem o esforço e carinho de vocês este trabalho não existiria.

À minha orientadora, **Prof. Dr. Veronica Angyalossy**, pessoa que admiro profundamente e que entrou na minha vida para me ensinar tudo que sei de anatomia vegetal e muito mais do que isso, mostrando-me o quanto a confiança que depositamos no próximo lhe permite crescer, a importância de sabermos errar e consertar nossos erros e a precisão científica que é nosso dever. Agradeço-a ainda pela amizade e carinho que sempre tivemos em nosso intenso convívio. Neste trabalho há horas e horas, mais do que conseguimos contabilizar, de análises no microscópico, leituras de textos e revisões das quais tive a sorte e honra em ter sua companhia. Muito obrigado!

À nossa colaboradora, **Prof. Dr. Lúcia G. Lohmann**, que tem óbvia influência no tema dessa dissertação, por criar um ambiente acadêmico constante em suas reuniões semanais de grupo, por ter me transmitido da maneira mais generosa seus conhecimentos e informações que foram cruciais para meu crescimento profissional.

Aos **professores de ciências e biologia** que passaram pela minha vida e marcaram-na profundamente. Em especial à **Prof. Mônica**, que na sexta série abriu-me as portas para um mundo pelo qual me apaixonei e continuo apaixonado. Suas aulas me transportavam a outra dimensão. Agradeço ainda ao **Prof. Carlos Seix**a, que aos meus 13 anos me nomeou auxiliar do laboratório da escola e me permitiu ter um contato intenso com a biologia desde cedo. À professora **Sônia Barra**, pela convivência e ensinamentos diários no laboratório e por apoiar minhas iniciativas. Agradeço ainda ao **Prof. Dan Edesio Pinseta**, modelo de professor que carregarei para sempre, com aulas que só aumentavam minha certeza do amor à biologia. Muito obrigado!

Ao **Cassiano Luiz Mecchi**, por nossos sete anos juntos e por acompanhar de perto minha saga na biologia, desde a graduação quando cursava Taxonomia de Fanerógamas (quantas risadas você não deu por esse nome), vivendo comigo cada momento de alegria e estresse, na iniciação científica e no mestrado. Se você hoje sabe o que é um grupo monofilético e um terceiro folíolo modificado em gavinhas é porque teve muita paciência em me ouvir e por isso tem todo o meu amor.

A todas as pessoas que me ajudaram a coletar as mais de 50 espécies estudadas aqui, em especial ao **Alexandre Zuntini**, que nunca poupou esforços em me trazer amostras de Linhares e a quem devo a maioria das amostras, à **Mariane de Souza-Baena**, cúmplice nesse trabalho, ao **Márdel Lopes**, que encontrou *Perianthomega* em Viçosa, ao **Milton Groppo**, primeiro a coletar comigo, aqui na reserva da Mata da biologia, à **Diana Sampaio**, pela disponibilidade e carinho com que me recebeu em Uberlândia para coletar os arbustos, à **Dr. Luzmilla Arroyo** e **Daniel Villaboel**, pela aventureira coleta em Santa Cruz e Chuquisaca (Bolívia). Agradeço ainda ao **Dr. Regis Miller**, em Madison (EUA), pelo envio de amostras estudadas pela Graciela dos Santos e que estão depositadas na xiloteca MADw, e ao agrônomo **Harri Lorenzi**, pelo carinho e disponibilidade em ajudar com os quais nos recebeu para coletar em sua propriedade particular em Nova Odessa.

Aos professores do laboratório de Anatomia Vegetal, de hoje e antes, em ordem alfabética: **Prof. Gladys Flávia Albuquerque de Pinna**, **Prof. Gregório Ceccantini**, **Prof. Jane Kraus** e **Prof. Maria Emilia Maranhão Estelita**. Com cada qual aprendi um pouco mais sobre a anatomia das plantas e não só, mas também sobre os caminhos da vida. Menção especial à **Prof. Nanuza Luiza de Menezes**, por encantar com seu amor à botânica e à anatomia vegetal e por tornar o laboratório de anatomia um local muito estimulante.

Ao grande companheiro, amigo, **Antônio Carlos Franco Barbosa**, cientista das técnicas, por ter-me transmitido seus conhecimentos (com trilha sonora variando de Aznavour à música folclórica), ensinado-me com toda paciência e companheirismo a emblocar, cortar e montar lâminas histológicas. Sem seus ensinamentos teria sido impossível desenvolver este trabalho e sem a sua presença este mundo teria menos cores.

À **Karel Verbeek**, que da Bélgica que mandou informações sobre o codex *Fejérváry-Mayar* e pelo interesse nas Bigs.

À maravilhosa **Dr. Marli Pereira Botânico**, que foi quem primeiro me acolheu e me ajudou, que foi minha primeira orientadora e me ensinou o bê-á-bá da botânica. Amiga, te adoro e sou eternamente grato por tudo!

À querida amiga **Susana Alcântara**, cuja contribuição para as reconstruções foi crucial, desde o básico até a interpretação dos resultados, não poupando esforços em ajudar, ainda que a distância. Tenho certeza que você despontará como uma grande botânica.

À **Mariane de Souza-Baena**, grande amiga, companheira de longa data, por dividir sofrimentos, alegrias, por sempre torcer por mim com toda sinceridade e por ser uma pessoa tão agradável, divertida e linda. Eu desejo todo o sucesso do mundo para você e que nossas vidas se cruzem muitas vezes!

Ao **André Lima**, pelas várias revisões, pelas idéias intercambiadas e pelas fotos de *Tynanthus*.

À **Marina Cattai**, amiga que compartilhou da mesma orientação e com quem desenvolvi um convívio maravilhoso e que espero que sempre se mantenha. Te desejo muito sucesso!

Aos “meus” estagiários **Virgínia Martinelli**, **Tales Kishimoto** e **Natacha Lorido**, pela grande ajuda e companheirismo.

Às queridas amigas **Juliana Lovo** e **Viviane Jono**, que foram companheiras de final da dissertação e que me ajudaram a entender um monte de coisas e foram excelentes companheiras. Muito sucesso pra vocês!

A todos os alunos do **GEEBIC** (Grupo de Estudo em Evolução e Biologia Comparada) e do **GAVUSP** (Grupo de Discussões do Laboratório de Anatomia Vegetal da USP) pelos comentários nos manuscritos, companheirismo cotidiano e disponibilidade em ajudar.

À **Gisele Costa**, técnica excepcional, que convive comigo e me agüenta há anos, desde que tentei explodir o laboratório lançando ácido nítrico no descarte de corantes, pelas risadas, comilanças, amigos secretos (ainda tenho e uso a toalhinha) e tudo o mais. Te adoro!

Aos meus colegas e **amigos do laboratório de anatomia** de hoje e ontem. Do Pré-Cambriano (em ordem alfabética) a Adriana Costa (Dri), Ana Maria Yoshitake, Cláudia Vecchi (que conseguiu-me o estágio), Dalva Graciano (pra quem primeiro estagiei), Erika Amano, Hilton Ozório, Luciana Witovsk Gussella, Mariane de Souza-Baena, Marina Blanco Cattai, Marina Milanello, Marli Botânico, Marccus

Alves, Patrícia Soffiatti, Rosaly Strassburg, Rosani Arruda, Vera Gomes (Verinha querida) e Vivi Jono. Do Mesozóico a Deusa Deise de Abreu, Cristiane Gonçalves, Emília Arruda, Giuliano Locosselli, Guilherme Freire, Paula Elbl, Thaís Muntoreano. Do presente o André Lima (companheiro de Bignoniáceas), Bianca Brasil, Cairo Faleiros, Carla Verna, Celina Nakamura, Flávia Nascimento, Gustavo Burin (Ari), José Hernandez, Luiz Horta, Marlene Luz, Natacha Lorido, Natália Antonutti, Renata Lemos, Vanessa Romero Godofredo, Ricardo Cardim, Tássia dos Santos.

Menções especiais ao **Giuliano Locosselli** e **Ari**, que tanto me ajudaram com fotos e inferências estatísticas.

Ao professor emérito **Ray F. Evert**, pelos importantíssimos comentários e correções no primeiro capítulo e por servir de modelo de que o tempo só nos traz mais sabedoria e de que nunca devemos segmentar nosso conhecimento, mas sempre buscar integrar e congregar diferentes campos do saber.

À **Dr. Robyn Burham**, por seu interesse na anatomia das lianas e por ter se voluntariado a revisar o inglês no primeiro capítulo.

Ao querido amigo **Dewey Litwiller**, pelas nossas viagens juntos, risadas, e pela correção do inglês no primeiro capítulo e ao **Dr. Hugo Cota-Sanchez**, pelas dicas na preparação da qualificação.

Aos professores **Edenise Segala Alves**, **Nanuza Luiza de Menezes** e **Paulo Takeo Sano**, pelos comentários na qualificação.

À **Juana Gismero Ordoñez**, minha “jefa y compañera” no Colégio Miguel de Cervantes, que sempre me apoiou e soube entender quando tive que dizer *no* devido ao compromisso com a dissertação. ¡Gracias!

À minha maravilhosa irmã, **Gabriella Pace**, que sempre me apoiou, de perto ou de longe, que sempre esteve presente (apresentação de iniciação científica, qualificação) e que é uma amiga para todas as horas e uma cúmplice para todos assuntos.

E às minhas amigas de adolescência, que estudaram na escola comigo e que me acompanham desde então. Elas conhecem o nome de um monte de gente desses agradecimentos sem nunca tê-las visto, mas por terem ouvido falar nelas umas quantas vezes: **Fernanda Castanho Pereira dos Santos**, **Juliana Sette Sabbato** e **Marianne Thamm de Aguiar**. Adoro-as!

RESUMO

Lianas de Bignoniaceae são reconhecidas por apresentarem uma variação cambial em seus caules, que promove a formação de cunhas de floema que interrompem o xilema. Uma grande diversidade de formas anatômicas foram descritas para esta variação, assim como o floema resultante dela também foi descrito como sendo distinto do floema normal presente concomitantemente nestes caules. Entretanto, nada se sabe sobre a origem, evolução e diversificação das características anatômicas neste grupo. Por essa razão, o presente estudo teve como objetivo uma análise anatômica dos caules de Bignoniaceae num contexto filogenético, com o intuito de lançar hipóteses para a evolução da diversidade anatômica na tribo. Para tanto, foi realizada uma análise anatômica caulinar de 54 espécies de Bignoniaceae, representantes dos 21 gêneros atualmente reconhecidos. Nossos resultados apontam que, não obstante a grande diversidade anatômica presente nos caules de Bignoniaceae, todas compartilham estágios comuns de desenvolvimento, seguidos de adições terminais que promoveram o aumento da complexidade em seus caules. Além disso, vimos que as diferenças entre o floema normal e o variante tem aumentado ao longo da evolução e está presente em todos os tipos celulares do floema. Vimos ainda que o floema secundário em Bignoniaceae evolui em direções opostas em diferentes linhagens da tribo, evidenciando que a evolução do floema não segue uma única direção, mas várias. Por fim, este estudo demonstra que análises anatômicas dentro de um contexto filogenético são primordiais por permitirem um maior entendimento dos processos que promoveram a evolução e diversificação dos grupos.

ABSTRACT

Lianas in Bignoniaceae are well known for presenting a cambial variant in their stems, which develops into phloem wedges that deep furrows the xylem. An enormous diversity of anatomical forms were described as resulting from this cambial variant, as well as the phloem produced by the cambial variant was described as being distinct from the regular phloem concurrently present in these stems. However, nothing is known about the origin, evolution, and diversification of the anatomical traits in this group. Therefore, the present study aimed to provide an anatomical analysis of the stems of Bignoniaceae (Bignoniaceae) within a phylogenetic framework, in order to address questions on the evolution of anatomical diversity in this tribe. For that reason, here we analyzed the stems of 54 species of Bignoniaceae, representative of the 21 genera currently known for the tribe. Our results show that, despite the great anatomical diversity present in the stems of Bignoniaceae, all of them share common developmental stages, which are then followed by subsequent terminal additions that are thought to have promoted an augment in the complexity of these stems. Furthermore, our results indicate that the differences found between regular and variant phloem is increasing along time and is present in all cell types of the phloem. Moreover, we found that the secondary phloem in Bignoniaceae is evolving in opposite directions in distinct lineages of the tribe, evidencing that the evolution of the phloem is not constraint to a single line of specialization. In conclusion, this study demonstrates the importance of anatomical analyses within a phylogenetic framework, allowing for the detection of the processes that have been involved in the evolution and diversification of plant groups.

ÍNDICE

| | |
|---|-----|
| INTRODUÇÃO GERAL | 12 |
| Referências Bibliográficas | 16 |
| | |
| CAPÍTULO 1: SURGIMENTO E EVOLUÇÃO DA VARIAÇÃO CAMBIAL EM BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE) | 18 |
| Resumo/Abstract | 20 |
| Introdução | 21 |
| Material e Métodos | 23 |
| Resultados | 27 |
| Discussão | 37 |
| Referências Bibliográficas | 43 |
| | |
| CAPÍTULO 2: A EVOLUÇÃO DE DIFERENÇAS ENTRE O FLOEMA NORMAL E O VARIANTE EM BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE) | 46 |
| Resumo/Abstract | 48 |
| Introdução | 49 |
| Material e Métodos | 51 |
| Resultados | 55 |
| Discussão | 65 |
| Referências Bibliográficas | 70 |
| | |
| CAPÍTULO 3: DIVERSIDADE E EVOLUÇÃO DO FLOEMA SECUNDÁRIO EM BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE) | 74 |
| Resumo/Abstract | 76 |
| Introdução | 77 |
| Material e Métodos | 79 |
| Resultados | 82 |
| Discussão | 106 |
| Referências Bibliográficas | 110 |
| | |
| CONCLUSÃO GERAL | 115 |

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

A família Bignoniaceae constitui um grupo monofilético (Spangler & Olmstead 1999, Olmstead *et al.* no prelo) formada de árvores (Fig. 1A), lianas (Fig. 1B) e mais raramente arbustos (Fig. 1C) e ervas, caracterizados pelas folhas geralmente compostas e opostas, com folíolos freqüentemente modificados em gavinhas nas espécies lianescentes (Fig. 1D). Os perfílos da gema axilar (pseudostípulas) são freqüentemente desenvolvidos (Fig. 1E), podendo adotar diferentes formas em diferentes táxons (Lohmann 2003). O cálice e a corola são compostos de cinco peças, sendo que a corola é, em geral, bilabiada (Fig. 1F). Os estames são quatro, didínamos em dois pares, freqüentemente com um quinto estaminódio adaxial, raramente com cinco estames férteis ou dois férteis e três estaminodiais. O estigma é bilobado e o ovário súpero, bicarpelar e bilocular com placentação axilar, em quase todas as espécies. Discos nectaríferos estão geralmente presentes no ovário (Rivera 2000), mas também são comuns nectários extra-florais (Fig. 1E) (Machado *et al.* 2008). Os óvulos são numerosos, anátropos ou hemítropos. Os frutos são uma cápsula com duas valvas (Fig. 1G), geralmente com um replum, mais raramente carnosos e indeiscentes (Zjhra *et al.* 2004). As sementes são em geral achatadas e aladas, mas eventualmente podem ser espessadas e coriáceas, com alas reduzidas ou ausentes, algumas vezes embebidas em polpa. O endosperma é geralmente reduzido (Heywood 1993, Gentry 1980, Fischer *et al.* 2004, Lohmann 2004).

A família foi tradicionalmente dividida em oito tribos: Bignonieae, Tecomeae, Crescentieae, Torrettieae, Eccremocarpeae, Coleeae, Oroxyleae e Schlegelieae (Gentry 1980). No entanto, a tribo Schlegelieae foi subsequentemente transformada na família Schlegeliaceae (Spangler & Olmstead 1999), estando Bignoniaceae atualmente composta por sete tribos (Fischer *et al.* 2004).

A tribo Bignonieae é monofilética (Spangler & Olmstead 1999, Lohmann 2006) e representa a maior tribo da família, compreendendo quase metade das espécies da família com 383 espécies distribuídas em 21 gêneros (Lohmann 2006; Lohmann & Ulloa 2006). É um grupo neotropical, quase exclusivamente composto por lianas (Fig. 1B), com múltiplas evoluções para o hábito arbustivo, sobretudo em espécies que ocupam áreas mais secas de campos (Lohmann 2003). As espécies desta tribo são tradicionalmente reconhecidas por possuírem o folíolo terminal das folhas modificado em gavinha (Fig. 1D) e pela deiscência do fruto paralela ao septo (septicida) (Gentry 1980, Lohmann 2006, Fischer *et al.* 2004). Quanto à sua anatomia, Schenk (1893) adverte que a presença de crescimento secundário anômalo, caracterizado pela formação de cunhas de floema interrompendo o xilema (Fig. 1H), seria típico dos gêneros da tribo Bignonieae e não estaria presente nas demais espécies da família. Esta opinião foi compartilhada por Gentry (1980), que até mesmo utilizou tal caráter na justificativa para a inclusão de *Dolichandra* à tribo, apesar de este não possuir o mesmo tipo de deiscência do fruto (Gentry 1980). Aponta-se ainda que as mudanças no padrão geral desta variante cambial representariam importante instrumento na identificação dos gêneros e de suas relações

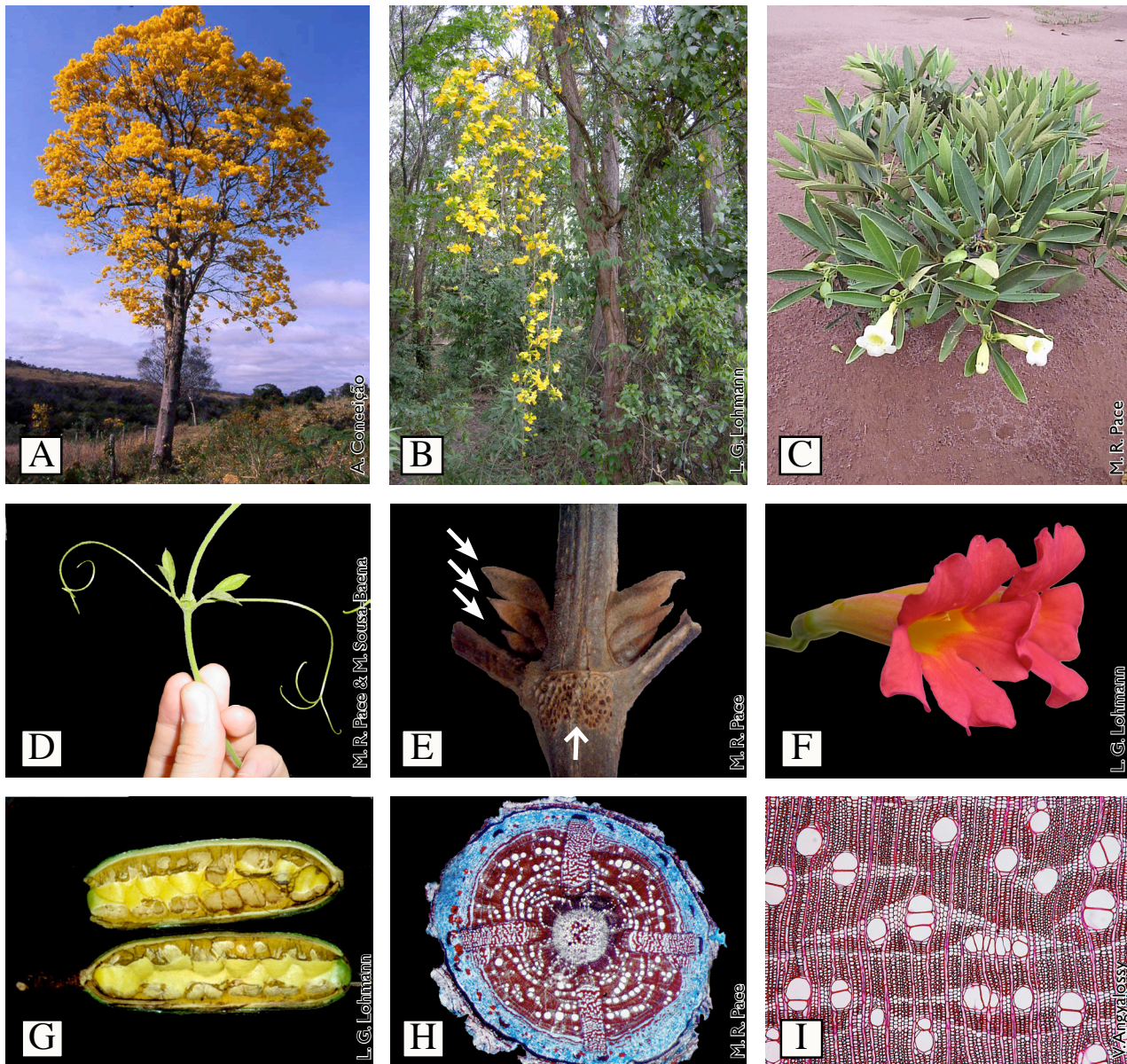


Fig. 1 Características gerais de algumas espécies de Bignoniaceae. (A) *Handroanthus vellosi*, uma espécie de hábito arbóreo. (B) *Dolichandra unguis-cati*, uma espécie de hábito lianescente. (C) *Anemopaegma acutifolium*, uma espécie de hábito arbustivo. (D) *Tynanthus cognatus*, ilustrando o terceiro folíolo modificado em gavinha trifida. (E) *Pachyptera kerere*, mostrando a presença de múltiplas gemas axilares com seus perfis (→) e nectários extra-florais (→). (F) *Amphilophium buccinatorium*, com flor pentâmera, tubular e bilabiada. (G) *Adenocalymma cladotrichum*, ilustrando uma cápsula septicida. (H) *Lundia cordata*, mostrando um caule com variação cambial do tipo xilema interrompido por cunhas de floema. (I) *Tabebuia fluviatilis*, xilema secundário.

dentro da tribo (Solleder 1908, Metcalfe & Chalk 1950, Gentry 1980, Dos Santos 1995).

Lohmann (2003, 2006), trabalhando com a sistemática da tribo Bignonieae, reconstruiu a filogenia da tribo utilizando caracteres moleculares, sobre a qual otimizou dados de morfologia externa e de anatomia do lenho (dados do lenho retirados da tese de Dos Santos 1995). Este estudo constatou que tipos de gavinhas, forma dos perfis e diferentes padrões de crescimento secundário anômalo no caule representam sinapomorfias de clados bem sustentados em Bignonieae (Lohmann no prelo). A presença de variação cambial com a formação de xilema interrompido por cunhas de

floema aparece como sinapomorfia da tribo Bignonieae (Lohmann 2006), corroborando estudos morfológicos anteriores (Schenk 1893, Solereder 1908, Metcalfe & Chalk 1950, Gentry 1980).

Segundo Dos Santos (1995), há quatro padrões de crescimento anômalo em Bignonieae. No primeiro padrão, desenvolvem-se nos caules quatro cunhas de floema, permanecendo nesta condição por toda a vida da planta. No segundo padrão são formadas cunhas de floema múltiplas de quatro, formando-se inicialmente quatro cunhas de floema, e posteriormente oito, 16, 32 e assim por diante. No terceiro padrão, formam-se cunhas de floema multi-dissectadas, i.e., formam-se inicialmente quatro cunhas de floema, com posterior formação de outras cunhas, com a peculiaridade de que, com o crescimento do caule, estas cunhas se dispersam dentro do caule, dando o aspecto de multi-dissectadas. Finalmente, no último padrão, formam-se quatro cunhas de floema descontínuas ao longo do mesmo raio, interrompidas por parênquima radial, vasos e fibras, gerando porções de floema incluso no caule.

A tribo Oroxyleae é monofilética, possui quatro gêneros e seis espécies. Estava incluída em Bignonieae, por apresentar deiscência septicida dos frutos, mas foi separada por ser restrita à Ásia, enquanto todas as Bignonieae são neotropicais (Gentry 1980). É composta de árvores, arvoretas e lianas (Lohmann 2004). Alguns gêneros da tribo se distinguem em sua anatomia do lenho por possuírem alguns vasos com placa de perfuração foraminada ou reticulada (Gasson & Dobbins 1991).

A tribo Tecomeae apresenta 43 gêneros e aproximadamente 349 espécies (Lohmann & Ulloa 2006) e é a mais amplamente distribuída, tendo representantes na África, América do Norte, Europa e Sudeste asiático, apesar de ser predominantemente neotropical (Lohmann 2004). É representada por árvores, arvoretas, arbustos e algumas poucas espécies de lianas (e.g. *Campsis radicans* L. Seem. e *Podranea ricasoliana* Sprague), que por sua vez não apresentam crescimento anômalo (Fischer *et al.* 2004). É reconhecida pela deiscência dos frutos perpendicular ao septo (loculicida) (Gentry 1992, Lohmann 2004, Fischer *et al.* 2004). Possui alguns gêneros de importância econômica, sobretudo pelo lenho (Fig. 11) (*Tabebuia*, *Handroanthus*, *Jacaranda*) (Mainieri *et al.* 1983). A tribo emergiu como parafilética em estudos filogenéticos (Spangler & Olmstead 1999; Olmstead *et al.* no prelo). Com base nestes dados foram detectados novos clados e tribos que serão reconhecidos em uma nova classificação para o grupo (Olmstead *et al.* no prelo). Entre as novos clados e tribos reconhecidos estão a tribo Jacarandae, a tribo Catalpeae, a tribo Tecomeae (que passa a reunir sobretudo as lianas de Tecomeae *s.l.*) e dois grandes clados: um neotropical, denominado clado *Tabebuia* alliance (Grose & Olmstead 2007a) e outro Paleotropical, denominado clado Paleotropical (Olmstead *et al.* no prelo). Dentro do gênero *Tabebuia*, o maior dentro de Tecomeae (*sensu* Gentry 1980), polifilético, reconhecem-se dois grupos monofiléticos (Grose & Olmstead 2007a,b). Ambos grupos podem ser reconhecidos por características do lenho, sendo que um deles reúne as espécies de madeira

leve, conhecidas popularmente por caixetas (Mainieri *et al.* 1983), e o outro congrega as espécies de madeira dura, pesada, utilizadas na construção civil (Record & Hess 1940, Dos Santos & Miller 1992, Grose & Olmstead 2007a,b). O primeiro grupo mantém o nome genérico *Tabebuia*, enquanto membros do segundo foram transferidos para *Handroanthus* (Grose & Olmstead 2007b).

A tribo Eccremocarpeae é monofilética, de distribuição neotropical, composta por apenas um gênero (*Eccremocarpus*) e três espécies, lianescentes, que ocorrem da Colômbia ao Chile. Seu caule não apresenta variação cambial e possui crescimento secundário apenas na base, com a parte superior do caule permanecendo herbácea (Fischer *et al.* 2004). Possuem ainda ovário unilocular e placentação parietal (Fischer *et al.* 2004). Foi unida à tribo Tourrettieae (Olmstead *et al.* no prelo), que também é neotropical e composta por apenas um gênero monotípico (*Tourrettia lappacea*). Este gênero ocorre em altitude (cordilheira dos Andes), do México à Argentina, sendo uma trepadeira anual herbácea (Fischer *et al.* 2004).

A tribo Coleeae é monofilética, apresenta seis gêneros e aproximadamente 52 espécies, que ocorrem predominantemente em Madagascar, mas com algumas espécies em ilhas no Oceano Índico (Zjhra *et al.* 2004). É composta por árvores ou arbustos, de ovário unilocular com duas placentas parietais ou bilocular com placentação axial. Os frutos são indeiscentes, carnosos ou fibrosos de córtex duro (Zjhra *et al.* 2004; Fischer *et al.* 2004). No último tratamento para Bignoniaceae, esta tribo emerge conectada ao clado pantropical, junto das demais Tecomeae pantropicais, tal como *Spathodea* e *Kilegelia* (Olmstead *et al.* no prelo).

A tribo Crescentieae, por sua vez, possui três gêneros e 33 espécies. Ocorre nas Américas Central e do Sul e é composta por árvores de folhas palmadas ou simples. O ovário é incompletamente bilocular ou unilocular com placenta parietal. Os frutos são indeiscentes, com exocarpo duro e polpa carnosa (Fischer *et al.* 2004). Esta tribo emerge juntamente das Tecomeae neotropicais, próximo de *Tabebuia* s.l. (Grose & Olmstead 2007a, Olmstead *et al.* no prelo).

Como visto, a família Bignoniaceae tem distribuição pantropical, mas é predominantemente neotropical, com 78% das espécies da família nos neotrópicos (Gentry 1980, Fischer *et al.* 2004). Para a família como um todo, o Brasil é claramente o centro de diversidade (Gentry 1980, Spangler & Olmstead 1999) e a anatomia caulinar tem despontado cada vez mais como de grande valor no reconhecimento de grupos monofiléticos (Lohmann 2006, Grose & Olmstead 2007a,b).

Neste contexto, no presente estudo tivemos como objetivo analisar o caule das espécies da tribo Bignonieae, possuidoras da variação cambial, dentro de um contexto filogenético, afim de elucidar como as variações cambiais e o floema secundário teriam se modificado ao longo da evolução do grupo. Para tal, contou-se com uma filogenia bem sustentada para a tribo (Lohmann 2006), fizemos coletas em diversos hábitats e procedemos com estudos anatômicos e ontogenéticos (Apêndice A).

Esta dissertação está subdividida em três capítulos.

No primeiro capítulo buscamos desvendar a origem dos diversos padrões anatômicos caulinares encontrados em Bignoniaceae, por meio de uma análise ontogenética caulinar de espécies selecionadas, confrontando com os dados filogenéticos. Assim, foi-nos possível elucidar os mecanismos de desenvolvimento envolvidos na geração de novas morfologias e demonstrar que todas as espécies de Bignoniaceae partem de um padrão comum de desenvolvimento, com subseqüentes evoluções para diferentes tipos dentro do grupo.

No segundo capítulo nos focamos na diferenciação anatômica do floema produzido pelo câmbio variante e daquele de origem do câmbio normal, comparando-os entre todos os gêneros de Bignoniaceae, afim de observar como ambas porções teriam se comportado ao longo da evolução do grupo.

Por fim, no terceiro capítulo fizemos um estudo detalhado dos caracteres do floema secundário, normal e variante, afim de lançar hipóteses acerca da evolução do floema secundário em Bignoniaceae.

O primeiro capítulo foi previamente submetido para publicação na revista internacional "Evolution & Development", pela qual foi aceito e sairá como artigo de capa na edição de setembro, de número 11(5). O segundo e terceiro capítulos já estão redigidos em inglês e serão encaminhados para publicação após a defesa da dissertação, seguida das correções pertinentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DOS SANTOS, G. & R. B. MILLER 1992. Wood anatomy of Tecomeae. *Flora Neotropica Monograph* 25: 336-358.
- DOS SANTOS, G. M.A. 1995. Wood anatomy, chloroplast DNA, and flavonoids of the tribe Bignoniaceae (Bignoniaceae). Tese de doutorado. University of Reading, Reading, Reino Unido.
- FISCHER, E., I. THEISEN & L. G. LOHMANN 2004. Bignoniaceae. In K. Kubitzki & J.W. Kadereit (eds.) *The Families and Genera of Vascular Plants. VII. Flowering plants. Dicotyledons. Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae)*. Springer-Verlag, Berlin, Alemanha.
- GASSON, P. & D. R. DOBBINS 1991. Wood anatomy of the Bignoniaceae, with a comparison of trees and lianas. *IAWA Bulletin n.s.* 12: 389-417.
- GENTRY, A. H. 1980. Bignoniaceae. Part I (tribes Crescentieae and Tourrettieae). *Flora Neotropica Monograph* 25(I): 1-150.
- GENTRY, A. H. 1992. Bignoniaceae part II (tribe Tecomeae). *Flora Neotropica Monograph* 25 (II): 1-130.
- GROSE, S. O. & R. G. OLMSTEAD 2007a. Evolution of a charismatic Neotropical clade: Molecular phylogeny of *Tabebuia* s. l., Crescentieae, and allied genera (Bignoniaceae). *Systematic Botany* 32: 650-659.

- GROSE, S. O. & R. G. OLMSTEAD 2007b. Taxonomic revisions in the polyphyletic genus *Tabebuia* s.l. (Bignoniaceae). *Systematic Botany* 32: 660-670.
- HEYWOOD, V. H. 1993. Flowering plants of the world. Oxford University Press, New York, EUA.
- LOHMANN, L. G. 2003. Phylogeny, classification, morphological diversification and biogeography of Bignoniaceae (Bignoniaceae, Lamiales). Tese de Doutorado. University of Missouri - St. Louis, Department of Biology, Program in ecology, evolution and systematics, EUA.
- LOHMANN, L. G. 2004. Bignoniaceae. In N. Smith, S. Mori, A. Henderson, D. Stevenson, S. Held (eds.) Flowering Plants of the Neotropics. Princeton University Press. Princeton and Oxford in association with the NYBG, Nova Iorque, EUA.
- LOHMANN, L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* 93: 304-318.
- LOHMANN, L. G. no prelo. A new classification of Bignoniaceae (Bignoniaceae) based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. *Annals of the Missouri Botanical Garden*.
- LOHMANN, L. G. & C. ULLOA. Bignoniaceae in *iPlants* prototype checklist. www.iplants.org (accessed 02 October 2006 13:32 GMT).
- MACHADO, S. R., L. P. C. MORELLATO, M. G. SAJO & P. S. OLIVEIRA 2008. Morphological patterns of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian cerrado. *Plant Biology* 10: 660-673.
- MAINIERI, C., J. P. CHIMELO & V. ANGYALOSSY-ALFONSO 1983. Manual de identificação das principais madeiras comerciais brasileiras. IPT/ Cia. de promoção de pesquisas científicas e tecnológicas do Estado de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- METCALFE, C. R. & L. CHALK 1950. Bignoniaceae. In C. R. Metcalfe & L. Chalk (eds.) Anatomy of the Dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy, with notes on economic uses. Clarendon Press, EUA.
- OLMSTEAD, R. G., M. J. ZJHRA, S. O. GROSE, L. G. LOHMANN & A. J. ECKERT no prelo. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. *American Journal of Botany*.
- RECORD, S. J. & R. W. HESS 1940. American timbers of the family Bignoniaceae. *Tropical Woods* 63: 9-38.
- RIVERA, G. L. 2000. Nuptial nectary structure of Bignoniaceae from Argentina. *Darwiniana* 38: 227-239.
- SCHENCK, H. 1893. Beiträge zur Biologie und Anatomie der Lianen im Besonderen der in Brasilien einheimischen Arten. 2. Beiträge zur Anatomie der Lianen, p. 1-271. In A. F. W. Schimper (ed.), Botanische Mittheilungen aus der Tropens. G. Fischer, Jena, Alemanha.
- SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons, Vols. I and II. Charenton Press, Oxford, Reino Unido.
- SPANGLER, R. E. & R. G. OLMSTEAD 1999. Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences of *rbcL* and *ndhF*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 86: 33-46.
- ZJHRA, M. L., K. J. SYTSMA & R. G. OLMSTEAD 2004. Delimitation of Malagasy tribe Coleeae and implications for fruit evolution in Bignoniaceae inferred from a chloroplast DNA phylogeny. *Plant Systematics and Evolution* 245: 55-67.

CAPÍTULO I

SURGIMENTO E EVOLUÇÃO DA VARIAÇÃO CAMBIAL EM
BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE)

Die Ontogenese rekapituliert die Phylogenese.

(Generelle Morphologie, Ernst Haeckel, 1866)

I wish to emphasize one other distinction. Evolution occurs when ontogeny is altered in one of two ways: when new characters are introduced at any stage of development with varying effects upon subsequent stages, or when characters already present undergo changes in developmental timing. Together, these two processes exhaust the formal content of phyletic change; the second process is heterochrony.

(Ontogeny and Phylogeny, Stephen J. Gould, 1977)

CAPÍTULO I

SURGIMENTO E EVOLUÇÃO DA VARIAÇÃO CAMBIAL EM BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE)

RESUMO

Variações cambiais representam uma forma alternativa de crescimento secundário que promove grande diversidade de formas anatômicas nos caules de lianas. Apesar da importância dessas variações, nada se sabe sobre os mecanismos de desenvolvimento responsáveis pela evolução e diversidade anatômica conhecidas atualmente. Neste estudo foi realizada uma análise detalhada da anatomia de caules maduros de todos os gêneros de Bignonieae (Bignoniaceae) e um estudo da ontogênese de representantes selecionados dentro contexto filogenético, afim de detectar em quais pontos da ontogenia e filogenia da tribo houve mudanças que levaram à formação de novos padrões anatômicos caulinares. Encontramos que todas as espécies partem de um padrão comum de desenvolvimento, com um câmbio contínuo e de iguais produtos em toda sua extensão. Esse padrão inicial é seguido pela modificação de quatro porções equidistantes que reduzem a produção de xilema e aumentam a produção de floema. Na maioria das espécies, o câmbio inicialmente contínuo torna-se disjunto, com quatro porções cambiais incluídas dentro das cunhas de floema e outras quatro entre estas. Novas modificações anatômicas ocorrem subsequentemente, como a formação de cunhas de floema em múltiplos de quatro, cunhas de floema múltiplo-dissectadas e cunhas de floema incluídas no xilema. O fato de cada nova característica anatômica aparecer em ancestrais cada vez mais recentes sugere um padrão de recapitulação. Essa recapitulação, entretanto, resulta da adição terminal de novidades evolutivas e não por um processo verdadeiramente heterocrônico. Processos de fato heterocrônicos são encontrados, contudo, em espécies arbustivas de Bignonieae, cujos estágios adultos assemelham-se aos estados juvenis de outras espécies da tribo devido a uma diminuição das taxas de diferenciação de floema pelo câmbio variante. Além disso, o padrão modular de evolução do xilema e floema em Bignonieae parece indicar que as modificações sofridas pela variante cambial nesse grupo são devidas a alterações nas iniciais cambiais.

Palavras-chave: Anatomia vegetal, Bignoniaceae, heterocronia, liana, modularidade, novidade evolutiva, variação cambial, recapitulação.

ABSTRACT

Cambial variants represent a form of secondary growth that creates great stem anatomical diversity in lianas. Despite the importance of cambial variants, nothing is known about the developmental mechanisms that may have led to the current diversity seen in these stems. Here, a thorough anatomical analysis of mature stems of all genera of Bignonieae (Bignoniaceae) and ontogenetic studies of selected members were carried out. These data were interpreted in a phylogenetic context in order to detect when in their ontogeny and phylogeny there were shifts leading to different stem anatomical patterns. We found that all species depart from a common developmental basis, with a continuous, regularly growing cambium. Initial development is then followed by the modification of four equidistant portions of the cambium that reduce the production of xylem and increase the production of phloem. In most species, the formerly continuous cambium becomes disjunct, with cambial portions within phloem wedges and cambial portions between them. Other anatomical modifications such as the formation of multiples of four phloem wedges, multiple dissected phloem wedges, and included phloem wedges take place thereafter. The fact that each novel trait raised on the ontogenetic trajectory appeared in subsequently more recent ancestors suggests a recapitulatory history. This recapitulation is, however, caused by the terminal addition of evolutionary novelties rather than a truly heterochronic process. Truly heterochronic processes were only found in shrubby species, which resemble juveniles of their ancestors, as a result of a decelerated phloem formation by the variant cambium. In addition, the modular evolution of phloem and xylem in Bignonieae seems to indicate that stem anatomical modifications in this group occurred at the level of cambial initials.

Keywords: Bignoniaceae, cambial variant, evolutionary novelty, heterochrony, liana, modularity, plant anatomy, recapitulation.

INTRODUÇÃO

Um dos principais objetivos da biologia evolutiva do desenvolvimento é a compreensão dos mecanismos geradores de diversidade biológica. Uma das formas de se obter tal entendimento é por meio da comparação da ontogenia de organismos proximamente relacionados em um contexto filogenético, de maneira a detectar quais mudanças ontogenéticas teriam levado à geração de diferentes morfologias dentro de um grupo (Gould 1977; Guerrant 1988). Uma vez que a variação entre caracteres morfológicos de dois organismos distintos está necessariamente ligada ao seu desenvolvimento, a comparação dos caracteres em um contexto evolutivo nos permite inferir quais mecanismos de desenvolvimento são responsáveis pela origem da diversidade entre clados (Gould 1977; Li & Johnston 2000). Especificamente, esta abordagem nos permite testar se mecanismos evolutivos como heterocronia, heterotopia, novidade ou homeose (Tabela 1) estiveram envolvidos na geração de diversidade morfológica em um grupo de interesse.

Tabela 1. Mecanismos de desenvolvimento que podem levar à formação de novas morfologias.

| Mecanismo de desenvolvimento | Definição |
|------------------------------|---|
| Heterocronia | Mudança no tempo relativo de desenvolvimento de uma estrutura (Gould 1977) |
| Heterotopia | Mudança no local de expressão de um caráter (West-Eberharal 2003) |
| Novidade | Aparecimento de uma estrutura não homóloga a nenhuma outra já existente no organismo (Müller & Wagner 1991) |
| Homeose | Substituição de uma estrutura por outra (Sattler 1988) |

Estudos comparativos de ontogenia e filogenia em plantas focam principalmente em órgãos de crescimento determinado, como flores ou folhas (Li & Johnston 2000). Apenas recentemente, estudos dessa natureza passaram a focar no desenvolvimento de órgãos de crescimento indeterminados (e.g., lenho, Olson 2007). O fato do xilema secundário ser adicionado pelo câmbio vascular em camadas concêntricas, permanecendo para sempre no centro do caule, permite-nos estudar todos os estágios ontogenéticos de sua formação do centro para a periferia (Olson & Rosell 2006; Olson 2007). Essa abordagem reduz o problema da determinação de estágios ontogenéticos comparáveis entre plantas, organismos de crescimento indeterminado e modular (Guerrant 1988). De fato, toda a história ontogenética do caule permanece impressa no xilema secundário, independentemente do momento em que o lenho foi coletado, permitindo-nos reconstruir toda sua história ontogenética (Olson 2007). Além disso, caules de diâmetros semelhantes demonstraram ser bons pontos de referência para estudos comparativos de caule, mesmo em plantas crescendo sob diferentes condições, permitindo o uso do diâmetro dos caules como ponto de referência para análises ontogenéticas comparativas

(Rosell & Olson 2007). Contudo, pouco se sabe sobre os mecanismos de desenvolvimento que promoveram a diversidade de formas anatômicas caulinares encontradas atualmente.

A anatomia caulinar das espécies de Bignonieae é extremamente variada devido à presença de variação cambial (atividade cambial não usual que gera um padrão diferente do esperado) em seus caules. A tribo Bignonieae é o maior grupo de lianas dos neotrópicos (Gentry 1991) e inclui 383 espécies, aproximadamente metade de todas as espécies da família (Fischer *et al.* 2004; Lohmann 2006). A presença da variação cambial e de caules com diversas morfologias em Bignonieae, somado à presença de uma filogenia robusta para a tribo (Lohmann 2006) torna Bignonieae um grupo interessante para o estudo de questões associadas aos mecanismos evolutivos (e.g., heterocronia, novidade evolutiva, heterotopia ou homeose) que teriam promovido a diversificação das formas anatômicas atualmente encontradas neste grupo.

Variações cambiais representam uma forma de crescimento secundário especialmente comum em lianas das mais diferentes famílias (Carlquist 1988). Durante seu desenvolvimento, o câmbio altera sua atividade de uma ou várias maneiras, levando à produção de tecidos macios entremeando tecidos rígidos e assim supostamente conferindo maior flexibilidade aos caules escandentes (Caballé 1993, 1998; Rowe & Speck 1996; Gallenmüller *et al.* 2001; Rowe *et al.* 2004, Isnard & Silk 2009). Tal flexibilidade permite que os caules se contorçam sem danificar o xilema (Carlquist 1988). Além disso, essas estruturas também parecem atuar no armazenamento de substâncias (Carlquist 1988) e no reparo de injúrias (Dobbins & Fisher 1986). Variações cambiais surgiram múltiplas vezes em diferentes famílias de plantas, representando características únicas das espécies que as possuem e permitindo a identificação das mesmas com base tão somente nestas características (Caballé 1993). Por exemplo, as Gnetaceae e Menispermaceae apresentam câmbios sucessivos (Schenck 1983; Carlquist 1996; Rajput & Rao 2003; Jacques & De Franceschi 2007), as Sapindaceae caules compostos (Schenck 1983; Carlquist 1988), algumas Fabaceae crescimento assimétrico (Schenck 1983; Fisher & Ewers 1992), ao passo que as Bignoniaceae exibem o xilema interrompido por cunhas de floema (Schenck 1893; Solereder 1908; Dobbins 1971; Carlquist 1988).

Apesar da importância funcional das variações cambiais para lianas como um todo, pouco se sabe sobre os mecanismos de desenvolvimento que provocaram a evolução dessas características tão comuns em lianas. A grande diversidade de formas anatômicas caulinares presente em Bignonieae tornam este grupo um excelente modelo para responder esta pergunta. Durante o desenvolvimento caulinar, o câmbio das espécies de Bignonieae alteram sua atividade em quatro porções equidistantes; estas porções reduzem a produção de xilema e aumentam a produção de floema de maneira a formar quatro cunhas de floema que interrompem o xilema (Dobbins 1971). Além disso, o floema formado pelas porções variantes do câmbio apresenta elementos de tubo crivado de calibre muito superior àqueles produzidos pelas regiões adjacentes (Dobbins 1971).

Quatro configurações derivadas da atividade cambial variante são encontradas nos caules de Bignoniaceae (Dos Santos 1995): (i) espécies que apresentam quatro cunhas de floema durante toda a vida, (ii) espécies que desenvolvem novas cunhas entre as quatro cunhas formadas inicialmente, gerando cunhas em múltiplos de quatro, (iii) espécies cujas cunhas em múltiplos de quatro se dissecam à medida que o caule aumenta em diâmetro, formando cunhas múltiplo-dissectadas, e por fim (iv) espécies que exibem uma série de cunhas inclusas ao longo de um mesmo raio. Estas características foram mapeadas na filogenia molecular de Bignoniaceae e emergiram como sinapomorfias de clados bem sustentados molecularmente (Lohmann 2003). O desenvolvimento das cunhas de floema parece estar associado ao padrão vascular primário do caule, bem como à filotaxia oposta cruzada das folhas (Dobbins 1969, 1970, 1981). Entretanto, ainda não se sabe o que estimularia a formação de mais de quatro cunhas em um mesmo caule (Dobbins 1970).

Apesar da importância funcional das variações cambiais ser amplamente reconhecida, nunca foi realizado um estudo ontogenético comparativo em um contexto filogenético afim de compreender quais modificações no desenvolvimento teriam levado à formação das diferentes formas caulinares hoje existentes. O objetivo do presente estudo foi o de investigar o padrão das variações cambiais em caules maduros e a ontogenia destes padrões em gêneros selecionados de Bignoniaceae afim de elucidar quais mecanismos de desenvolvimento levaram ao surgimento e evolução da variação cambial no grupo como um todo.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Coletas foram realizadas em populações naturais no Amazonas, Espírito Santo, Bahia, Minas Gerais, São Paulo e Santa Cruz (Bolívia). Materiais adicionais foram ainda coletados na coleção viva do agrônomo Harri Lorenzi (Nova Odessa, São Paulo) e algumas espécies foram obtidas por doação da Xiloteca do *Forest Product Laboratory* (Madison, Wisconsin, EUA). Informações detalhadas das amostras utilizadas neste estudo incluindo autoridades de espécies, locais de coleta, número de indivíduos e espécies amostradas por clado estão disponíveis no Apêndice A.

No campo, caules de aproximadamente 2 cm de diâmetro foram coletados e fixados em FAA 50 (Formalina 10%, Ácido Acético 5% e Etanol 50%). Caules de 2 cm são os mais abundantes, representam lianas adultas de tamanho razoável (Ewers & Fisher 1991; Schnitzer *et al.* 2006) e que já apresentam crescimento secundário bem estabelecido, sobretudo no que diz respeito à variação cambial. Esta padronização nos permitiu realizar secções anatômicas dos caules inteiros e utilizar o diâmetro como ponto de referência para comparações, dado que plantas de um mesmo diâmetro

supostamente apresentam uma quantidade semelhante de xilema produzido (Rosell & Olson 2007). Adicionalmente, alguns caules de diâmetros maiores foram também analisados de maneira a garantir que caules de 2 cm de fato já possuíam a última fase de diferenciação da variante cambial. Duas amostragens diferentes foram realizadas neste estudo: uma para as análises ontogenéticas e outra para a análise dos caules adultos.

Para as análises ontogenéticas, 10 espécies pertencentes a 10 clados de Bignonieae foram selecionadas de acordo com sua distribuição na filogenia (Fig. 1) Uma espécie pertencente à tribo Tecomeae foi selecionada como grupo externo. Adotou-se a classificação de Lohmann (no prelo) e as espécies foram agrupadas de acordo com os clados a que pertencem na filogenia de Bignonieae (Fig. 1). As espécies selecionadas para o estudo ontogenético foram: *Podranea ricasoliana* (grupo externo), *Perianthomega vellozoi* (primeira linhagem que se diversificou em Bignonieae), *Adenocalymma divaricatum* (clado “Volcano-gland”), *Stizophyllum riparium* (clado *Stizophyllum*), *Tanaecium pyramidatum* (clado “Bromeliad”), *Tynanthus cognatus* (clado *Cuspidaria* s.l. – *Tynanthus*), *Fridericia platyphylla* (clado “True Arrabidaea extended”), *Lundia corymbifera* (clado *Lundia*), *Pyrostegia venusta* (clado “Multiples of four s.s.”), *Amphilophium crucigerum* (clado Pithecoctenieae) e *Dolichandra unguis-cati* (clado “Cat’s claw”). Para essas espécies seções transversais foram realizadas, desde o ápice caulinar até o caule totalmente desenvolvido, entrenó a entrenó, de maneira a analisar cada etapa do desenvolvimento do caule e da variação cambial.

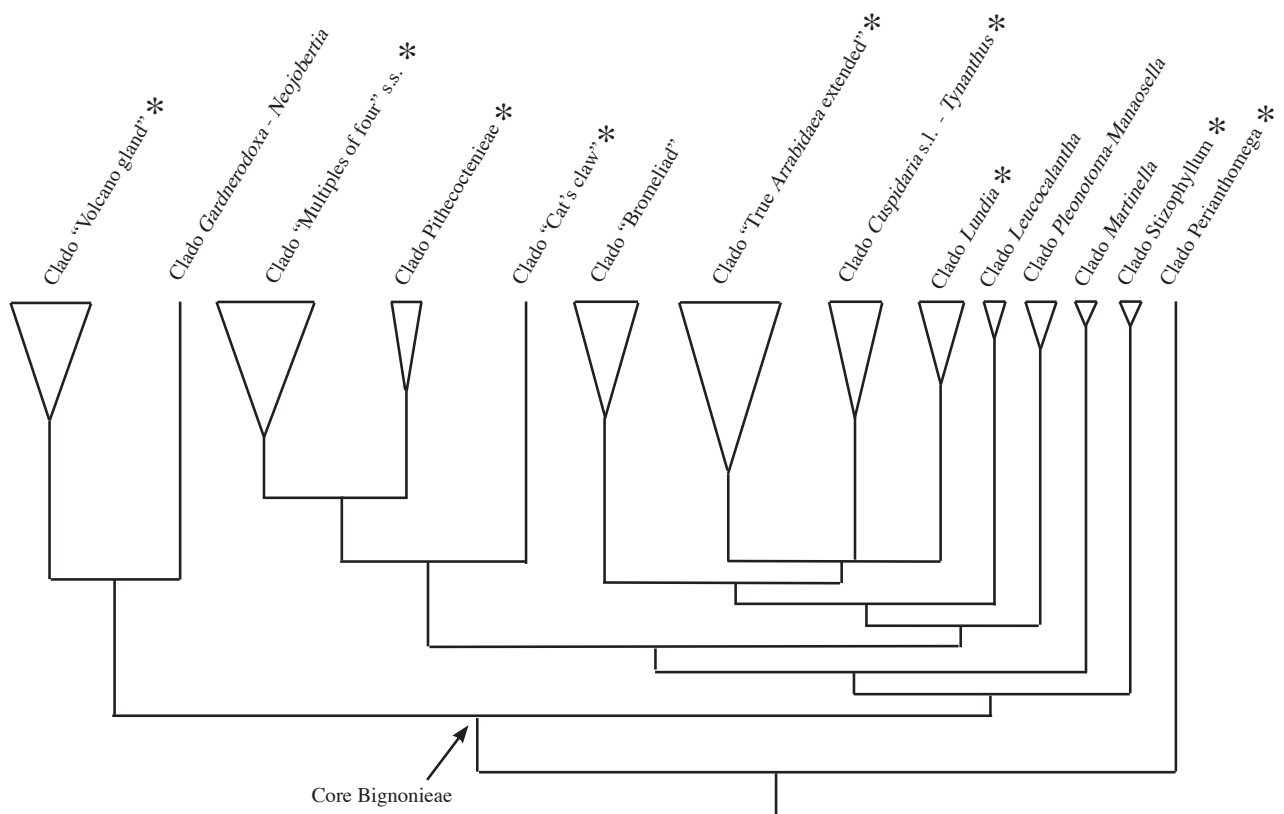


Fig. 1. Relações filogenéticas entre os principais clados de Bignonieae segundo Lohmann (2006). Para o estudo anatômico de caules maduros foram utilizadas amostras de todos os gêneros, ao passo que análises ontogenéticas foram realizadas somente com representantes dos clados indicados por asteriscos.

Para a análise dos caules adultos, foram selecionadas 54 espécies de Bignonieae incluindo representantes de todos os gêneros da tribo, segundo classificação de Lohmann (no prelo), e duas espécies de Tecomeae (Apêndice A). Caules adultos foram analisados para garantir que estávamos amostrando toda a diversidade anatômica caulinar de Bignonieae.

Procedimentos anatômicos

Após a coleta e fixação, espécimes foram transferidos para uma solução conservante de etanol 70%. A obtenção de secções anatômicas íntegras e de boa qualidade é extremamente difícil em lianas devido à presença de tecidos macios entremeando tecidos rígidos, o que leva ao rompimento dos tecidos já nas primeiras etapas laboratoriais. Afim de reduzir este problema as amostras foram submetidas a um amolecimento em etilenodiamina 10% por até quatro dias (Carlquist 1982). Etilenodiamina amolece apenas a lignina, mas não a celulose e hemicelulose, mantendo inalterada a forma das células e deixando o órgão como um todo mais homogêneo (Carlquist 1982, Barbosa comunicação pessoal). Após o amolecimento, o material foi lavado em água destilada e incluído em polietilenoglicol 1500 (PEG 1500), iniciando a inclusão em uma solução de 10% de PEG 1500 diluído em água destilada, aumentando-se 10% a cada 24 horas até a inclusão em PEG 100%. No último estágio, os frascos com PEG 100% foram transferidos para uma estufa à vácuo com os frascos destampados, permitindo a evaporação de resquícios de água (Rupp 1964 modificado). Em seguida, foram efetuados cortes anatômicos com o auxílio de uma resina feita de isopor, i.e., poliestireno expandido diluído em acetato de butila, aplicado sobre o material juntamente com um pedaço de fita adesiva e seccionado em micrótomo de deslize (Barbosa *et al.* em prep.). As secções foram submetidas a dupla coloração em azul de astra e safranina 9:1 (Bukatsch 1972 modificado) e montadas em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá. Para análise de porções menores ou detalhes anatômicos, o material foi emblocado em historresina[®] (Leica Mycosystem, Alemanha), seccionado em micrótomo rotativo e posteriormente corado em Azul de Toluidina 0,05 % diluído em um tampão acético de pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1964).

Terminologia anatômica adotada

Na descrição das formas da variação cambial foram utilizadas duas terminologias anatômicas: “arcos de floema” e “cunhas de floema”. Estes termos se referem a duas formas homólogas, porém anatomicamente distintas, que a variação cambial pode assumir. Estas duas formas diferem quanto à continuidade do câmbio. Nos arcos de floema o câmbio é contínuo (Fig. 2A), ao passo que nas cunhas de floema o câmbio é disjunto, com porções do câmbio incluídas dentro das cunhas e porções entre

as cunhas (Fig. 2B). As porções entre os arcos e entre as cunhas serão denominadas, respectivamente, interarcos e intercunhas.

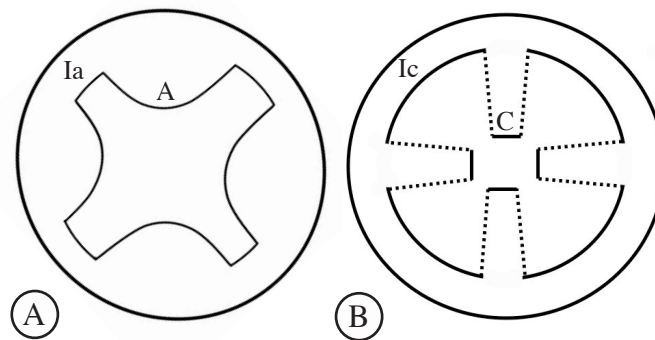


Fig. 2. Esquemas dos caules de Bignoniaceae. A. Caule com câmbio contínuo (linha cheia), mas com quatro porções variantes formando arcos. Regiões entre os arcos são chamadas interarcos. B. Caules com quatro cunhas de floema. O câmbio (linha cheia) é disjunto, com porções no interior das cunhas e porções entre as cunhas (intercunhas). As linhas tracejadas correspondem aos raios limitantes. A = Arcos, C = Cunhas, Ia = Interarcos, Ic = Intercunhas.

Delimitações dos estados de caráter, reconstrução de caracteres ancestrais e inferências evolutivas

O desenvolvimento das variações cambiais é um processo linear, de forma que uma estrutura não pode ser formada sem a formação da estrutura precedente. Tal característica facilita a divisão da ontogenia da variação cambial em diferentes estágios. Considera-se um novo estágio sempre que uma nova estrutura anatômica surge (e.g., uma nova cunha de floema) ao longo do desenvolvimento do caule. Entretanto, o desenvolvimento da variação cambial envolve a mudança de mais de um tecido caulinar simultaneamente. Sendo assim, ao invés de desmembrarmos e tratarmos cada tecido que sofreu alteração separadamente, preferimos focar no desenvolvimento como um todo, de maneira que a ontogenia completa, com todas suas etapas, foi tratada como um único estado de caráter. A equiparação de toda a ontogenia a um estado de caráter evita a perda da seqüência de acontecimentos ontogenéticos, cuja ordem de aparição das estruturas é tão importante (Mabee & Humphries 1993). Além disso, o tratamento de cada ontogenia como um único estado de caráter permite o mapeamento de ontogenias inteiras como estados de caráter na filogenia. Essa abordagem foi sugerida por Mabee & Humphries (1993) e foi utilizada com sucesso em comparações de ontogenia e filogenia em outros grupos vegetais (e.g., Jaramillo *et al.* 2004). Tal metodologia envolve a criação de um matriz de passos que expressa a distância entre os estados de caráter (Tabela 2). Nesta matriz, a distância é igual ao número de passos que têm que ser ganhos ou perdidos para que uma ontogenia se transforme em outra, expressando a probabilidade de transformação de uma ontogenia em outra. Portanto, valores mais altos indicam transformações mais complexas, enquanto valores mais baixos indicam transformações mais simples. A reconstrução da ontogenia ancestral foi realizada utilizando

o algoritmo de parcimônia implementado pelo software MacClade 4.0 (Maddison & Maddison 2000) e a filogenia molecular incluindo 104 espécies de Bignonieae reconstruída por Lohmann (2006). Combinamos os dados dos caules das 54 espécies analisados para o presente estudo com os dados de 73 espécies previamente descritos por Dos Santos (1995) para obter uma amostragem mais ampla para a tribo. Como diversas espécies amostradas para o presente estudo não haviam sido amostradas por Lohmann (2006), adicionamos todas as espécies não amostradas colapsando a filogenia nos nós mais internos de cada gênero reconhecido por Lohmann (no prelo). Esta abordagem permitiu que utilizássemos uma árvore com todas espécies de Bignonieae para mapeamento dos estados de caráter e detecção das ontogenias ancestrais em cada nó da filogenia. Desta maneira foi possível comparar as ontogenias ao longo de toda a filogenia e determinar quais estados eram comuns a todas espécies e quais eram exclusivos de determinados clados (sinapomorfias), assim como detectar quais mecanismos de desenvolvimento estiveram envolvidos na geração de diversidade nas diferentes linhagens de Bignonieae. Por fim, todas as modificações anatômicas encontradas no surgimento e evolução da variação cambial em Bignonieae foram sumarizados numa versão simplificada da filogenia.

Tabela 2. Matriz de passos indicando a probabilidade de transformação ontogenética entre dois estados de caráter, dos nós mais basais aos nós mais apicais da filogenia.

| | ONT 0 | ONT 1 | ONT 2 | ONT 3 | ONT 4 | ONT 5 | ONT 6 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| ONT 0 | | | | | | | |
| ONT 1 | 1 | | | | | | |
| ONT 2 | 2 | 1 | | | | | |
| ONT 3 | 2 | 1 | 2 | | | | |
| ONT 4 | 3 | 2 | 1 | 3 | | | |
| ONT 5 | 4 | 3 | 2 | 4 | 1 | | |
| ONT 6 | 5 | 4 | 3 | 5 | 4 | 5 | |

RESULTADOS

Seis diferentes ontogenias estão presentes nos caules de Bignonieae (Fig. 3), cada uma levando à formação de um tipo arquitetônico distinto (Tabela 3, Fig. 4).

Apesar destes tipos arquitetônicos serem bastante distintos nos adultos, vários estágios do desenvolvimento são compartilhados entre os diferentes tipos arquitetônicos nas fases iniciais da ontogenia (Figs. 3, 5). Assim, será apresentada uma única descrição para os eventos idênticos, destacando somente eventos ontogenéticos diferentes ou desvios do padrão comum.

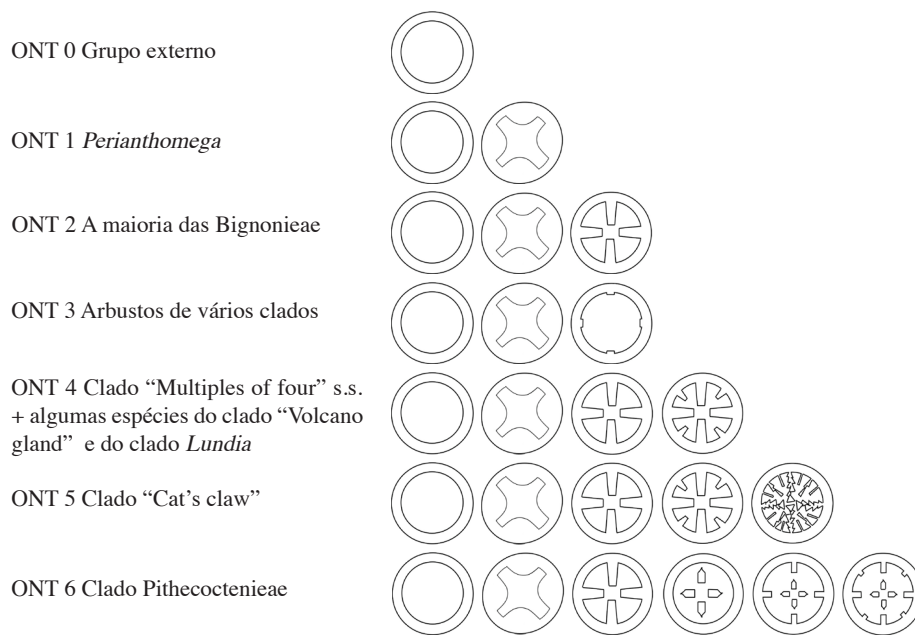


Fig. 3. Trajetórias ontogênicas presentes nos caules de Bignoniaceae e grupo externo (fora de escala).

No início do desenvolvimento secundário todas as espécies apresentam um câmbio concêntrico e contínuo, com atividade igual em toda sua extensão (Figs. 5 estágio 1, 6A). Os grupos externos, *Podranea ricasoliana* (Figs. 3 ONT 0, 4A, 5A) e *Tecoma capensis* mantêm um crescimento com esse padrão ao longo de todo seu desenvolvimento.

Primeiro estágio da variação cambial. Após um período de crescimento padrão todas as Bignoniaceae modificam a atividade cambial em quatro porções eqüidistantes do caule que passam a apresentar quatro arcos de floema em secção transversal (Fig. 5 estágio 2). Esses quatro arcos de floema representam porções do câmbio que reduzem a produção de xilema e aumentam a produção de floema (Fig. 2A). Durante este estágio ontogênético o câmbio vascular ainda forma um cilindro

| Tabela 3 | Tipos de variação cambial encontradas nos caules maduros de Bignoniaceae |
|----------|--|
| Tipo 1 | Quatro arcos de floema derivados de uma atividade aumentada do câmbio variante; câmbio contínuo. |
| Tipo 2 | Quatro cunhas de floema interrompendo o xilema; câmbio disjunto. |
| Tipo 3 | Quatro arcos de floema derivados de uma atividade diminuída do câmbio variante; câmbio contínuo. |
| Tipo 4 | Cunhas de floema em múltiplos de quatro; câmbio disjunto. |
| Tipo 5 | Cunhas de floema múltiplo-dissectadas; câmbio disjunto. |
| Tipo 6 | Cunhas de floema incluídas ao longo do mesmo raio; câmbio disjunto. |

contínuo (Figs. 5 estágio 2, 6B), porém o floema que aí se diferencia possui elementos de tubo crivado de maior calibre em relação àqueles das regiões adjacentes que mantêm crescimento secundário padrão (Figs. 6B, 7D-E). Além disso, enquanto o floema dos interarcos apresentam uma condutividade restrita a umas poucas células depois do câmbio (Fig. 7D), os elementos de tubo crivado dos arcos

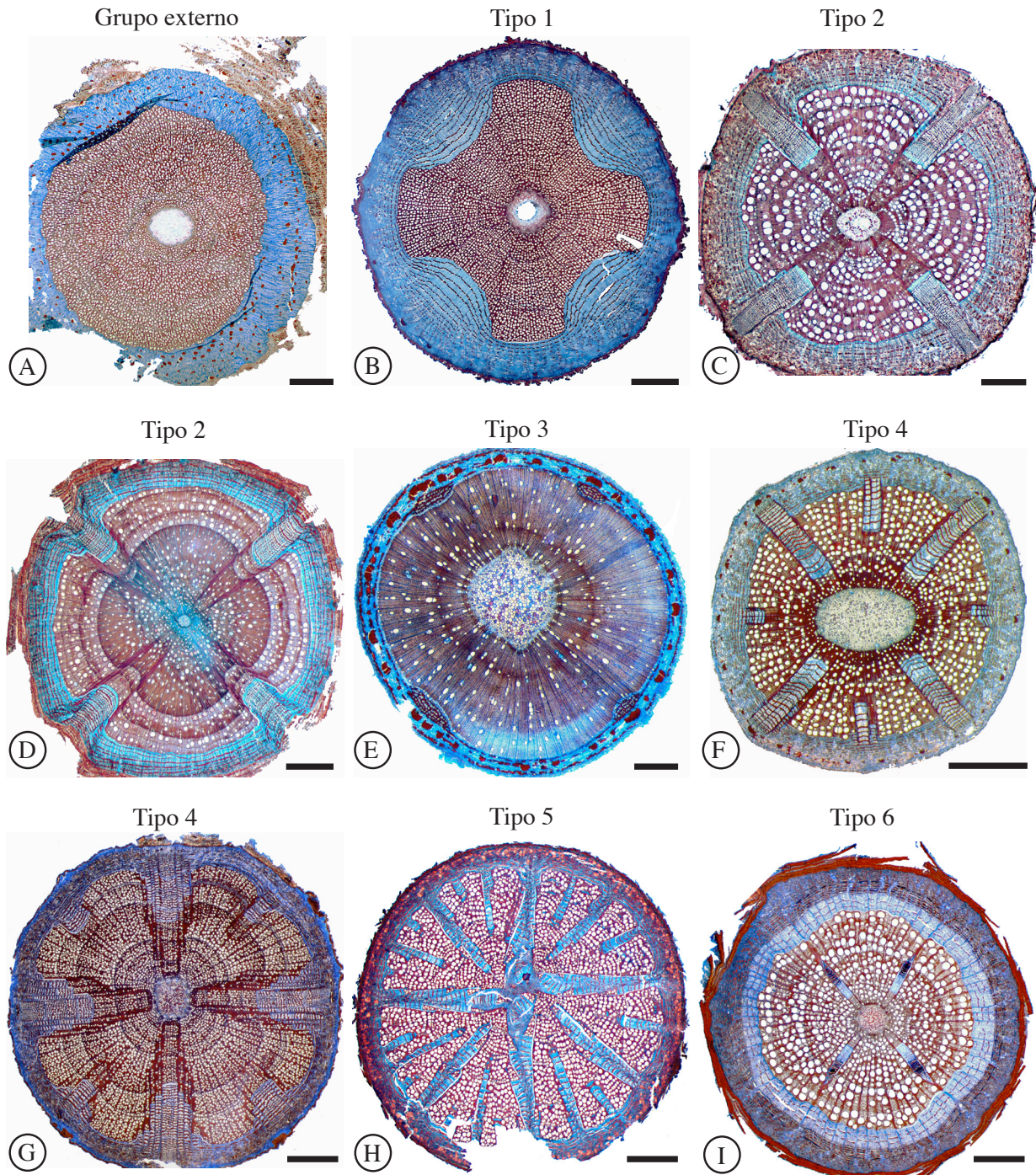


Fig. 4. Cortes transversais ilustrando a diversidade anatômica resultante das seis trajetórias ontogenéticas presentes em Bignoniaceae. A. *Podranea ricasoliana* (grupo externo), crescimento secundário padrão. B. *Perianthomega vellozoi* (primeira linhagem que divergiu em Bignoniaceae), tipo 1 = quatro arcos de floema, câmbio variante com divisões anticlinais. C. *Tanaecium pyramidatum* (clado "Bromeliad"), tipo 2 = quatro cunhas de floema. D. *Fridericia chica* (clado "Arrabidaea extended"), tipo 2 = quatro cunhas de floema. E. *Fridericia platyphylla* (clado "true Arrabidaea extended"), tipo 3 = quatro arcos de floema, câmbio variante sem divisões anticlinais. F. *Bignonia binata* (clado "Multiples of four" s.s.), tipo 4 = cunhas em múltiplos de quatro. G. *Adenocalymma divaricatum* (clado "Volcano gland"), tipo 4 = cunhas em múltiplos de quatro. H. *Dolichandra unguis-cati* (clado "Cat's claw"), tipo 5 = cunhas múltiplo-dissectadas. I. *Amphilophium crucigerum* (clado Pithecoctenieae), tipo 6 = Cunhas de floema inclusas. Escala = 2 mm.

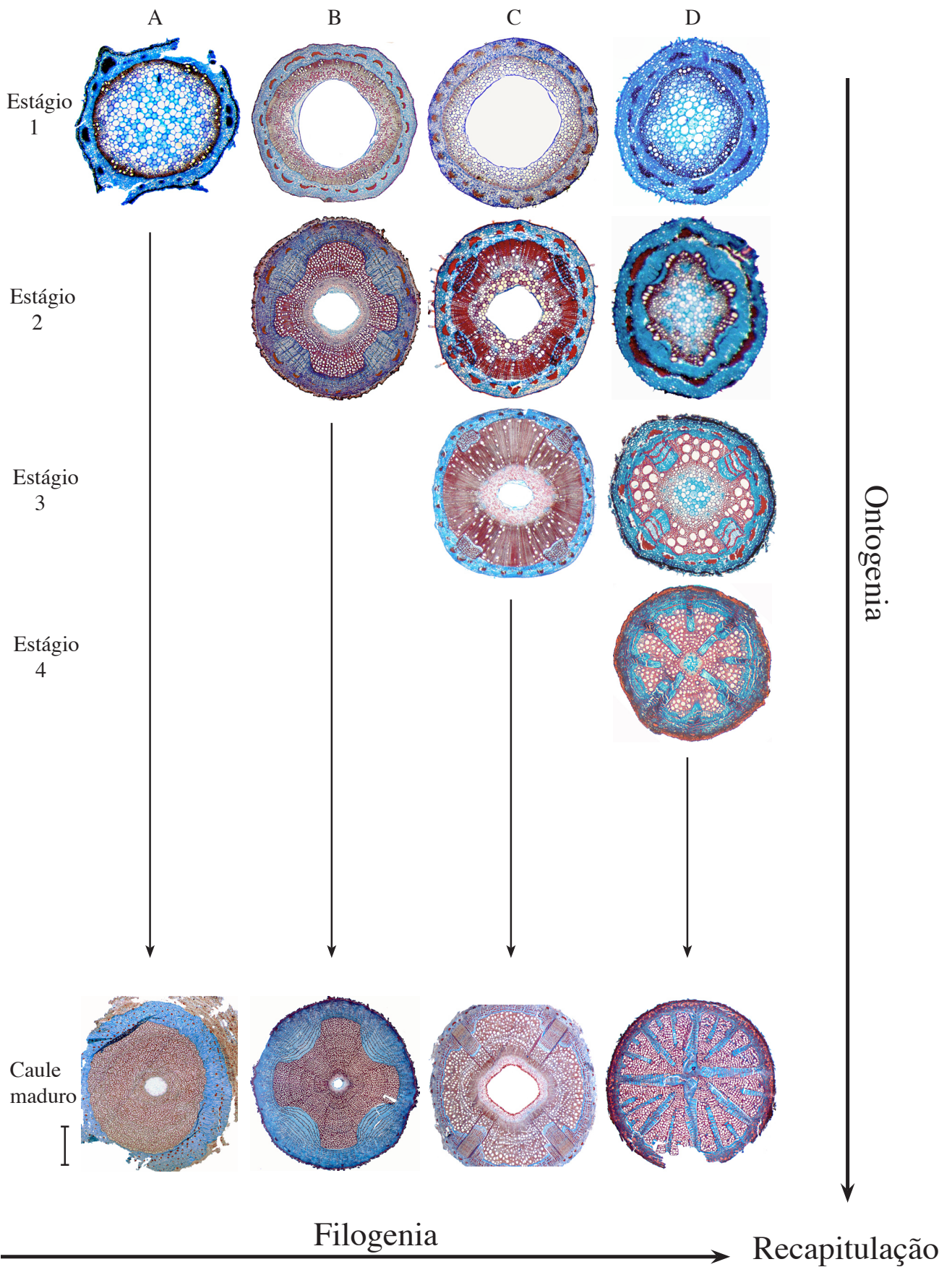


Fig. 5. Exemplos de trajetórias ontogenéticas encontradas em Bignoniaeae e grupo externo. As flechas conectam o último evento ontogenético ao caule maduro das espécies. As espécies estão organizadas dos nós mais basais aos nós mais apicais. A. *Podranea ricasoliana* (grupo externo). B. *Perianthomega vellozoi* (primeira linhagem a divergir em Bignoniaeae). C. *Styzophyllum riparium* (clado *Styzophyllum*, similar à maioria das "core Bignoniaeae"). D. *Dolichandra unguis-cati* (clado "Cat's claw"). Escalas = 500 µm (Estágios 1, 2D, 3D); 1 mm (Estágios 2B-D, 3C, 4D); 2 mm (Estágio 2C); 4 mm (Estágio 4); 5 mm (Caule maduro).

são condutores por uma porção muito mais extensa, do câmbio para a periferia (Fig. 7E). Essa conclusão baseia-se em observações anatômicas: nestas plantas a parada na condutividade dos elementos de tubo crivado é observada pela deposição de calose definitiva nas placas crivadas e/ou por expansão das células parenquimáticas do floema (Fig. 8). Em alguns casos ocorre ainda colapso dos elementos de tubo crivado (Fig. 8) e dilatação dos raios floemáticos. Um único gênero em Bignonieae permanece para sempre nesse estágio, *Perianthomega* (primeira linhagem que divergiu em Bignonieae), na qual encontramos quatro arcos de floema e um câmbio contínuo mesmo em caules maduros (Figs. 3 ONT 1, 5B). Todas as demais Bignonieae (i.e., o clado das “core Bignonieae”) incluem uma série de estágios adicionais de desenvolvimento (Figs. 5C-D).

Formação de cunhas de floema (Fig.3 ONT 2).

Neste estágio os quatro arcos de floema se transformam em quatro cunhas de floema (Fig. 2B). Nestes caules o câmbio se torna descontínuo (disjunto), com porções incluídas dentro das cunhas e porções entre as cunhas (Figs. 5 estágio 3, 6C). Uma análise aprofundada da formação da variação cambial foi realizada nas espécies possuidoras de cunhas para entender por quê as cunhas se formam em todas as Bignonieae, exceto em *Perianthomega*. Nossas análises indicaram que a presença das cunhas nas “core Bignonieae” se deve aos tipos de divisões executadas pelo câmbio vascular nas regiões variantes dessas espécies. Cunhas se formam nos caules das “core Bignonieae” porque o câmbio das regiões variantes reduz muito o número de divisões anticlinais (Fig. 7B), que é o tipo de divisão que permite o aumento em circunferência do câmbio. Como resultado estas quatro regiões cambiais passam a ter uma extensão quase restrita (Fig. 7A). Uma vez que a variação ocorre somente em quatro pontos e

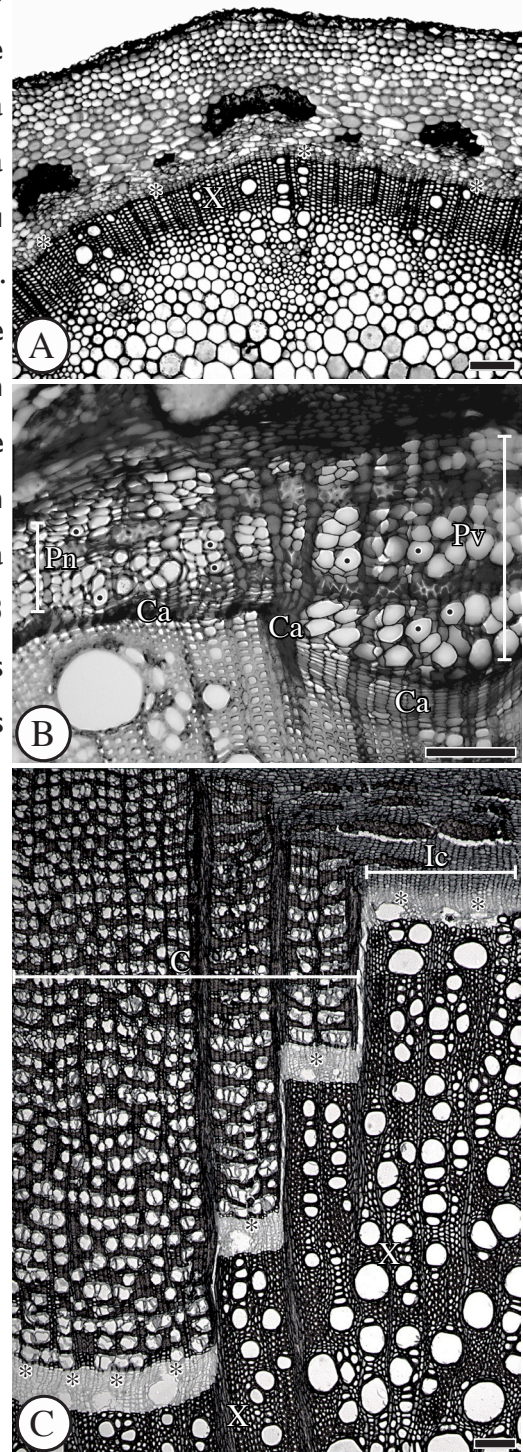


Fig. 6. Cortes transversais do caule. A. *Perianthomega vellozoi*; estágio 1, câmbio com atividade normal em toda sua extensão (asteriscos). B. *Amphilophium crucigerum*; estágio 2, início da atividade variante, com o câmbio produzindo proporcionalmente mais floema do que xilema, elementos de tubo crivado (pontos) com maior calibre nas porções variantes e câmbio contínuo. C. *Cuspidaria convoluta*; estágio 3, câmbio disjunto (asteriscos), com porções incluídas no interior das cunhas de floema e porções nas intercunhas. C = Cunha, Ca= Câmbio, Ic = Intercunha Pn = Porção normal, Pv = Porção variante, X = Xilema. Escalas = 100µm.

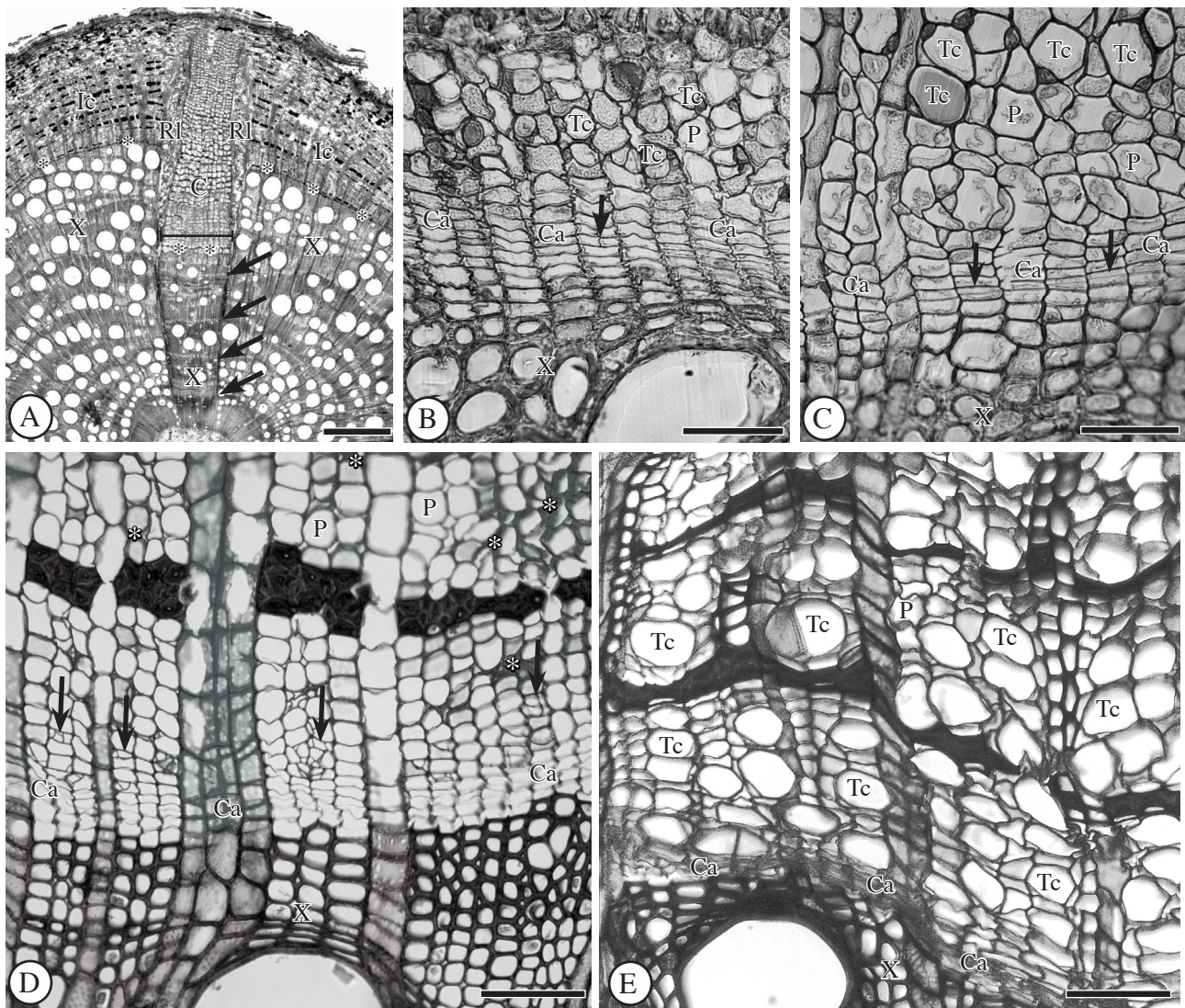


Fig. 7. A, D - E. *Tanaecium pyramidatum*. A. O câmbio no interior da cunha apresenta largura praticamente imutável (barra), algo também evidenciado pelos raios limitantes (→). B e C. *Bignonia magnifica*. B. Câmbio da intercunha com dois tipos de divisões, anticlinais (→) e periclinais. C. Câmbio variante com divisões periclinais (→). D. Elementos de tubo crivado na intercunha (→), diminutos e que logo perdem a condutividade, evidenciado pelo seu colapso (*) e dilatação das células parênquima. E. Elementos de tubo crivado nas cunhas de floema são mais largos e funcionais por uma área maior do câmbio para periferia. C = Cunha de floema, Ca = Câmbio, Ic = Intercunha, P = Parênquima, Tc = Elemento de tubo crivado. Escalas: 1 mm (A), 50 μ m (B-C), 100 μ m (D-E).

não em toda extensão cambial, porções variantes se alternam com porções de crescimento padrão, cada qual com taxas diferentes de diferenciação de xilema e floema, criando, conseqüentemente, dois movimentos contrários no caule. O câmbio das regiões padrão produz xilema em maiores quantidades para o interior, deslocando-se para fora, ao passo que o câmbio variante produz pouco xilema, mantendo-se quase estático e produzindo maiores quantidades de floema para o exterior (Figs. 6B-C). A co-ocorrência desses dois movimentos distintos promove a disjunção do câmbio e a formação de cunhas de floema (Figs. 6B-C). Raios largos se formam nas laterais das cunhas para acomodar esse crescimento, deixando marcas impressas no xilema que permitem detectar com precisão quando exatamente na ontogenia do caule ocorreu a disjunção do câmbio (Fig. 7A). Além disso, os raios limitantes consistem em evidência adicional de que o câmbio praticamente não aumenta em diâmetro após sua inclusão (Fig. 7A). Em muitas espécies, as regiões adjacentes às cunhas

passam de um crescimento padrão para um crescimento variante, formando um padrão semelhante a escadas ao lado das primeiras cunhas formadas (Figs. 4G, 6C).

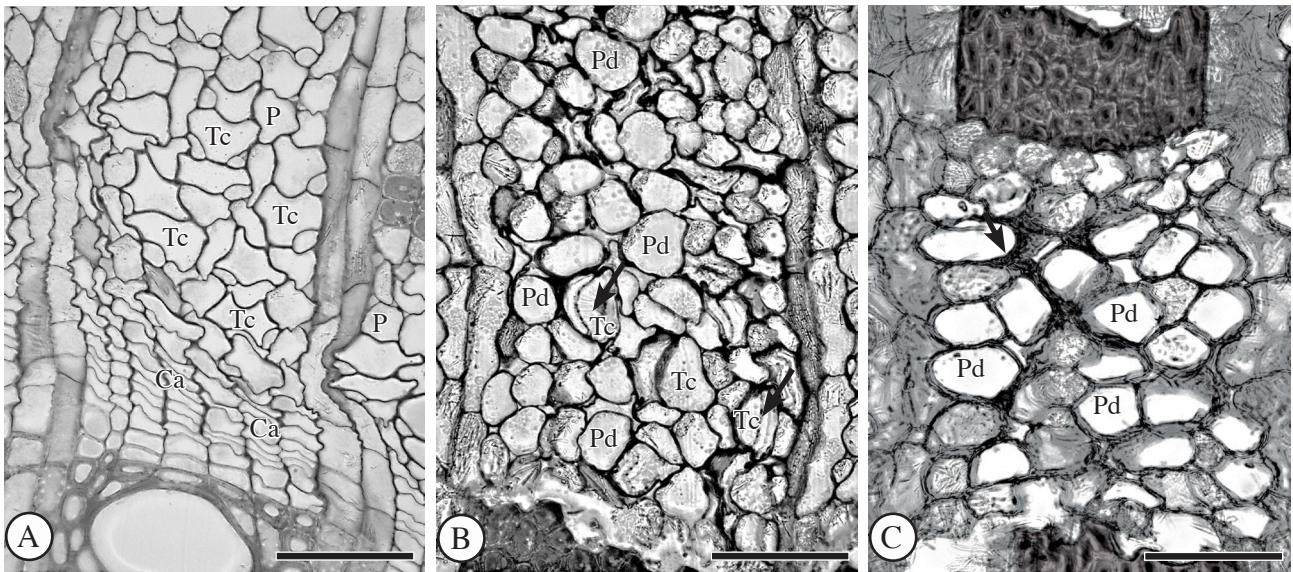


Fig. 8. *Perianthomega vellozoi*. A-C. Fases da diferenciação do elemento de tubo crivado, desde sua formação até a perda total da condutividade. A. Elementos de tubo crivado condutores (→) em regiões próximas ao câmbio. B. Deposição de calose definitiva nas placas crivadas (→) e dilatação das células parenquimáticas ao redor dos elementos de tubo crivado. C. Colapso total dos elementos de tubo crivado (→) com as células parenquimáticas dilatadas tomando o espaço antes ocupado por eles. Ca = Câmbio, P = Célula parenquimática, Pd = Célula parenquimática dilatada, Tc = Elementos de tubo crivado. Escalas = 50 µm.

Atividade cambial desacelerada (Fig. 3 ONT 4). Dois cladogramas aqui analisados, o clado “True *Arrabidaea* extended” e o clado “Volcano gland” contêm espécies arbustivas (*Adenocalymma nodosum*, *Adenocalymma peregrinum* e *Fridericia platyphylla*) que crescem no cerrado brasileiro. A ontogenia dessas espécies passa pelos mesmos estágios mencionados anteriormente, inclusive a interrupção das divisões anticlinais nas porções variantes. Entretanto, elas nunca chegam a formar cunhas, permanecendo como arcos pouco profundos por toda vida (Fig. 4E). Isso se deve ao fato de seus câmbios variantes apresentarem uma taxa de diferenciação de floema bastante inexpressiva, ao passo que estas mesmas porções continuam produzindo mais xilema do que floema, de maneira que a disjunção do câmbio não ocorre e essas plantas permanecem com arcos de floema de pequena extensão.

Formação de cunhas em múltiplos de quatro (Fig. 3 ONT 4). Dentro do grande clado das “core Bignonieae” estão presentes plantas que vão mais além em sua ontogenia, porém sempre seguindo os passos descritos anteriormente. Um exemplo é a formação de cunhas adicionais àquelas quatro que se formam inicialmente, gerando quatro, oito, 16 e assim por diante numa progressão geométrica (Figs. 4F-G).

Cunhas múltiplo-dissectadas (Fig. 3 ONT 5). Este tipo de configuração da cunha é exclusivo das espécies pertencentes ao clado “Cat’s claw”. Durante a ontogenia destas espécies

seus caules se desenvolvem de maneira muito semelhante às espécies do clado “Multiples of four” s.s.. No entanto, ao contrário das demais Bignonieae, as espécies do clado “Cat’s claw” apresentam raios limitantes e porções do parênquima axial que não se lignificam. Essa porções não lignificadas subsequentemente se dividem em todos os planos e acabam comprimindo as cunhas de floema em várias porções, por fim dissecando-as e incluindo-as no xilema (Fig. 9). Tal situação gera um mosaico de cunhas, porções de xilema e ilhas de floema incluso margeadas radialmente por parênquima não lignificado (Figs. 4H, 5D, 9).

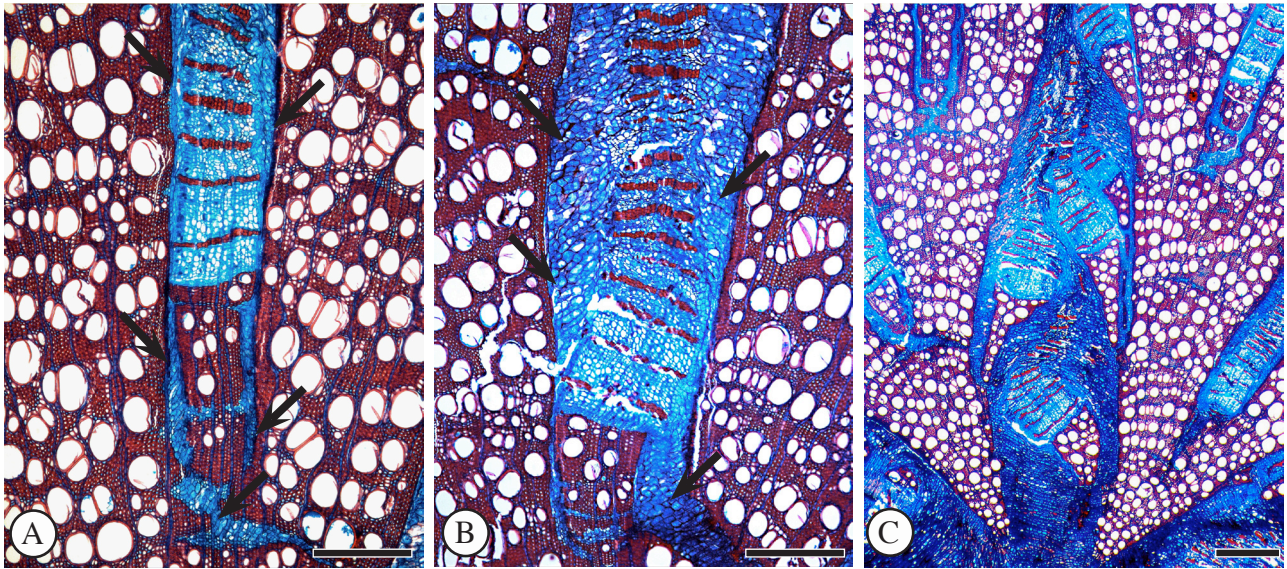


Fig. 9. *Dolichandra unguis-cati*. A. Parênquima não lignificado nos raios e parênquima axial (→). B. Divisões do parênquima comprimem as cunhas de floema (→). C. Divisões aleatórias das células parenquimáticas incluem as cunhas de floema e dissecam o xilema. Escalas: A e B = 300µm, e C = 1 mm.

Formação de cunhas de floema inclusas (Fig. 3 ONT 6). Esse último tipo de arquitetura da cunha é exclusivo das espécies do clado Pithecoctenieae. Nessas espécies, após a formação de quatro cunhas de floema, o câmbio da intercunha que se localiza ao lado da porção exterior da cunha começa a se projetar em direção à cunha por meio de divisões anticlinais das iniciais radiais do câmbio, gradualmente recobrando sua continuidade e incluindo as cunhas de floema (Figs. 4I e 10A). Após um tempo, novas cunhas de floema voltam a se diferenciar na mesma direção das cunhas incluídas, e algumas espécies do clado desenvolvem cunhas adicionais, em múltiplos de quatro ao lado das quatro cunhas iniciais; em algumas espécies essas cunhas também se tornam inclusas à medida que o crescimento da planta progride. Outro caráter distintivo desse clado refere-se à condutividade do floema da cunha. Ao contrário dos demais gêneros, o floema dessas espécies deixam de conduzir em uma posição ainda próxima ao câmbio (Fig. 10B), com a maior parte do floema da cunha não-condutor (Fig. 10A).

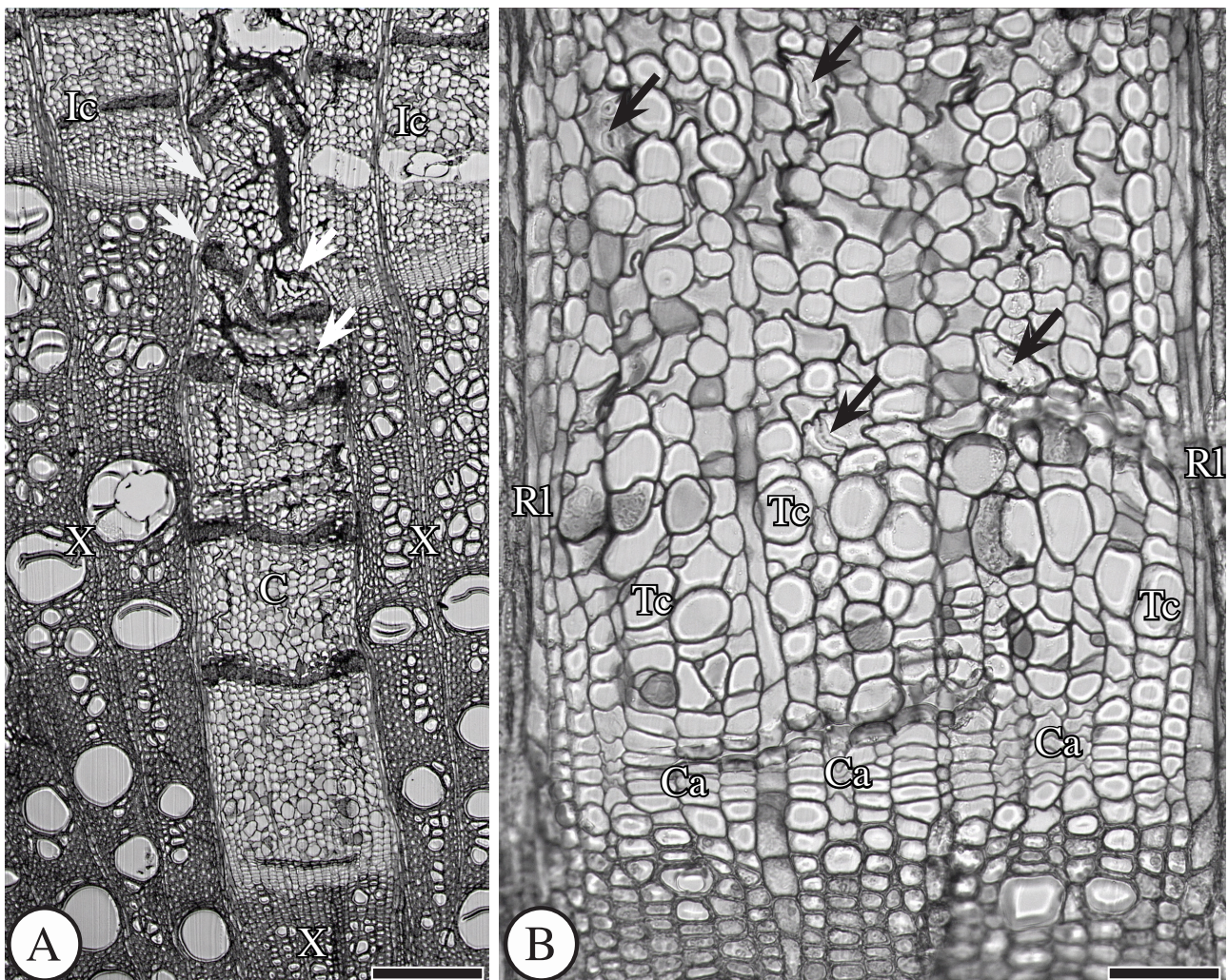


Fig. 10. *Amphilophium crucigerum*. A. Inclusão da cunha de floema na região do parênquima não condutor colapsado (→). B. Detalhe dos elementos de tubo crivado ilustrando a rápida perda de condutividade, evidenciado pela deposição de calose definitiva (→) em regiões próximas ao câmbio. C = Cunha de floema, Ca = Câmbio, Ic = Intercunha, RI = Raio limitante, Tc = Elemento de tubo crivado, X = Xilema. Escalas: A = 200 μ m, B = 50 μ m.

Distância entre as ontogenias e reconstrução das ontogenias ancestrais

Cada uma das seis ontogenias diferentes encontradas nas espécies de Bignoniaceae foram transformadas em estados de caráter, de ONT 0 à ONT 6 (Fig. 3). Além disso, uma matriz de passos foi elaborada para indicar a distância entre estas ontogenias (Tabela 2). Os resultados extraídos da matriz de passos indicam um aumento em complexidade do grupo externo em direção aos ramos mais apicais da filogenia de Bignoniaceae (Tabela 2). Cada número da matriz representa o número de passos necessários para que uma ontogenia se transforme em outra. Enquanto algumas ontogenias estão separadas por um número menor de passos, outras ontogenias requerem uma transformação muito mais complexa, com um número maior de passos. Por exemplo, a ontogenia 2 dista da ontogenia 4 por somente um passo, enquanto a ontogenia 1 dista da ontogenia 6 por cinco passos (Tabela 2).

O mapeamento das ontogenias na filogenia indica que a ontogenia ancestral para as “core Bignoniaceae” é a ontogenia 2, uma ontogenia que leva à formação de quatro cunhas de floema nos

caules maduros. A ontogenia ancestral de todas as Bignonieae, contudo, permanece incerta, uma vez que *Perianthomega* apresenta quatro arcos de floema e as “core Bignonieae”, seu grupo irmão, apresenta quatro cunhas de floema, resultando numa reconstrução ambígua do caráter ancestral, com 50% de chance de qualquer uma das ontogenias representar a condição ancestral da tribo.

Dentro do clado “core Bignonieae” estão presentes duas evoluções independentes para uma atividade cambial desacelerada (Fig. 3 ONT 3), uma dentro do clado “Volcano gland” e outra dentro do clado “True *Arrabidaea* expanded”. Além disso, foram registradas três evoluções independentes para a formação de cunhas de floema em múltiplos de quatro (Fig. 3 ONT 4): uma no clado “Multiples of four s.s. + Cat’s claw + Pithecoctenieae”, outra no clado “Volcano gland” e por fim uma no clado *Lundia* (Fig. 11). No clado “Multiples of fours s.s. + Cat’s claw + Pithecoctenieae” um ancestral com quatro cunhas de floema é reconstruído, com três evoluções independentes de três tipos de formação de cunhas de floema partindo dele (tipos 4, 5 e 6).

As transformações anatômicas que ocorreram ao longo da evolução da variação cambial em Bignonieae estão apresentadas na Figura 11. Essa figura ilustra que o primeiro evento ocorrido na evolução da anatomia caulinar da tribo corresponde à diminuição da produção de xilema e aumento

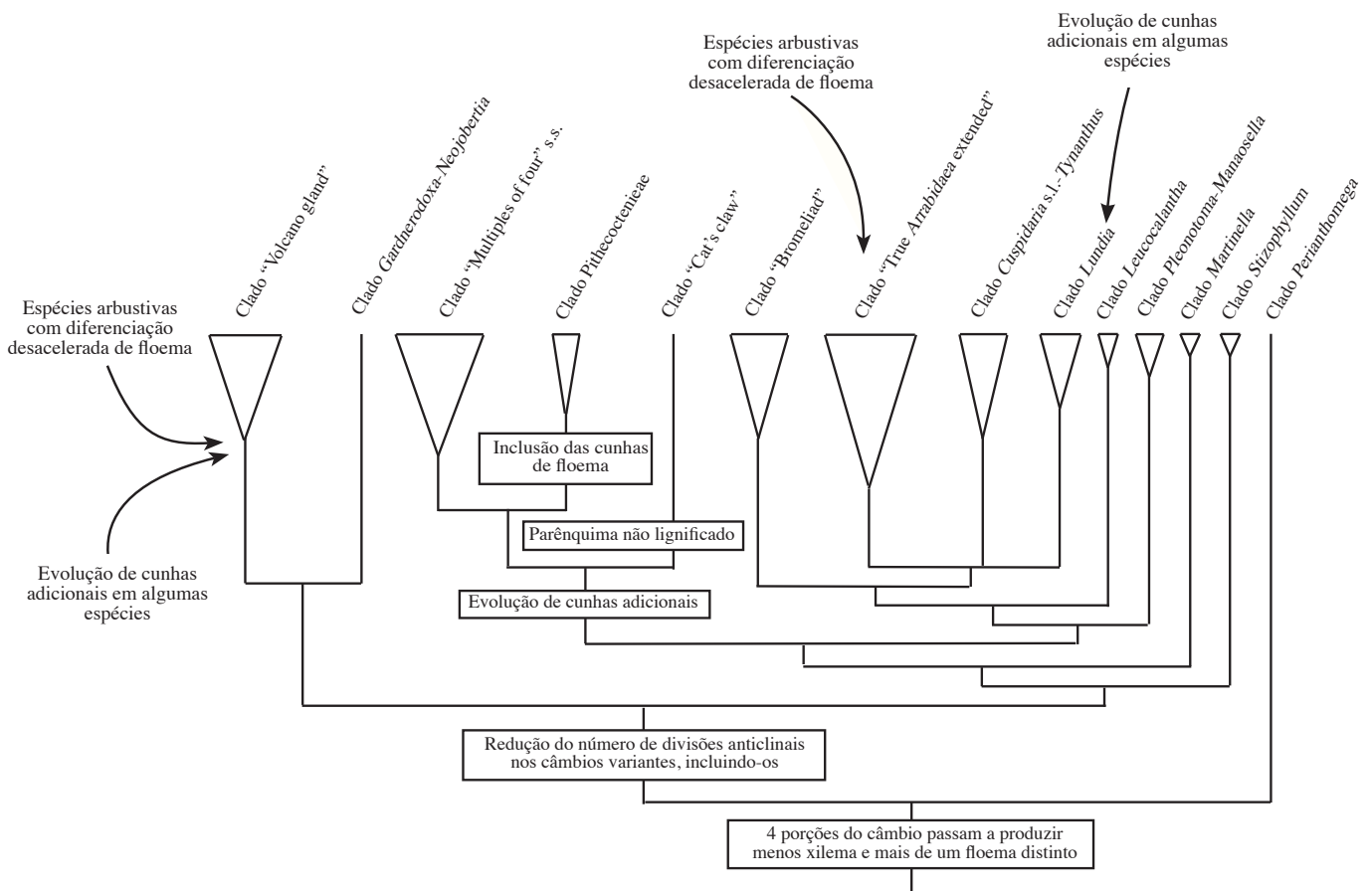


Fig. 11. Modificações anatômicas que ocorreram ao longo da evolução da variação cambial em Bignonieae. Os retângulos indicam sinapomorfias anatômicas dos clados e as flechas indicam modificações que ocorreram em somente algumas espécies dentro de um clado, com as demais espécies mantendo as características plesiomórficas.

da produção de floema, formando quatro arcos de floema equidistantes, cujos elementos de tubo crivado possuem dimensões maiores do que aqueles da intercunha e também maior longevidade. No nó seguinte da filogenia ocorre uma grande diminuição das divisões anticlinais e conseqüente inclusão do câmbio, transformando os arcos de floema em cunhas. Posteriormente, a evolução de cunhas em múltiplos de quatro ocorre independentemente no clado “Multiples of four s.s. + Pithecoctenieae + Cat’s claw”, no clado “Volcano gland” e no clado *Lundia*. No clado “Cat’s claw”, a presença de parênquima não lignificado leva à formação de cunhas múltiplo-dissectadas e por fim, a inclusão das cunhas e redução da condutividade do floema ocorre no clado Pithecoctenieae.

DISCUSSÃO

O presente estudo elucida a natureza das transformações ontogenéticas que estão por trás das mudanças anatômicas que ocorreram durante o surgimento e ao longo da evolução da variante cambial em Bignonieae.

Transformações ontogenéticas levando a um aumento de complexidade anatômica

Este estudo demonstra que embora exista uma grande diversidade de anatomias caulinares nos adultos de Bignonieae (Dos Santos 1995), essas várias anatomias têm uma base comum de desenvolvimento. De maneira geral, observa-se um aumento na complexidade das anatomias caulinares dos grupos mais basais para os grupos mais apicais da filogenia, com formas anatômicas com configuração quase “normal”, como a de *Perianthomega*, a anatomias caulinares semelhantes a um mosaico de estrelas, como o observado nas espécies do clado “Cat’s claw”. Este aumento na complexidade é refletido no aumento do número de passos ontogenéticos, que pode ser visto na matriz de passos, e no mapeamento das ontogenias na filogenia (Fig. 11).

Se considerarmos que os vários tipos de variação cambial que evoluíram dentro de Bignonieae são caracteres não homólogos a nenhuma outra estrutura existente fora da tribo Bignonieae, fica evidente que esses caracteres representam novidades evolutivas que evoluíram dentro desse grupo (*sensu* Müller & Wagner 1991). A primeira novidade evolutiva foi a formação de quatro regiões do câmbio que reduzem a produção de xilema e aumentam a produção de floema, esse último com elementos de tubo crivado de maior diâmetro e maior longevidade. A diferença de diâmetro entre os elementos de tubo crivado, sua longevidade e freqüência são tão diferentes entre as porções variantes e as porções de crescimento padrão que é muito provável que quase toda a condução de fotoassimilados seja restrita aos arcos/cunhas de floema, similarmente ao que foi proposto para as ilhas de floema incluso presente nos caules de *Strychnos millepunctata* (Veenendaal & Den Outer

1993). Essa novidade evolutiva, compartilhada por todas as espécies de Bignonieae (sinapomorfia), confere uma área maior e mais eficiente para a condução de fotossintetatos. É sabido que apesar das lianas possuírem caules estreitos, suas copas podem ser tão amplas quanto aquelas de uma árvore (Ewers & Fisher 1991), contribuindo em até 20% da biomassa total de uma floresta (Pérez-Salicrup *et al.* 2001). O xilema das lianas demonstrou ser mais eficiente na condução de água (Ewers 1985; Ewers *et al.* 1990), com elementos de vaso de até 500 µm de diâmetro (Carlquist 1985). Similarmente, é esperado que o floema das lianas também apresente características que lhe permitam uma melhor condutividade de fotossintetatos. De fato, o câmbio variante gera elementos de tubo crivado de maior diâmetro não só em Bignoniaceae, mas também em Hippocrateaceae (Obaton 1960), Fabaceae (Ewers & Fisher 1991), Loganiaceae (Veenendaal & Den Outer 1993) e Icacinaceae (veja figuras em Lens *et al.* 2008).

A diminuição das divisões anticlinais do câmbio variante, transformando os arcos de floema em cunhas de floema, é a segunda novidade evolutiva a aparecer dentro do grupo. Neste momento a variação se torna mais evidente e além da função de melhor condução dos fotossintetatos, a variação cambial também ganha uma nova função: a de conferir maior flexibilidade aos caules escandentes, uma vez que intercala tecidos macios a tecidos rígidos do caule. A formação de cunhas de floema é comum a todas as espécies do clado das “core Bignonieae”. A formação das cunhas de floema foi, ademais, acompanhada pela disjunção do câmbio, como resultado dos movimentos contrários gerados pela coexistência de porções variantes alternadas a porções de crescimento normal. Tal disjunção faz com que partes do câmbio fiquem isoladas no interior das cunhas e com que o câmbio deixe de apresentar uma forma cilíndrica e contínua. A razão pela qual o câmbio não recobra sua continuidade, entretanto, é anatomicamente intrigante. Inúmeros experimentos demonstraram que quando o câmbio perde uma parte ou até mesmo metade do caule é removida, sua tendência é sempre a de retomar sua continuidade, paralelamente à superfície do caule (Lang 1965). De fato, a disjunção do câmbio também ocorre em Loganiaceae devido à atividade assimétrica de porções variantes crescendo junto a porções com desenvolvimento padrão, mas neste caso logo as porções variantes são incluídas pelo câmbio padrão que cresce ao lado das porções variantes, incluindo o floema e o câmbio variante, de maneira que o câmbio padrão recobra sua continuidade e forma ilhas de floema dentro do xilema secundário (Boureau 1957; Veenendaal & Den Outer 1993). Não obstante, em 19 dos 20 gêneros que possuem cunhas de floema em Bignonieae, o câmbio nunca restaura sua continuidade, exceto por um único clado, o clado Pithecoctenieae, cujos membros possuem cunhas que se tornam incluídas pelo câmbio das porções padrão que avançam em direção às cunhas, encerrando-as, similarmente ao que ocorre em Loganiaceae.

A razão pela qual isso ocorre ainda é incerta, mas é possível que a rápida perda de condutividade dos elementos de tubo crivado nas espécies do clado Pithecoctenieae esteja de alguma maneira

relacionada, uma vez que todas as outras Bignonieae tendem a apresentar uma faixa bastante extensa de floema condutor. Além disso, a restauração da continuidade do câmbio em Pithecoctenieae ocorre justamente nas regiões do floema não condutor que estão colapsadas, por meio da conversão de células de parênquima axial do floema, em iniciais cambiais. A inclusão das cunhas de floema pela atividade de um câmbio originado no floema não condutor segue um padrão já visto na formação de outros meristemas, que também se formam nessa porção, como por exemplo o felogênio ou o meristema de dilatação do raio (Evert 2006). Além disso, os câmbios sucessivos típicos de *Dalbergia paniculata* também se formam no floema não condutor (Nair & Ram 1990), assim como a inclusão do floema variante em *Strychnos* ocorre ao nível das células parenquimáticas deste floema (Veenendaal & Den Outer 1993).

Dadas às evidências apresentadas acima é possível que as cunhas de floema tenham tido grande importância na diversificação de Bignonieae. Sobretudo se ponderamos que *Perianthomega* e as “core Bignonieae” representam duas linhagens que descendem de um ancestral comum, porém com uma diferença marcante: enquanto *Perianthomega* contém somente uma espécie, as “core Bignonieae” incluem mais de 300 espécies em 20 gêneros diferentes. Outros caracteres também diferem entre as duas linhagem. Por exemplo, as gavinhas representam um pecíolo modificado em *Perianthomega*, mas representam um folíolo terminal modificado nas “core Bignonieae” (Gentry 1991; Lohmann 2006). O mais provável é que os vários caracteres conjuntamente tenham atuado como inovações chave que favoreceram a maior diversificação do clado das core Bignonieae (Gentry 1980), como também sugerido para as Cactaceae e famílias relacionadas (Ogburn & Edwards 2009). Descendendo de um ancestral com quatro cunhas de floema, outras arquiteturas anatômicas evoluíram dentro das “core Bignonieae”: o tipo arbustivo, o tipo múltiplos de quatro, o tipo múltiplo-dissectado e o tipo cunhas incluídas ao longo de um mesmo raio. É provável que cada um desses tipos anatômicos tenha evoluído em resposta a diferentes pressões evolutivas. Esta possibilidade é melhor explorada abaixo.

O tipo arbustivo se destaca por possuir reduzida produção de floema secundário nas porções variantes e, além disso, por seu câmbio variante produzir quase tanto xilema quanto as porções com atividade normal, o que leva a formação de arcos de floema bastante reduzidos. Tais arcos de floema são tão inconspícuos que Gentry (1980) chega a afirmar que os tipos arbustivos em Bignonieae careceriam de variação cambial. As cunhas de floema nas lianas ocupam amplas porções do xilema secundário, porções estas que estariam envolvidas na condução de água e sustentação da planta. Quanto à sua sustentação, as lianas se apóiam em outras plantas para crescer (Stevens 1987), e quanto a condução de água, os vasos de grande calibre atuam para garanti-la, de maneira que a variação cambial se desenvolve conferindo-lhes flexibilidade (Ewers *et al.* 1990) sem maiores prejuízos à planta, algo que em plantas eretas (arbustos e árvores) não seria verdade e a flexibilidade

muito provavelmente teria menor relevância que a condução de água e sua sustentação (Gartner 1991). De fato, o xilema de plantas que se auto sustentam possui vasos de menor calibre e em menor frequência do que as lianas (Ewers 1985), o que implica que uma maior área envolvida em condução de água e tecido de sustentação deva ser de extrema importância para essas plantas. A arquitetura anatômica de tipo arbustivo está presente em todos os arbustos analisados em Bignoniaceae, tanto do clado “Volcano gland” quanto do clado “True *Arrabidaea* extended”, duas linhagens distantes dentro da tribo, mas que apresentam uma convergência para a redução na produção de floema secundário nos locais da variação cambial.

As cunhas de floema em múltiplos de quatro e as múltiplo-dissectadas, por sua vez, são provavelmente novidades evolutivas que evoluíram tornando os caules das espécies que possuem esses tipos mais especializados para a escalada. Nessas plantas, muito mais tecido macio está entremeando o xilema, conferindo ainda mais flexibilidade a estas espécies. A formação de cunhas adicionais em múltiplos de quatro é uma sinapomorfia do clado “ Multiples of four s.s. + Cat’s claw + Pithecoctenieceae”, mas também evoluiu independentemente no clado *Lundia* e no clado “Volcano gland”. Evoluções múltiplas para esse caráter não são de surpreender, já que apenas um passo é necessário para que caules com quatro cunhas de floema passem a produzir cunhas em múltiplos de quatro. A formação de novas cunhas entre as quatro cunhas formadas inicialmente, numa progressão geométrica e em disposição equidistante, indicam que o padrão vascular primário e a filotaxia oposta cruzada das folhas provavelmente não representariam os únicos fatores associados à formação das cunhas de floema, como postulado por Dobbins (1970), mas um controle posicional da distribuição das cunhas também deve estar envolvido.

Os caules de tipo múltiplo-dissectado, por sua vez, derivam de divisões aleatórias do parênquima axial não lignificado que parenquimatiza o xilema secundário. A parenquimatização do xilema representa uma novidade evolutiva exclusiva do clado “Cat’s claw” e aumentaria ainda mais a flexibilidade dos caules, já que essas plantas foram registradas como as mais flexíveis dentro de Bignoniaceae (Gentry 1980). A formação de parênquima axial não lignificado no xilema é um caráter pouco comum nas espécies vegetais como um todo, mas tem sido frequentemente reportado em dois grupos de plantas: suculentas e lianas (Carlquist 1988). Nas suculentas o parênquima axial não lignificado atua como tecido de armazenamento (Gibson 1973, 1975), ao passo que em lianas estaria relacionado com a flexibilidade, reparo de injúrias (Dobbins & Fisher 1986) e reserva de água (Carlquist 1988). Dentro de Bignoniaceae, entretanto, esse caráter é encontrado exclusivamente nas oito espécies que formam o clado “Cat’s claw”. O parênquima axial não lignificado ocupa um espaço que seria ocupado por fibras, vasos e parênquima axial lignificado. Essa substituição de caracteres foi interpretada como um caso de homeose no xilema secundário em Caricaceae (Olson 2007).

Heterocronia na evolução das cunhas de floema

Dois tipos de heterocronia existem: pedomorfose e recapitulação (também denominada peramorfose) (De Beer 1940; Alberch *et al.* 1979). A palavra recapitulação nos remete imediatamente às idéias de Ernst Haeckel (como discutido em Gould 1977), que sugere que a ontogenia dos organismos recapitularia a forma adulta de seus ancestrais. Recapitulação nestes moldes demonstrou ser equivocada (Gould 1977), embora a semelhança entre um estágio ontogenético de uma espécie e o adulto de um de seus ancestrais possa simplesmente indicar que a espécie ancestral não se desviou muito de um estágio ontogenético comum a ambas (De Beer 1940). Em Bignoniae vemos claramente um exemplo de recapitulação (mais especificamente, de hipermorfose, *sensu* De Beer 1940) quando a ontogenia de uma espécie do clado “Cat’s claw”, por exemplo, é comparada com a ontogenia de uma espécie próxima a um dos nós basais da filogenia (veja Fig. 5). Esse resultado recapitulatório tão claro, contudo, deriva de um processo não heterocrônico. Ao contrário, o que ocorreu foi a adição terminal de novidades evolutivas nas diferentes ontogenias, levando, conseqüentemente, a um cenário recapitulatório. Raff & Wray (1989) demonstraram com clareza como processos não heterocrônicos podem levar a resultados heterocrônicos, expondo que até o exemplo principal de desenvolvimento pedomórfico, o axolotle (*Ambystoma mexicanum*, Amphibia; De Beer 1940) deriva de um processo não heterocrônico (supressão hormonal e não uma mudança no tempo de desenvolvimento).

Por outro lado, Bignoniae também possui um exemplo de resultado heterocrônico derivado de um processo heterocrônico de fato no desenvolvimento da variação cambial em espécies arbustivas. Estas espécies demonstraram ser derivadas de ancestrais com formação de cunhas de floema bem desenvolvidas, e seus arcos de floema possuem câmbios variantes com as mesmas características do ancestral, exceto pela baixa taxa de formação de floema. O retardo no desenvolvimento do floema variante gera adultos com características juvenis e, portanto, pedomórficos.

Evolução modular do xilema e floema

Um módulo representa um complexo de caracteres integrados de maneira a formar uma unidade evolutiva, de forma que a modificação de um caráter pertencente ao complexo leva à modificação dos demais caracteres de maneira integrada (Wagner 1996). A maioria das pesquisas nessa área se concentram em flores e na integração dos apêndices florais (Armbruster *et al.* 2004). Nada se sabe sobre a existência de integração anatômica na evolução de caracteres vegetativos como um todo.

O xilema e o floema secundário são tecidos derivados de um mesmo meristema, o câmbio. Assim, seria de se esperar que ambos evoluíssem como parte de um mesmo módulo (Olson & Rosell

2006). Trabalhos recentes com o crescimento secundário de *Moringaceae* demonstraram, entretanto, que trajetórias ontogenéticas diferentes podem ser tomadas por esses tecidos. Mais especificamente, pedomorfose pode estar presente no xilema e ausente no floema, demonstrando que estes tecidos evoluíram separadamente (Olson & Rosell 2006). Nossos resultados indicam, contudo, um cenário evolutivo diferente, com a redução da diferenciação de xilema sempre acompanhado pelo aumento na diferenciação de floema. Por conseguinte, podemos supor que floema e xilema secundário pertençam de fato a um mesmo módulo em *Bignonieae*, ao passo que pertençam a dois módulos em *Moringaceae*. Outra possibilidade seria a presença de três módulos relacionados à diferenciação celular secundária, um específico para as iniciais cambiais, outro específico para as derivadas do floema e por fim outro relacionado às derivadas do xilema. Neste caso, ao passo que as modificações teriam ocorrido no nível das derivadas xilêmicas em *Moringaceae*, em *Bignonieae* elas teriam ocorrido no nível das iniciais cambiais.

CONCLUSÕES

Nossos resultados apontam que poucas modificações anatômicas podem conectar uma planta com crescimento secundário padrão a uma planta com crescimento secundário variante. Mudanças no desenvolvimento geradas por novidades evolutivas levam a diferentes arquiteturas anatômicas em *Bignonieae*, provavelmente melhorando a condutividade e a flexibilidade dos caules e influenciando tremendamente a evolução morfológica em *Bignonieae*. Outros mecanismos de desenvolvimento como heterocronia também tiveram um papel importante na diversificação desse grupo. Estes resultados indicam a importância de estudos que integram ontogenia e filogenia em grupos vegetais e seu potencial para testar hipóteses associadas aos mecanismos de desenvolvimento que levaram à diversidade anatômica presente atualmente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERCH, P., GOULD, S. J., OSTER, G. F., & WAKE, D. B. 1979. Size and shape in ontogeny and phylogeny. *Paleobiology* 5: 296-317.
- ARMBRUSTER, W. S., PÉLABON, C., HANSEN, T. F., & MULDER, C. P. H. 2004. Floral integration, modularity, and accuracy: distinguishing complex adaptations from genetic constraints. In M. Pigliucci & K.A. Preston (eds). Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. Oxford University Press, Oxford, pp. 23-41.
- BOUREAU, E. 1957. Structures libéro-ligneuses anormales. In E. Boureau (ed.) Anatomie végétale: l'appareil végétatif des phanérogames. Presses Universitaires de France, Paris, pp. 633-651.
- BUKATSCH, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos* 61: 255.
- CABALLÉ, G. 1993. Liana structure, function and selection: a comparative study of xylem cylinders of tropical rainforest species in Africa and America. *Botanical Journal of the Linnean Society* 113: 41-60.
- CABALLÉ, G. 1998. Le port autoportant des lianes tropicales: une synthèse des stratégies de croissance. *Canadian Journal of Botany* 76: 1703-1716.
- CARLQUIST, S. 1982. The use of ethylenediamine in softening hard plant structures for paraffin sectioning. *Stain Technology* 57: 311-317.
- CARLQUIST, S. 1985. Observations on functional wood histology of vines and lianas: vessel dimorphism, tracheids, vascentric tracheids, narrow vessels, and parenchyma. *Aliso* 11: 139-157.
- CARLQUIST, S. 1988. Comparative wood anatomy – systematic, ecological, and evolutionary aspects of dicotyledon wood. Springer-Verlag, Berlin.
- CARLQUIST, S. 1996. Wood, bark, and stem anatomy of Gnetales: a summary. *International Journal of Plant Sciences* 157: S58-S76.
- DE BEER, G. R. 1940. Embryos and ancestors. Clarendon Press, Oxford.
- DOBBINS, D. R. 1969. Studies on the anomalous cambial activity in *Doxantha unguis-cati* (Bignoniaceae). I. Development of the vascular pattern. *Canadian Journal of Botany* 47: 2101-2106.
- DOBBINS, D. R. 1970. The influence of the leaves on anomalous cambial activity in the "cross-vine". *American Journal of Botany* 57: 735.
- DOBBINS, D. R. 1971. Studies on the anomalous cambial activity in *Doxantha unguis-cati* (Bignoniaceae). II. a case of differential production of secondary tissues. *American Journal of Botany* 58: 697-705.
- DOBBINS, D. R. 1981. Anomalous secondary growth in lianas of the Bignoniaceae is correlated with the vascular pattern. *American Journal of Botany* 68: 142-144.
- DOBBINS, D. R., & FISHER, J. B. 1986. Wound responses in girdled stems of lianas. *Botanical Gazette* 147: 278-289.

- DOS SANTOS, G. M.A. 1995. Wood anatomy, chloroplast DNA, and flavonoids of the tribe Bignoniaceae (Bignoniaceae). Ph.D. Dissertation. University of Reading, Reading.
- EVERT, R. F. 2006. Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body – their structure, function, and developmental. John Wiley and Sons, New Jersey.
- EWERS, F.W. 1985. Xylem structure and water conduction in conifer trees, dicot trees, and lianas. *IAWA Bulletin* n.s. 6: 309-317.
- EWERS, F.W., FISHER, J.B., & CHIU, S.T. 1990. A survey of vessel dimensions in stems of tropical lianas and other growth forms. *Oecologia* 84: 544-552.
- EWERS, F.W., & FISHER, J. B. 1991. Why vines have narrow stems: histological trends in *Bauhinia* (Fabaceae). *Oecologia* 88: 223-237.
- FISCHER, E., THEISEN, I., & LOHMANN, L. G. 2004. Bignoniaceae. In K. Kubitzki & J.W. Kadereit (eds.). The families and genera of vascular plants. VII. Dicotyledons. Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae), Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 9-38.
- FISHER, J. B., & EWERS, F.W. 1992. Xylem pathways in liana stems with variant secondary growth. *Botanical Journal of the Linnean Society* 108: 181-202.
- GALLENMÜLLER, F. MÜLLER, U., ROWE, N., & SPECK, T. 2001. The growth form of *Croton pullei* (Euphorbiaceae) - Functional morphology and biomechanics of a neotropical liana. *Plant Biology* 3: 50-61.
- GARTNER, B. L. 1991. Structural stability and architecture of vines vs. shrubs of poison oak, *Toxicodendron diversilobum*. *Ecology* 72: 2005-2015.
- GENTRY, A. H. 1980. Bignoniaceae Part I – Tribes Crescentieae and Turretieae. *Flora Neotropica Monograph* 25.
- GENTRY, A. H. 1991. The distribution and evolution of climbing plants. In F. E. Putz & H.A. Mooney (eds.). The biology of vines. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 3-49.
- GIBSON, A. C. 1973. Comparative anatomy of secondary xylem in Cactoideae (Cactaceae). *Biotropica* 5: 29-65.
- GIBSON, A. C. 1975. Another look at the cactus research of Irving Widmer Bailey. *Supplement Volume of the Cactus and Succulent Journal*: 76-85.
- GOULD, S. J. 1977. Ontogeny and phylogeny. Harvard University Press, Cambridge.
- GUERRANT, E. O. JR. 1988. Heterochrony in plants: the intersection of evolution, ecology and ontogeny. In McKinney (ed.). Heterochrony in evolution. Plenum Press. New York and London, pp. 111-133.
- ISNARD, S. & SILK W. K. 2009. Moving with climbing plants from Charles Darwin's time into the 21st century. *American Journal of Botany* 96: 1205-1221.
- JACQUES, F. M. B., & DE FRANCESCHI, D. 2007. Menispermaceae wood anatomy and cambial variant. *IAWA Journal* 28: 139-172.
- JARAMILLO, M.A., MANOS, P. S., & ZIMMER, E.A. 2004. Phylogenetic relationships of the perianthless Piperales: reconstructing the evolution of floral development. *International Journal of Plant Sciences* 165: 403-416.

- LANG, A. 1965. Progressiveness and contagiousness in plant differentiation and development. In W. Ruhland (ed.), *Handbuch der Pflanzenphysiologie XV/1*. Berlin, Heidelberg and New York, Springer-Verlag, pp. 409-423.
- LENS, F., KÄREHED, J., BAAS, P., JANSEN, S., RABAEY, D., HUYSMANS, S., HAMANN, T., AND SMETS, E. 2008. The wood anatomy of polyphyletic Icacinaceae s.l., and their relationship within asterids. *Taxon* 57: 525-552.
- LI, P., & JOHNSTON, M. O. 2000. Heterochrony in plant evolutionary studies through the twentieth century. *The Botanical Review* 66: 57-88.
- LOHMANN, L. G. 2003. Phylogeny, classification, morphological diversification and biogeography of Bignoniaceae (Bignoniaceae, Lamiales). Ph.D. dissertation, University of Missouri–St. Louis, St. Louis.
- LOHMANN, L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* 93: 304-318.
- LOHMANN, L. G. No prelo. A new generic classification of Bignoniaceae (Bignoniaceae) based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. *Annals of the Missouri Botanical Garden*.
- MABEE, P. M., & HUMPHRIES, J. 1993. Coding polymorphic data: examples from allozymes and ontogeny. *Systematic Biology* 42: 166-181.
- MADDISON W. P., & MADDISON, D. R. 2000. MacClade: analysis of phylogeny and character evolution, version 4.0 PPC. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.
- MÜLLER, G. B., & WAGNER, G. P. 1991. Novelty in evolution: restructuring the concept. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22: 229-256.
- NAIR, M. N. B., & RAM, H. Y. M. 1990. Structure of wood and cambial variant in the stem of *Dalbergia paniculata* Roxb. *IAWA Bulletin* n.s. 11: 379-391.
- OBATON, M. 1960. Les lianes ligneuses a structure anormale des forêts denses d'Afrique Occidentale. *Annales des Sciences Naturelles Botanique et Biologie Végétale* 12: 1-220.
- O'BRIEN T. P., FEDER N., & MCCULLY M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368–373.
- OGBURN, R. M., & EDWARDS, E. J. 2009. Anatomical variation in Cactaceae and relatives: trait lability and evolutionary innovation. *American Journal of Botany* 96: 391-408.
- OLSON, M. E., & ROSELL, J. A. 2006. Using heterochrony to detect modularity in the evolution of stem diversity in the plant family Moringaceae. *Evolution* 60: 724-734.
- OLSON, M. E. 2007. Wood ontogeny as a model for studying heterochrony, with an example of pedomorphosis in *Moringa* (Moringaceae). *Systematics and Biodiversity* 5: 145-158.
- PÉREZ-SALICRUP, D. R., SORK, V. L., & PUTZ, F. E. 2001. Lianas and trees in a liana forest of Amazonian Bolivia. *Biotropica* 33: 34–47.
- RAFF, R. A., & WRAY, G. A. 1989. Heterochrony: developmental mechanisms and evolutionary results. *Journal of Evolutionary Biology* 2: 409-434.

- RAJPUT, K. S., & RAO, K. S. 2003. Cambial variant and xylem structure in the stem of *Cocculus hirsutus* (Menispermaceae). *IAWA Journal* 24: 411-420.
- ROSELL, J. A., & OLSON, M. E. 2007. Testing implicit assumptions regarding the age vs. size dependence of stem biomechanics using *Pittocaulon* (~ *Senecio*) *praecox* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 94: 161-172.
- ROWE, N., & SPECK, T. 1996. Biomechanical characteristics of the ontogeny and growth habit of the tropical liana *Condylocarpon guianense* (Apocynaceae). *International Journal of Plant Sciences* 157: 406-417.
- ROWE, N., ISNARD, S., & SPECK, T. 2004. Diversity of mechanical architectures in climbing plants: an evolutionary perspective. *Journal of Plant Growth and Regulation* 23: 108-128.
- RUPP, P. 1964. Polyglykol als Einbettungsmedium zum Schneiden botanischer Präparate. *Mikrokosmos* 53: 123-128.
- SATTLER, R. 1988. Homeosis in plants. *American Journal of Botany* 75: 1606-1617.
- SCHENCK, H. 1893. Beiträge zur Biologie und Anatomie der Lianen im Besonderen der in Brasilien einheimischen Arten. II. Theil. Beiträge zur Anatomie der Lianen. In A. F.W. Schimper (ed.), *Botanische Mittheilungen aus den Tropen*. Gustav Fisher, Jena.
- SCHNITZER, S. A., DEWALT, S. J. & CHAVE, J. 2006. Censuring and measuring lianas: a quantitative comparison of the common methods. *Biotropica* 38: 581-591.
- SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons, Vols. I and II. Clarendon Press, Oxford.
- STEVENS, G. C. 1987. Lianas as structural parasites: the *Bursera simaruba* example. *Ecology* 68(1): 77-81.
- VEENENDAAL, W. L. H. VAN, & DEN OUTER, R. W. 1993. Development of included phloem and organization of the phloem network in the stem of *Strychnos millepunctata* (Loganiaceae). *IAWA Journal* 14: 253-265.
- WAGNER, G. P. 1996. Homologues, natural kinds and the evolution of modularity. *American Zoologist* 36: 36-43.
- WEST-EBERHARAL, M. J. 2003. Developmental plasticity and evolution. Oxford University Press, Oxford.

CAPÍTULO 2

A EVOLUÇÃO DE DIFERENÇAS ENTRE O FLOEMA NORMAL
E O VARIANTE EM BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE)

Homologous features (or states of features) in two or more organisms are those that can be traced back to the same feature (or state) in the common ancestor of those organisms.

Ernst Mayr, 1969
Principles of Systematic Zoology

Truth, except as a figure of speech, does not exist in empirical science.

Brower, 2000
Homology and Systematics

CAPÍTULO 2

A EVOLUÇÃO DE DIFERENÇAS ENTRE O FLOEMA NORMAL E O VARIANTE EM BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE)

RESUMO

Dois tipos distintos de floema estão presentes nos caules de Bignoniaceae: um normal e um variante, resultante da presença de uma variação cambial nestes caules. Estudos anteriores mostraram que o floema normal e o variante apresentam diversas diferenças, desde o diâmetro dos elementos de tubo crivado, ao número e tipos de divisões sofridas pelas iniciais e derivadas cambiais. Entretanto, desconhece-se como tais diferenças evoluíram ao longo do tempo. Assim, no presente estudo objetivou-se investigar as diferenças entre o floema normal e o variante em todos os gêneros de Bignoniaceae dentro de um contexto filogenético, de forma a detectar como as características de ambas partes mudaram ao longo do tempo e, mais especificamente, investigar a existência de tendência à manutenção, diminuição ou aumento das diferenças ao longo da evolução da tribo. Coletas de caules foram realizadas sobretudo em populações naturais, amostras foram preparadas para análises anatômicas e as características foram mapeadas na filogenia de Bignoniaceae para observar como as diferenças se alteraram ao longo da evolução. Nossos resultados indicam que existem diferenças entre o floema normal e o variante em todas as espécies analisadas e em todos os tipos celulares do floema. Primeiramente, os elementos de tubo crivado do floema variante demonstraram tender a aumentar ao longo da evolução. A diferença entre as áreas dos elementos de tubo crivado da porção normal e da variante também estão aumentando com o tempo, mostrando que o floema variante está provavelmente assumindo um papel maior na condução dos fotossintatos. A forma e arranjo dos elementos de tubo também são diferentes, com os elementos de tubo do floema normal parecendo-se muito com os elementos de tubo do floema terminal de plantas com formação sazonal de tecidos secundários e, portanto, provavelmente atuando pouco na condução. O parênquima axial, por sua vez, mostrou ser mais abundante no floema normal em relação ao variante. Diferenças no arranjo das fibras indicam que as múltiplas evoluções de espécies com maior concentração de fibras no floema variante teriam ocorrido para prover uma maior proteção mecânica à células mais frágeis do floema. Por fim, os raios também mostraram-se diferentes entre o floema normal e o variante, sendo altos e largos no floema normal, curtos e estreitos no floema variante. Essa diferença foi relacionada à presença de pedomorfose, mantendo os raios com a característica juvenil, e à uma possível especialização, diminuindo de tamanho ao longo do tempo. Nossos resultados indicam, por fim, que o floema variante deve estar se tornando cada vez mais importante na condução de fotossintatos e que as diferenças entre floema normal e variante estão aumentando ao longo do tempo.

Palavras-chave: Anatomia vegetal, Bignoniaceae, evolução, elementos de tubo crivado, fibras, pedomorfose, raios, parênquima.

ABSTRACT

Two distinct types of phloem are present in the stems of Bignoniaceae: a regular and a variant phloem, resulting from the activity of a cambial variant in these stems. Previous studies have shown that both phloems present several differences, from the sieve tube diameter to the number of divisions suffered by the cambial initials and derivatives. However, it is unknown how such differences evolved along time. Therefore, our goal was to investigate the differences between regular and variant phloem in all genera of Bignoniaceae within a phylogenetic framework, in order to detect how the features of both parts changed along evolution and, more specifically, if they tended to be maintained, decreased or increased during the course of evolutions of the tribe. Stem collections were made mostly in natural populations, material was prepared for anatomical analyses and the collected features were mapped onto the phylogeny of Bignoniaceae in order to detect how the differences between both parts would have evolved along time. Our results indicate that there are differences between regular and variant phloem in all species and regarding all cell types present in the phloem. For instance, the sieve tubes tend to get wider along evolution. Furthermore, the difference in sieve tube between regular and variant phloem is also increasing getting bigger, showing that the variant phloem may be specializing in the conduction of photosynthates. The shape and arrangement of sieve tubes is also different, with the sieve tubes of the regular phloem greatly resembling the sieve tubes of terminal phloem of plants with seasonal formations of vascular tissues, indicating that they may conduct very little. Parenchyma is, in addition, much more abundant in the regular than in the variant phloem. Differences in the fiber arrangement indicate that the multiple evolutions for a greater concentration of fibers in the variant phloem may help guaranteeing mechanical protection for the phloem fragile cells. Rays are also different between regular and variant phloem, being long and wide in the regular phloem, while short and narrow in the variant phloem. This different may be due to pedomorphosis, maintaining the rays with a juvenile appearance, and specialization, making the rays shorter along time. Our results indicate that the variant phloem may be getting more important in the conduction of photosynthates along evolutionary time and that regular and variant phloems in Bignoniaceae are getting more distinct in the course of evolution of the tribe.

Keywords: Bignoniaceae, evolution, fibers, pedomorphosis, parenchyma, plant anatomy, rays, sieve tube element.

INTRODUÇÃO

Dois tipos distintos de floema secundário estão presentes nos caules de Bignonieae (Bignoniaceae): um normal* (presente nas intercunhas) e um variante (presente nas cunhas, ver Fig. 1), característica única dentre as plantas em geral, resultante da presença de uma variação cambial nestes caules. Variação cambial é um tipo não usual de crescimento secundário que pode se expressar de várias maneiras, desde a presença de câmbios múltiplos, à presença de taxas diferentes de formação de xilema e floema ao longo do câmbio, até a formação de floema incluso no xilema (Schenck 1893; Carlquist 1988). Uma vez que os diferentes tipos de variação cambial costumam ser típicos de determinados táxons, é comum que muitas famílias de plantas possam ser identificadas exclusivamente a partir de uma análise anatômica caulinar (Schenck 1893; Caballé 1993). Além disso, as variações cambiais parecem ter contribuído para a diversificação de algumas famílias de plantas, como sugerido para Bignoniaceae (Pace *et al.* no prelo).

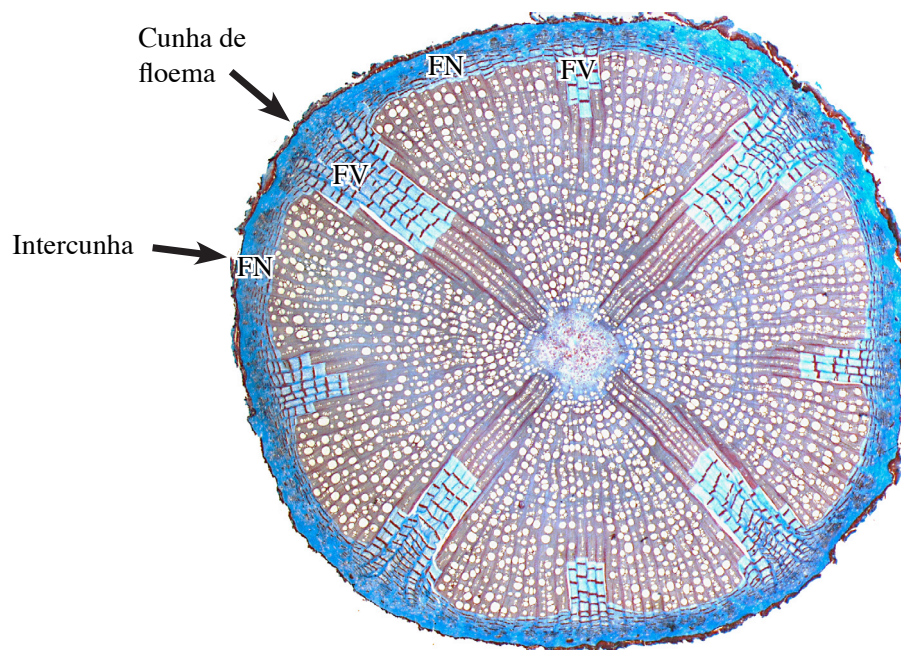


Fig. 1. *Pyrostegia venusta*, secção transversal. Posição do floema normal (FN) nas intercunhas e do floema variante (FV) nas cunhas de floema.

A presença de variação cambial é uma sinapomorfia de Bignonieae (Lohmann 2006), que constitui o grupo mais abundante de lianas nos neotrópicos (Gentry 1991). Além disso, as diferentes formas que a variação cambial de Bignonieae podem adotar emergiram como sinapomorfias de clados bem sustentados dentro da tribo (Lohmann 2006; Pace *et al.* no prelo). A presença de variação cambial

* **Nota:** Aqui o termo floema normal é utilizado em alusão a norma, característica mais comum. Refere-se ao floema derivado do câmbio com atividade padrão, situado na intercunha. O termo que recomendamos para o inglês, entretanto é *regular phloem*.

é muito mais comum em lianas que em qualquer outra forma de vida, fato que é frequentemente atribuído à conferência de maior flexibilidade aos caules escandentes, uma vez que mescla tecidos macios, como parênquima e floema, em meio ao rígido xilema secundário (Fisher & Ewers 1992; Rowe *et al.* 2004, Isnard & Silk 2009). Além disso, as variações cambiais também contribuem no reparo de injúrias (Dobbins & Fisher 1986) e armazenamento de água (Carquist 1988). A evolução de variações cambiais ocorreu múltiplas vezes ao longo da evolução das plantas, desde pteridospermas fósseis, como *Medullosa steinii* (Dunn *et al.* 2003) às “core Eudicots” viventes (Bignoniaceae, Fabaceae, Malpighiaceae, Sapindaceae, entre outras; Schenck 1893; Carlquist 1988), demonstrando que tal forma de crescimento provavelmente confere grande vantagem ao hábito de liana.

Em Bignoniaceae, o câmbio de quatro regiões a múltiplas de quatro regiões altera sua atividade, passando a produzir menos xilema e mais floema, criando então um padrão de cunhas de floema que interrompem o xilema (Dobbins 1971, Pace *et al.* no prelo, Fig. 1). A maior peculiaridade dessa variação cambial, entretanto, advém do fato de que essas quatro regiões cambiais com atividade alterada coexistem com porções cambiais de crescimento padrão (Solender 1908, Dobbins 1971), uma característica única, mesmo dentre as plantas com variação cambial. De fato, para o nosso conhecimento, situação similar é somente encontrada em Bignoniaceae (Dobbins 1971), Celastraceae (Hippocrateaceae em Obaton 1960) e Icacinaceae (Lens *et al.* 2008).

Outra característica única vem do fato de que o floema produzido pelo câmbio variante não é idêntico àquele produzido pelo câmbio normal. De fato, não somente as taxas de produção de xilema e floema divergem em Bignoniaceae, mas pelo menos três outras diferenças são conhecidas: i. tipo de divisões cambiais; o câmbio variante praticamente não se divide anticlinalmente, permanecendo com um tamanho constante (Pace *et al.* no prelo); ii. número de divisões das derivadas floemáticas que se diferenciarão em elementos de tubo crivado; as derivadas se dividem mais vezes na porção normal (Dobbins 1971) e iii. diâmetro dos elementos de tubo crivado, que é superior no floema variante em relação ao floema normal (Dobbins 1971; Pace *et al.* no prelo). Apesar destas diferenças entre o floema normal e o variante terem sido descritas na literatura, permanece obscuro como tais diferenças apareceram, se modificaram ou se mantiveram ao longo da evolução.

O objetivo deste estudo é, portanto, comparar em detalhe o floema normal e o variante de Bignoniaceae afim de elucidar os padrões de divergência entre ambos floemas num contexto filogenético. Tal abordagem nos permitirá detectar quando as diferenças surgiram, como mudaram ao longo da filogenia, se mudaram de maneira correlacionada ou não e, mais especificamente, se apresentam uma tendência em aumentar ou diminuir ao longo do tempo evolutivo.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem e procedimentos anatômicos

Neste estudo foram amostradas 54 espécies dos 21 gêneros atualmente reconhecidos em Bignonieae (Lohmann no prelo, Fig. 2). As espécies foram preferencialmente coletadas em populações naturais ou em coleções vivas, com somente algumas espécies provenientes de xilotecas (Apêndice A). A relação das espécies analisadas e detalhes da coleta encontram-se no Apêndice A. Todos os caules estudados foram padronizados para possuírem um diâmetro de 2 cm, uma vez que estudos recentes demonstraram que o diâmetro caulinar representa um melhor parâmetro para análises comparativas do que a idade absoluta da planta, tanto para aspectos mecânicos quanto estruturais (Rosell & Olson 2007). Além disso, caule de 2 cm de diâmetro representam lianas adultas de um tamanho razoável (Ewers & Fisher 1991), além de serem os diâmetros mais facilmente encontráveis em populações naturais (Schnitzer *et al.* 2006).

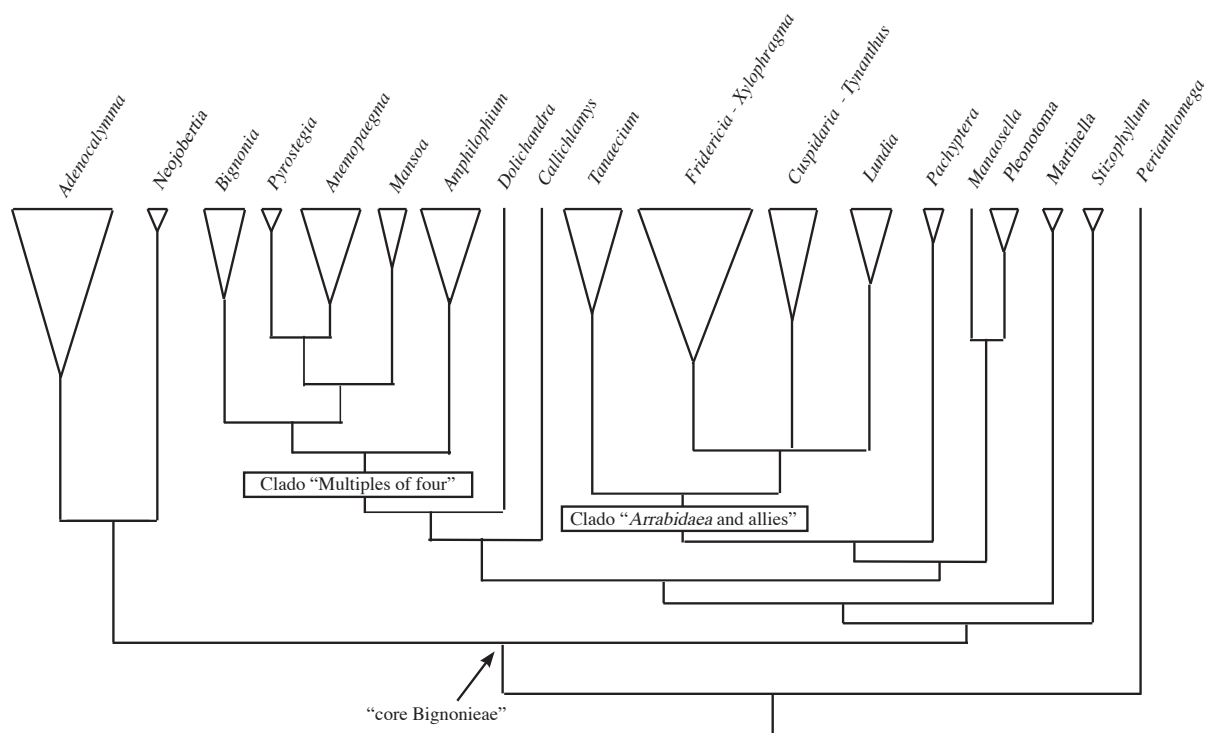


Fig. 2. Sumário das relações filogenéticas entre os 21 gêneros de Bignonieae de acordo com Lohmann (2006)

Como o floema é um tecido extremamente frágil, facilmente colapsando, sua análise exige que o material seja fixado imediatamente e conservado em meio líquido. Assim, ainda no campo os caules foram reduzidos para um comprimento de 5 cm, tiveram sua superfície transversal polida e foram fixados em Karnovsky (Karnovsky 1965) ou Formaldeído-Ácido acético-Álcool etílico 70%

(Berlyn & Miksche 1976), permanecendo nesta solução por 10 dias sob vácuo. Subsequentemente, as amostras foram transferidas para uma solução conservante de etanol 70%.

Para obter secções anatômicas de boa qualidade, os caules foram amolecidos em etilenodiamina 10% por até quatro dias (Carlquist 1982) e posteriormente impregnados com polietilenoglicol 1500 (Rupp 1964 modificado), conforme Pace *et al.* (no prelo). Uma vez incluídos em polietilenoglicol, os caules foram seccionadas em micrótomo de deslize com o auxílio de uma resina de poliestireno expandido dissolvido em acetato de butila (Barbosa *et al.* em prep.). Essa resina foi então aplicada sobre as amostras imediatamente antes do seccionamento, impedindo que os tecidos caulinares se rompessem. Eventualmente, uma fita adesiva foi colocada sobre a resina já seca, como um suporte adicional para evitar o rompimento dos tecidos (Barbosa *et al.* em prep.). As secções foram coradas em azul de astra e safranina (Bukatsch 1972) e montadas em uma resina sintética para a confecções de lâminas permanentes. Além disso, em algumas espécies foram preparados corpos de prova de 3 mm³, incluindo floema, câmbio e xilema, que foram subsequentemente incluídos em Historresina[®] (Leica Mycosystem), para a obtenção de cortes com menos de 10 µm, adequados para análises mais detalhadas. Nestes casos, as secções foram realizadas em micrótomo rotativo e coradas em uma solução de azul de toluidina 0,05% em tampão acético glacial de pH 4,7 (O'Brien *et al.* 1964).

Análises quantitativas

Das 54 espécies estudadas, 46 foram mensuradas em secção transversal. Todas as mensurações foram realizadas utilizando-se o software livre ImageJ versão 1.39d (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Os caracteres quantitativos analisados para os elementos de tubo foram: frequência (número total de células por área transversal), área total ocupada (quanto da área total corresponde a elementos de tubo), área individual (valor médio da área de um elemento de tubo) e diâmetro individual. Para o parênquima os caracteres analisados foram: frequência e área total ocupada. Frequências foram calculadas a partir de grades de 50 mm² em porções aleatórias do floema variante, com ao menos quatro repetições para cada espécime. Um processo similar foi executado para o floema normal, porém com grades de 10 mm², uma vez que o floema variante está representado por uma porção menor de tecidos. Entretanto, os dados para o floema normal foram posteriormente multiplicados por cinco para a obtenção de números comparáveis entre as porções normal e variante. Os valores de área total ocupada foram calculados utilizando-se a mesma abordagem.

O cálculo da área celular individual, entretanto, utilizou outra abordagem. Ao menos 30 células foram selecionadas aleatoriamente e foi calculado um valor médio para representar a espécie. A escolha de calcular as áreas celulares e não os diâmetros foi motivada devido a que os elementos de tubo crivado e outras células do floema não são perfeitamente circulares. Por outro lado, uma

vez que na literatura são comuns dados de diâmetro, freqüentemente apresentamos ao lado das áreas um valor aproximado de diâmetro obtido por meio da raiz quadrada dos valores das áreas. Um teste t pareado com $\alpha = 0,05$ foi empregado para testar se a diferença entre as médias era estatisticamente significativa.

Todos os dados numéricos obtidos para o floema normal e o variante estão reunidos na Tabela I. Quando algum valor não pode ser obtido, um ponto de interrogação foi utilizado para indicar um dado não amostrado. Gráficos e testes estatísticos foram realizados no Excel (Microsoft word) e no R (<http://www.R-project.org>).

Delimitação de caracteres, análise de contrastes independentes e reconstrução dos caracteres ancestrais

Todos os caracteres delimitados neste estudo representam caracteres que possuem algum grau de variação, discreto ou contínuo, entre o floema normal e o variante. Caracteres discretos foram reconstruídos pela máxima parcimônia no software MacClade 4.06 (Maddison & Maddison 2003) e pela máxima verossimilhança no software Mesquite 2.06 (Maddison & Maddison 2009). Caracteres contínuos, por sua vez, foram reconstruídos na máxima parcimônia no software Mesquite 2.06 (Maddison & Maddison 2009). Além disso, uma análise de contrastes independentes da filogenia foi realizada utilizando o programa de Análise de Diversidade Fenotípica (PDAP, *Phenotypic Diversity Analysis Program*) implementado no Mesquite 2.06 (Mildford et al. 2003). A análise de contrastes independentes calcula o valor do nó em relação à sua posição na filogenia e estima se há alguma tendência de diminuição ou aumento dos dados contínuos independente da história filogenética dos terminais da análise.

Uma filogenia robusta contendo 104 espécies de Bignonieae foi utilizada como base para todas as análises (Lohmann 2006). Entretanto, uma vez que esta filogenia não continha todas as 383 espécies de Bignonieae, colapsamos os ramos referentes a espécies no nó mais inclusivo que representasse um gênero, de acordo com a classificação mais recente para o grupo (Lohmann no prelo). Assim, obtivemos uma filogenia com todas as espécies da tribo, sendo que em seguida excluimos os ramos terminais não amostrados para obter uma árvore de mais fácil visualização dos dados. Contudo, todos os caracteres foram reconstruídos na árvore com todas as espécies e naquela com somente os caracteres amostrados. Uma vez que as reconstruções inferiam os mesmos resultados para os nós, decidiu-se apresentar somente a árvore com as espécies amostradas.

Tabela 1. Dados numéricos para os elementos de tubo crivado e as células parenquimáticas do floema normal e variante.

| Táxons | Hábito | Elementos de tubo crivado | | | | | | | | | | Parênquima | |
|------------------------------------|---------|---------------------------|----------|------------------------|----------|------------------------------------|------------|--------------------------|----------|------------|----------|------------------------|----------|
| | | Frequência | | Área total ocupada (%) | | Área individual (µm ²) | | Diâmetro individual (µm) | | Frequência | | Área total ocupada (%) | |
| | | Normal | Variante | Normal | Variante | Normal | Variante | Normal | Variante | Normal | Variante | Normal | Variante |
| <i>Adenocalymma bracteatum</i> | Liana | ? | ? | ? | ? | 61 ± 22 | 339 ± 94 | 4 ± 1 | 18 ± 2 | ? | ? | ? | ? |
| <i>Adenocalymma comosum</i> | Liana | 48 ± 18 | 34 ± 5 | 4,1 | 45,6 | 84 ± 35 | 527 ± 160 | 9 ± 2 | 23 ± 6 | 198 ± 52 | 64 ± 15 | 56,3 | 29,7 |
| <i>Adenocalymma divaricatum</i> | Liana | 46 ± 19 | 24 ± 5 | 1,5 | 26,9 | 31 ± 8 | 559 ± 111 | 6 ± 1 | 23 ± 5 | 274 ± 15 | 57 ± 7 | 40,8 | 10,6 |
| <i>Adenocalymma flaviflorum</i> | Liana | 31 ± 9 | 36 ± 4 | 2,8 | 37,5 | 63 ± 20 | 432 ± 169 | 8 ± 1 | 21 ± 4 | 210 ± 35 | 73 ± 8 | 42,5 | 32,2 |
| <i>Adenocalymma neoflavium</i> | Liana | 57 ± 17 | 38 ± 3 | 5,9 | 31,5 | 62 ± 18 | 401 ± 69 | 8 ± 1 | 20 ± 2 | 245 ± 60 | 80 ± 10 | 52,7 | 20,9 |
| <i>Adenocalymma nodosum</i> | Arbusto | 95 ± 45 | 57 ± 10 | 6,6 | 23,4 | 48 ± 17 | 129 ± 60 | 7 ± 1 | 11 ± 17 | 215 ± 37 | 98 ± 19 | 44,8 | 42,1 |
| <i>Adenocalymma peregrinum</i> | Arbusto | 35 ± 18 | 61 ± 4 | 3,1 | 24,9 | 42 ± 13 | 163 ± 54 | 6 ± 1 | 13 ± 2 | 190 ± 17 | 120 ± 12 | 47,6 | 32,3 |
| <i>Adenocalymma salmoneum</i> | Liana | 46 ± 14 | 39 ± 7 | 3,0 | 33,0 | 31 ± 10 | 438 ± 140 | 6 ± 1 | 21 ± 4 | 168 ± 14 | 64 ± 2 | 41,9 | 21,2 |
| <i>Amphilophium crucigerum</i> | Liana | 86 ± 12 | 32 ± 7 | 16,5 | 20,6 | 85 ± 51 | 289 ± 250 | 9 ± 2 | 17 ± 6 | 150 ± 16 | 120 ± 9 | 78,7 | 66,3 |
| <i>Amphilophium elongatum</i> | Liana | 63 ± 22 | 61 ± 15 | 14,9 | 71,9 | 122 ± 59 | 712 ± 261 | 9 ± 2 | 27 ± 5 | 136 ± 26 | 68 ± 10 | 73,9 | 17,2 |
| <i>Amphilophium magnoliifolium</i> | Liana | ? | ? | ? | ? | 228 ± 117 | 417 ± 138 | 10 ± 4 | 20 ± 3 | ? | ? | ? | ? |
| <i>Amphilophium paniculatum</i> | Liana | 58 ± 18 | 29 ± 8 | 46,5 | 70,4 | 539 ± 233 | 1375 ± 272 | 23 ± 5 | 37 ± 4 | 156 ± 25 | 78 ± 4 | 48,5 | 25,2 |
| <i>Anemopaegma chamberlaynii</i> | Liana | 49 ± 13 | 34 ± 3 | 9,4 | 29,4 | 126 ± 57 | 397 ± 122 | 11 ± 2 | 20 ± 3 | 170 ± 19 | 102 ± 6 | 47,8 | 29,9 |
| <i>Bignonia binata</i> | Liana | 61 ± 25 | 60 ± 5 | 6,3 | 42,1 | 20 ± 14 | 314 ± 145 | 4 ± 1 | 18 ± 4 | 195 ± 39 | 122 ± 15 | 49,6 | 26,5 |
| <i>Bignonia campanulata</i> | Liana | 53 ± 37 | 59 ± 1 | 3,1 | 46,5 | 37 ± 15 | 329 ± 118 | 6 ± 2 | 18 ± 3 | 218 ± 116 | 81 ± 14 | 65,8 | 22,5 |
| <i>Bignonia magnifica</i> | Liana | 61 ± 25 | 59 ± 17 | 9,7 | 33,5 | 75 ± 34 | 180 ± 69 | 9 ± 2 | 13 ± 2 | 161 ± 30 | 88 ± 13 | 66,3 | 43,0 |
| <i>Callichlamys latifolia</i> | Liana | 35 ± 15 | 34 ± 3 | 8,0 | 44,1 | 132 ± 130 | 548 ± 189 | 11 ± 4 | 23 ± 4 | 115 ± 29 | 63 ± 6 | 57,1 | 28,0 |
| <i>Cuspidaria convoluta</i> | Liana | 19 ± 14 | 21 ± 4 | 1,2 | 37,2 | 31 ± 13 | 835 ± 262 | 6 ± 1 | 29 ± 5 | 211 ± 25 | 76 ± 7 | 64,7 | 18,0 |
| <i>Cuspidaria pulchra</i> | Arbusto | 25 ± 16 | 27 ± 9 | 2,1 | 8,3 | 45 ± 29 | 93 ± 57 | 7 ± 2 | 10 ± 2 | 165 ± 31 | 91 ± 6 | 91,4 | 16,7 |
| <i>Dolichandra unguiculata</i> | Liana | 48 ± 22 | 41 ± 11 | 12,4 | 54,7 | 150 ± 50 | 575 ± 146 | 12 ± 2 | 24 ± 3 | 101 ± 10 | 77 ± 7 | 54,2 | 29,3 |
| <i>Dolichandra unguis-cati</i> | Liana | 73 ± 19 | 49 ± 10 | 13,2 | 36,5 | 69 ± 38 | 179 ± 118 | 8 ± 2 | 13 ± 4 | 263 ± 18 | 109 ± 21 | 56,2 | 40,1 |
| <i>Fridericia chica</i> | Liana | 43 ± 5 | 31 ± 2 | 6,7 | 25,0 | 82 ± 95 | 344 ± 266 | 9 ± 4 | 19 ± 7 | 268 ± 49 | 74 ± 11 | 63,2 | 25,9 |
| <i>Fridericia conjugata</i> | Liana | 30 ± 24 | 24 ± 10 | 6,6 | 37,4 | 123 ± 68 | 896 ± 236 | 11 ± 3 | 30 ± 4 | 223 ± 23 | 78 ± 7 | 56,2 | 35,3 |
| <i>Fridericia platyphylla</i> | Arbusto | 19 ± 6 | 36 ± 5 | 1,6 | 25,7 | 39 ± 23 | 318 ± 176 | 5 ± 2 | 18 ± 5 | 119 ± 19 | 56 ± 9 | 51,8 | 16,8 |
| <i>Fridericia samyoides</i> | Liana | 39 ± 7 | 20 ± 3 | 3,6 | 31,3 | 50 ± 37 | 1043 ± 320 | 7 ± 2 | 32 ± 4 | 150 ± 18 | 66 ± 8 | 61,5 | 23,4 |
| <i>Fridericia speciosa</i> | Liana | 38 ± 7 | 35 ± 7 | 3,9 | 39,5 | 55 ± 19 | 655 ± 136 | 7 ± 2 | 26 ± 3 | 160 ± 37 | 70 ± 6 | 59,1 | 19,0 |
| <i>Lundia cordata</i> | Liana | 46 ± 16 | 17 ± 5 | 1,6 | 23,8 | 19 ± 11 | 603 ± 197 | 4 ± 1 | 25 ± 4 | 214 ± 56 | 46 ± 17 | 67,5 | 11,6 |
| <i>Lundia corymbifera</i> | Liana | 88 ± 38 | 30 ± 5 | 1,6 | 16,6 | 15 ± 6 | 257 ± 242 | 4 ± 1 | 16 ± 7 | 135 ± 78 | 67 ± 18 | 47,0 | 31,4 |
| <i>Lundia damazii</i> | Liana | 60 ± 13 | 28 ± 3 | 4,1 | 30,0 | 41 ± 32 | 502 ± 239 | 6 ± 2 | 22 ± 5 | 280 ± 45 | 81 ± 21 | 82,5 | 18,9 |
| <i>Lundia glazioviana</i> | Liana | 36 ± 16 | 18 ± 2 | 1,0 | 17,6 | 18 ± 13 | 375 ± 223 | 4 ± 1 | 19 ± 6 | 170 ± 18 | 66 ± 8 | 63,3 | 25,1 |
| <i>Manosella cordifolia</i> | Liana | 46 ± 15 | 33 ± 3 | 10,7 | 45,0 | 112 ± 40 | 476 ± 178 | 11 ± 2 | 22 ± 4 | 156 ± 27 | 92 ± 10 | 66,1 | 30,6 |
| <i>Manosella difficilis</i> | Liana | 74 ± 21 | 24 ± 5 | 7,6 | 32,9 | 42 ± 16 | 604 ± 163 | 6 ± 1 | 25 ± 4 | 219 ± 16 | 101 ± 19 | 56,5 | 37,4 |
| <i>Manosella onohualcooides</i> | Liana | ? | ? | ? | ? | 45 ± 20 | 477 ± 105 | 7 ± 1 | 22 ± 2 | ? | ? | ? | ? |
| <i>Manosella standleyi</i> | Liana | 83 ± 19 | 48 ± 6 | 6,6 | 30,8 | 39 ± 16 | 258 ± 97 | 6 ± 1 | 16 ± 3 | 290 ± 46 | 142 ± 23 | 74,3 | 36,1 |
| <i>Martinella obovata</i> | Liana | ? | ? | ? | ? | 65 ± 12 | 451 ± 62 | 8 ± 1 | 21 ± 2 | ? | ? | 45,6 | 30,5 |
| <i>Neojoberia mirabilis</i> | Liana | 44 ± 18 | 17 ± 8 | 5,9 | 28,8 | 79 ± 53 | 894 ± 278 | 9 ± 3 | 30 ± 3 | 146 ± 38 | 55 ± 6 | 52,6 | 18,8 |
| <i>Pachytera kerere</i> | Liana | ? | ? | ? | ? | 28 ± 10 | 185 ± 45 | 5 ± 1 | 17 ± 2 | ? | ? | 38,6 | 37,4 |
| <i>Perianthomega vellozoi 1</i> | Liana | 33 ± 10 | 36 ± 5 | 19,1 | 48,3 | 452 ± 182 | 700 ± 218 | 16 ± 5 | 26 ± 3 | 101 ± 12 | 71 ± 10 | 55,2 | 33,3 |
| <i>Perianthomega vellozoi 2</i> | Liana | 35 ± 4 | 42 ± 3 | 2,2 | 29,0 | 41 ± 30 | 320 ± 230 | 6 ± 2 | 18 ± 5 | 119 ± 28 | 68 ± 9 | 66,6 | 37,4 |
| <i>Pleonotoma stichadenia</i> | Liana | 40 ± 12 | 25 ± 4 | 1,7 | 18,3 | 24 ± 17 | 240 ± 196 | 5 ± 1 | 15 ± 5 | 215 ± 21 | 67 ± 12 | 79,2 | 22,2 |
| <i>Pleonotoma tetraquetra</i> | Liana | 25 ± 14 | 15 ± 6 | 4,0 | 27,3 | 81 ± 19 | 621 ± 182 | 9 ± 1 | 25 ± 4 | 125 ± 14 | 61 ± 23 | 67,8 | 32,5 |
| <i>Pyrrostegia venusta</i> | Liana | 74 ± 16 | 34 ± 4 | 9,5 | 40,4 | 81 ± 17 | 547 ± 238 | 9 ± 1 | 23 ± 3 | 258 ± 64 | 73 ± 9 | 65,8 | 37,6 |
| <i>Stizophyllum riparium 1</i> | Liana | 101 ± 25 | 60 ± 12 | 8,0 | 39,6 | 56 ± 15 | 352 ± 195 | 7 ± 1 | 19 ± 4 | 243 ± 23 | 64 ± 9 | 71,9 | 11,9 |
| <i>Stizophyllum riparium 2</i> | Liana | 98 ± 15 | 40 ± 10 | 5,7 | 28,5 | 38 ± 9 | 400 ± 50 | 6 ± 1 | 20 ± 3 | 195 ± 32 | 54 ± 12 | 65,8 | 11,9 |
| <i>Stizophyllum riparium 3</i> | Liana | 111 ± 50 | 29 ± 2 | 5,0 | 35,6 | 24 ± 18 | 620 ± 221 | 5 ± 2 | 25 ± 3 | 209 ± 32 | 30 ± 6 | 77,3 | 9,6 |
| <i>Tanaecium bilabiatum</i> | Liana | 36 ± 13 | 32 ± 4 | 1,9 | 17,8 | 23 ± 8 | 439 ± 154 | 5 ± 1 | 21 ± 4 | 184 ± 50 | 79 ± 12 | 61,0 | 21,0 |
| <i>Tanaecium pyramidalatum 1</i> | Liana | 55 ± 9 | 21 ± 2 | 5,3 | 31,1 | 49 ± 28 | 708 ± 399 | 7 ± 5 | 27 ± 9 | 141 ± 39 | 60 ± 9 | 68,6 | 28,4 |
| <i>Tanaecium pyramidalatum 2</i> | Liana | 46 ± 9 | 25 ± 5 | 5,0 | 13,1 | 32 ± 30 | 334 ± 242 | 6 ± 3 | 18 ± 8 | 136 ± 45 | 79 ± 18 | 55,2 | 31,6 |
| <i>Tynanthus cognatus</i> | Liana | 65 ± 19 | 16 ± 2 | 2,7 | 35,6 | 24 ± 7 | 984 ± 500 | 5 ± 1 | 31 ± 9 | 150 ± 23 | 67 ± 12 | 40,9 | 22,6 |
| <i>Tynanthus elegans</i> | Liana | 69 ± 17 | 24 ± 3 | 2,3 | 38,5 | 20 ± 7 | 928 ± 330 | 4 ± 1 | 30 ± 6 | 171 ± 22 | 86 ± 11 | 39,2 | 20,6 |
| <i>Xylophragma myrianthum</i> | Liana | 53 ± 31 | 12 ± 3 | 2,2 | 28,8 | 24 ± 11 | 1176 ± 580 | 5 ± 1 | 34 ± 9 | 220 ± 38 | 86 ± 12 | 57,2 | 16,4 |

? = dado não coletado

RESULTADOS

Posição do floema normal e do floema variante no caule

As quatro cunhas de floema presentes nos caules de Bignonieae são sempre formadas entre as ortósticas foliares (Fig. 3A-B). Uma vez que a filotaxia é oposta cruzada, as quatro cunhas de floema rotacionam no caule de maneira espiralada, característica muitas vezes visível na parte exterior do caule (Fig. 3C).

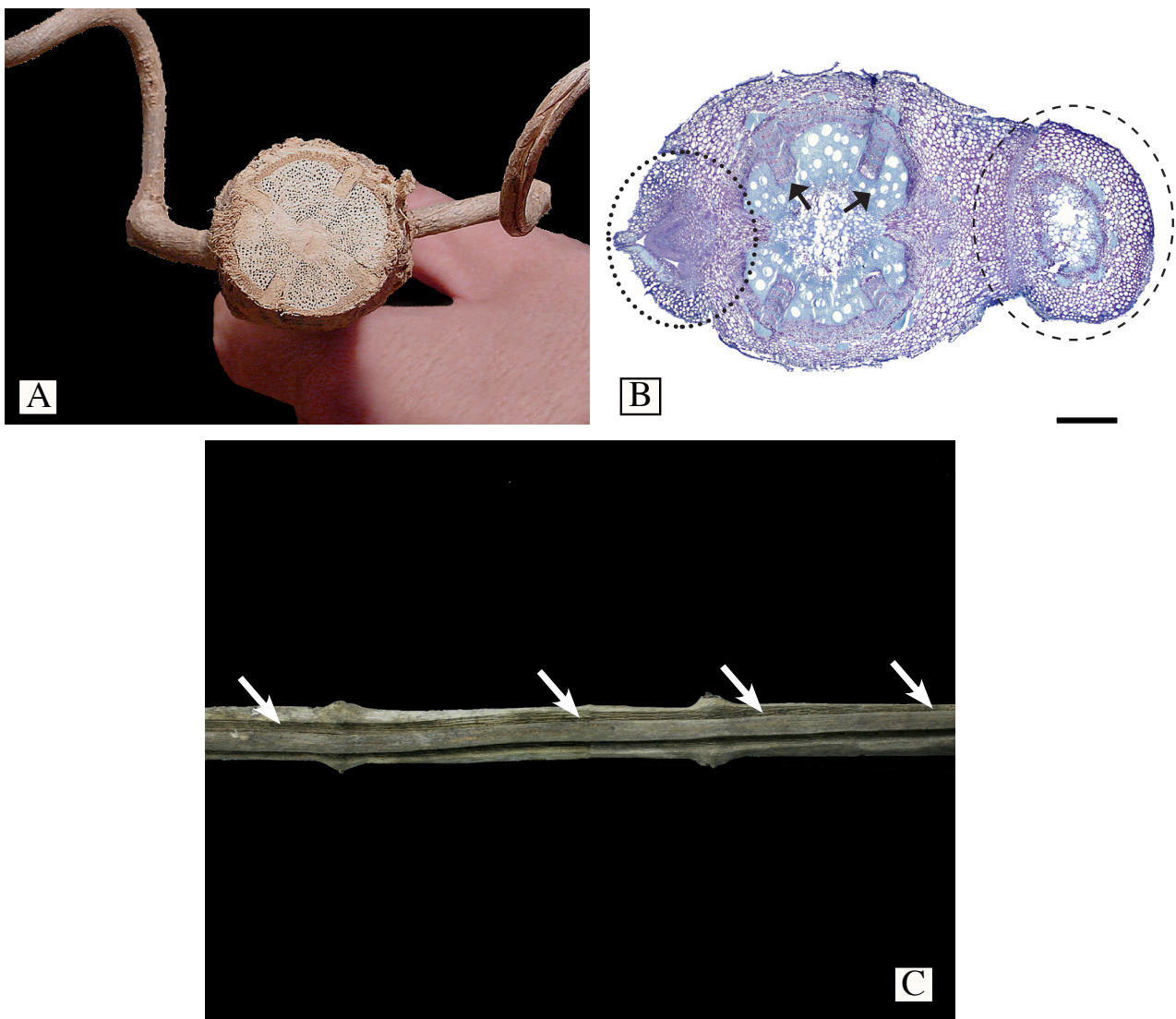


Fig. 3. Posição das cunhas de floema (floema variante) entre as folhas e ramos. A. Bignonieae não identificada secção transversal (ST) caule adulto com quatro cunhas de floema em alternância com as folhas opostas cruzadas. B. *Dolichandra unguis-cati* ST, caule jovem no início do crescimento secundário, com quatro cunhas de floema alternando com as folhas. Linhas pontuadas: uma gema axilar com primórdios foliares, linhas tracejadas: um pecíolo partindo do caule. C. Bignonieae não identificada, caule com xilema preservado, mas com o floema variante decomposto, evidenciando o padrão espiralado percorrido pelas cunhas de floema no caule. Escala: 500 μm .

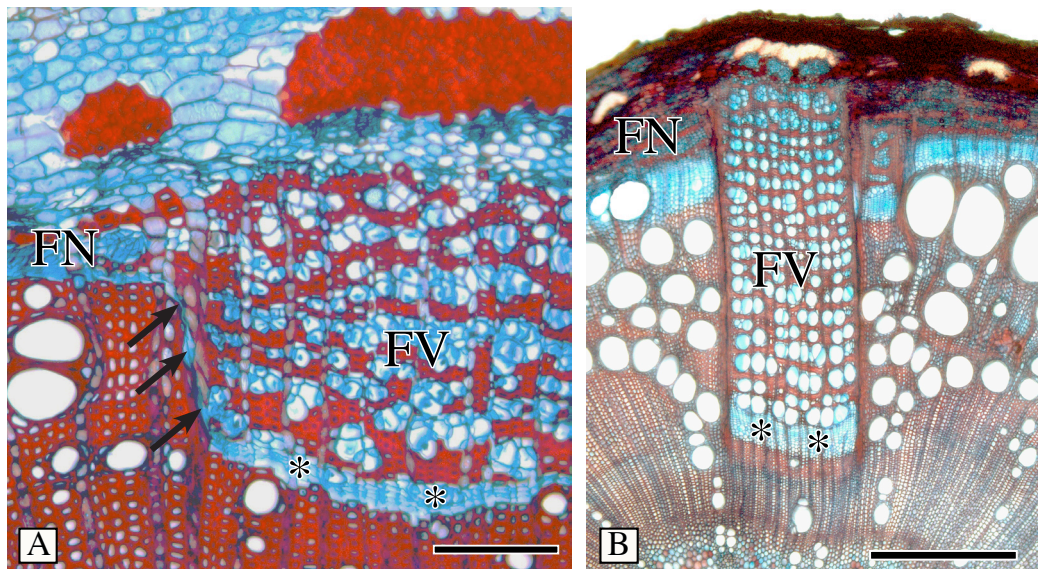


Fig. 4. Dissecção e inclusão do câmbio. A. *Adenocalymma divaricatum* secção transversal (ST), o câmbio contínuo em vias de se romper no nível das iniciais radiais (setas). B. *Tynanthus cognatus* ST, câmbio variante (asteriscos) incluído dentro da cunha de floema. Escalas: A = 100 μ m, B = 500 μ m, FN = Floema normal, FV = Floema variante. Asteriscos = câmbio variante.

As porções normais do câmbio prosseguem produzindo mais xilema para o interior que floema para o exterior, ao passo que o oposto ocorre nas porções variantes, onde a produção de floema é superior à de xilema. Como resultado, dois movimentos opostos se estabelecem levando à dissecção do câmbio (Fig. 4A) e sua inclusão no interior das cunhas de floema (Fig. 4B). Contudo, mesmo possuindo taxas diferentes de produção de xilema e floema, tanto o câmbio normal quanto o variante formam xilema e floema ao longo de toda sua existência, como pode ser evidenciado ao se comparar diferentes estágios de desenvolvimento de um mesmo ramo (Fig. 5).



Fig. 5. Diferentes estágios de desenvolvimento de um mesmo ramo de *Tynanthus cognatus* em secção transversal mostrando a quantidade de xilema (traço com bordas) e floema (traço simples) produzidos. F = Floema, X = Xilema. Escala: 1 cm.

Diferenças entre o floema normal e o variante

Os quatro tipos celulares presentes no floema secundário: elementos de tubo crivado, parênquima, fibras e raios apresentam diferenças entre o floema normal e o variante. Cada tipo celular será tratado individualmente a seguir.

Elementos de tubo crivado

Área dos elementos de tubo crivado. Em todas as espécies analisadas os elementos de tubo apresentaram diferenças significativas entre as áreas dos elementos de tubo do floema normal em relação ao variante (Tabela I, Fig. 6-7), com os elementos de tubo do floema normal apresentando áreas muito inferiores àsquelas do floema variante (Tabela I). De fato, a média da área dos elementos de tubo do floema normal é de $49 \mu\text{m}^2$ (7 μm de diâmetro), enquanto na porção variante é de $439 \mu\text{m}^2$ (21 μm de diâmetro). Quanto à variação encontrada, os elementos de tubo crivado do floema normal variam entre 15 a $539 \mu\text{m}^2$ (4 a 23 μm de diâmetro), ao passo que variam de 93 a $1375 \mu\text{m}^2$ (10 a 37 μm de diâmetro) na porção variante (Tabela I).

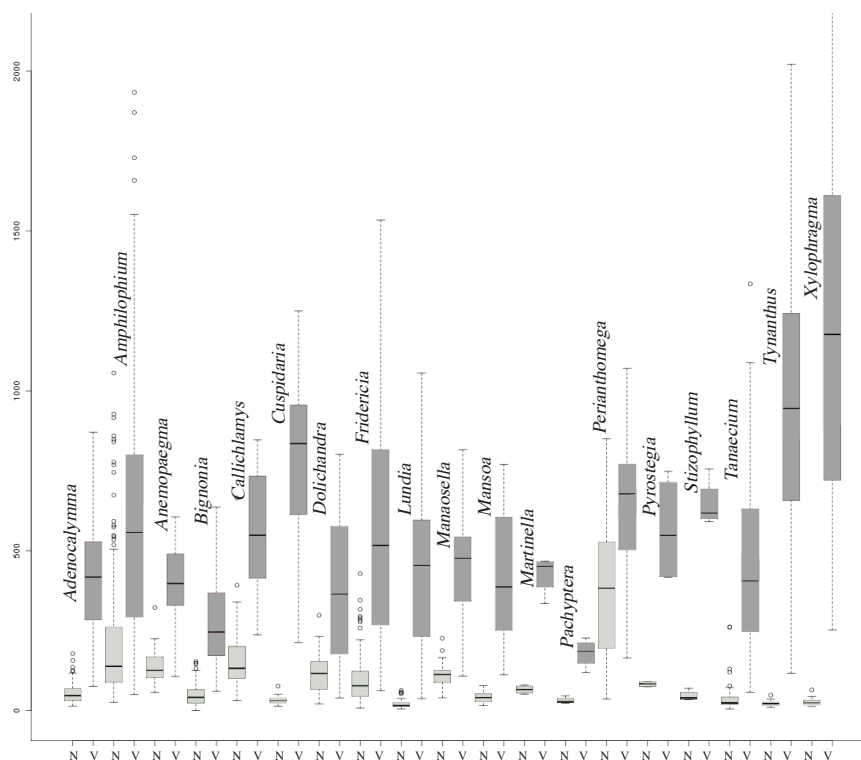


Fig. 6. Comparação das áreas dos elementos de tubo crivado da porção normal e da variante em todos os gêneros de Bignonieae.

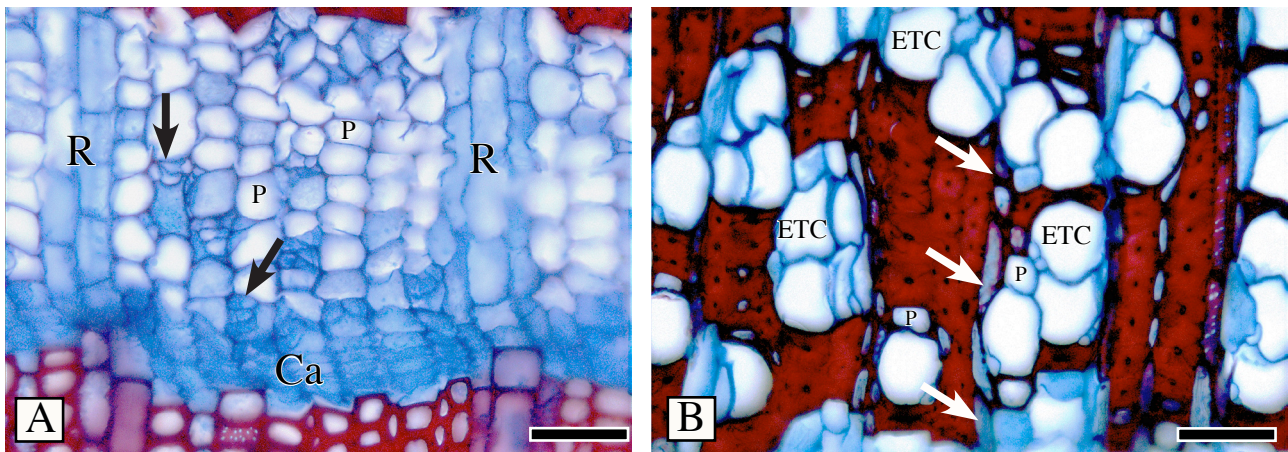


Fig. 7. Floema normal e variante em *Stizophyllum riparium* em secção transversal. A. Floema normal, com elementos de tubo crivado pequenos (\rightarrow), achatados radialmente, arranjados em agrupamentos ou em múltiplos radiais de duas a três células. Note a relativa abundância de parênquima axial e a presença de raios multisseriados. B. Floema variante, com elementos de tubo crivado arredondados e em múltiplos de três a quatro células, parênquima escasso e raios predominantemente unisseriados (\rightarrow). Ca = Câmbio, ETC = Elemento de tubo crivado, P = Parênquima, R = Raios. Escala 50 μm .

A diferença entre as áreas da porção variante e normal está presente tanto em espécies lianescentes quanto arbustivas. Entretanto, na porção variante dos arbustos encontram-se alguns dos elementos de tubo de menor área em Bignonieae, variando entre 93 a 318 μm^2 (10 a 18 μm de diâmetro). Em relação aos elementos de tubo crivado da intercunha, a mesma variação não é vista e os dados da porção normal e variante são semelhantes (Tabela 1).

Quando as áreas são consideradas separadamente tanto para o floema normal quanto para o variante, um grau de variação grande é encontrado entre as espécies dentro dessas porções. Esta variação, por sua vez, é contínua, sem qualquer evidência de lacunas em sua distribuição (Fig. 8).

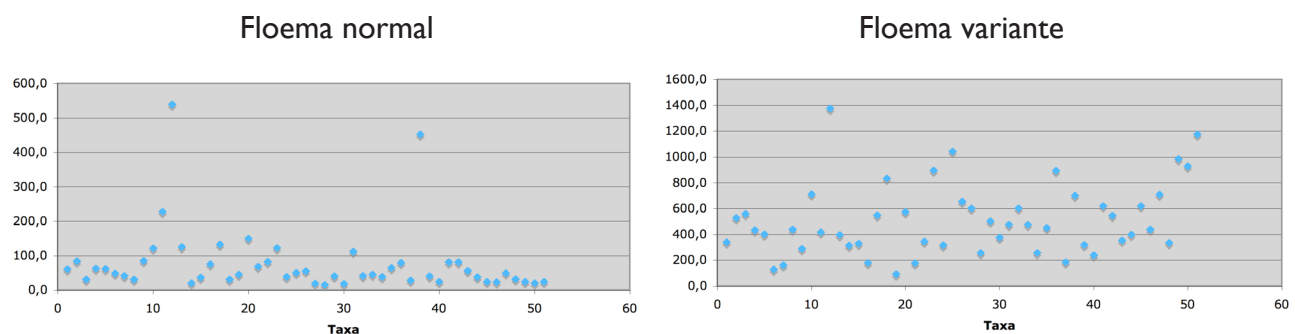


Fig. 8. Distribuição dos valores de áreas dos elementos de tubo crivado para as 46 espécies amostradas quantitativamente neste estudo.

Reconstruções de caracteres ancestrais foram realizadas para ambos tipos de floema. A reconstrução feita para as áreas dos elementos de tubo da porção normal revelou que a maioria das espécies de Bignonieae tende a possuir elementos de tubo que variam entre 40-90 μm^2 , um intervalo próximo ao valor encontrado como ancestral dentro da tribo (50 μm^2) (Fig. 9). Ainda assim, dois clados dentro de Bignonieae demonstraram estar evoluindo de maneira antagônica, com dois

cenários opostos: o gênero *Amphilophium* e espécies relacionadas dentro do clado “Multiples of four” possuem os maiores elementos de tubo do floema normal (200 μm^2), um valor significativamente superior àquele inferido como ancestral na tribo (Fig. 9A). Por outro lado, no clado “*Arrabidaea* and allies” observa-se um cenário oposto, com os elementos de tubo crivado diminuindo em direção aos ancestrais mais recentes da filogenia, com algumas espécies com elementos de tubos de 33 μm^2 . Quando os valores para as áreas dos elementos de tubo são submetidos a uma análise de contrastes independentes, nenhuma tendência para a tribo como um todo é encontrada, com $P > 0,05$, provavelmente devido à coexistência de dois cenários distintos em seu interior.

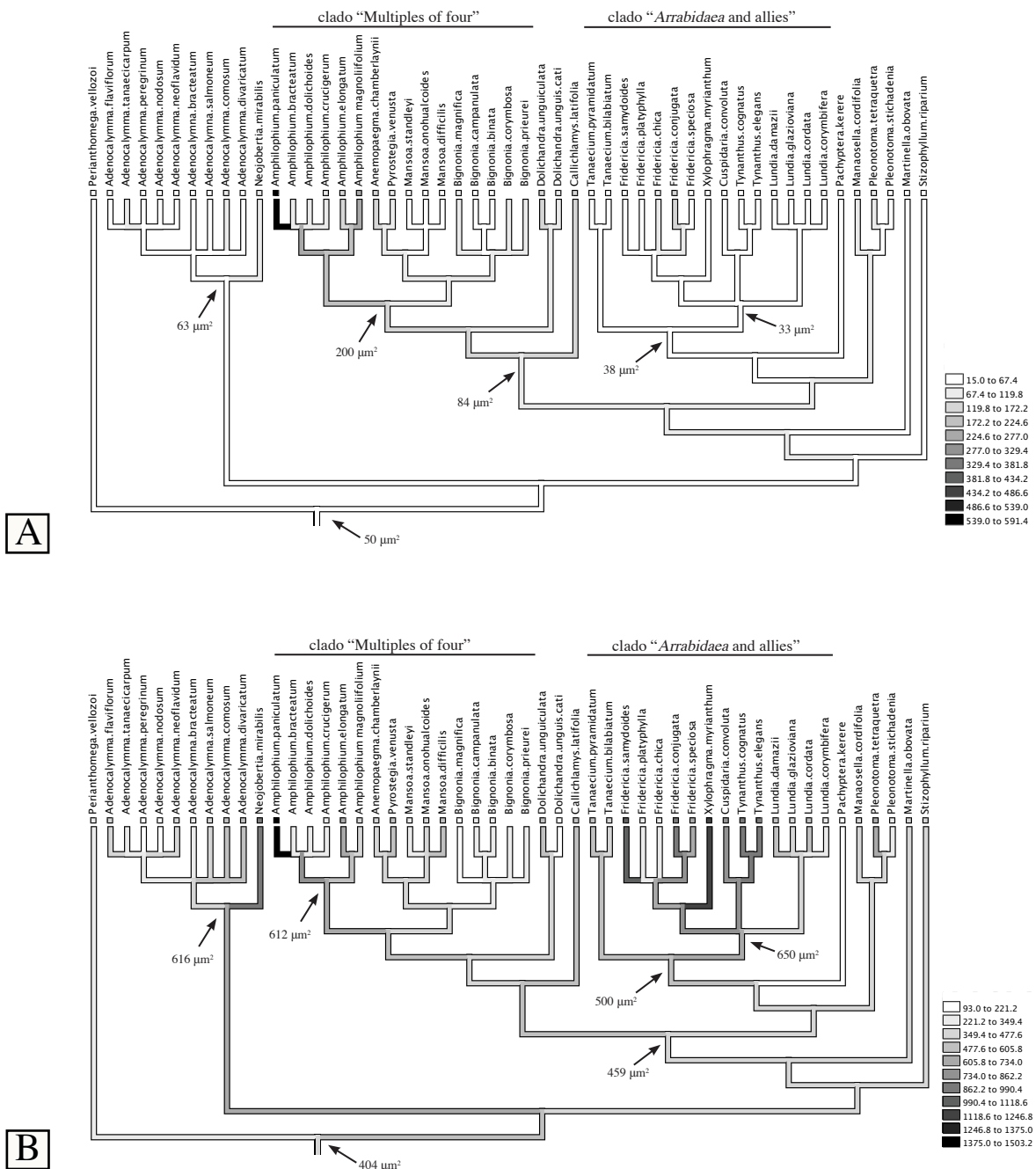


Fig. 9. Reconstrução das áreas dos elementos de tubo crivado (dato contínuo, parcimônia). A. Floema normal B. Floema variante

Entretanto, a reconstrução de caracteres ancestrais para os diâmetros dos elementos de tubo do floema variante revelam um cenário bastante distinto. Neste, há um aumento gradual da área dos elementos inferidas para os ancestrais (nós) mais antigos em direção aos ancestrais (nós) mais recentes, fenômeno observado em toda a tribo (Fig. 9B). Os maiores valores de área ancestral encontrados para os elementos de tubo crivado estão no clado “*Arrabidaea* and allies”, com outros valores altos distribuídos ao longo de todos os nós apicais. Essa observação foi, por sua vez, corroborada pela análise de contrastes filogenéticos ($P < 0,05$), revelando que de fato os nós apicais tendem a possuir valores de área mais altos, independentemente da história filogenética das espécies. O valor de área ancestral para as Bignoniaceae como um todo foi de $404 \mu\text{m}^2$.

Adicionalmente, afim de detectar se as diferenças entre os valores de área dos elementos de tubo crivado do floema normal e variante aumentavam ao longo da evolução, nós reconstruímos a diferença entre os valores na filogenia (Fig. 10). Essa análise indicou que as diferenças entre as áreas tendem a um aumento gradual em direção aos nós mais apicais, observação esta corroborada pela análise de contrastes filogenéticos ($P < 0,05$).

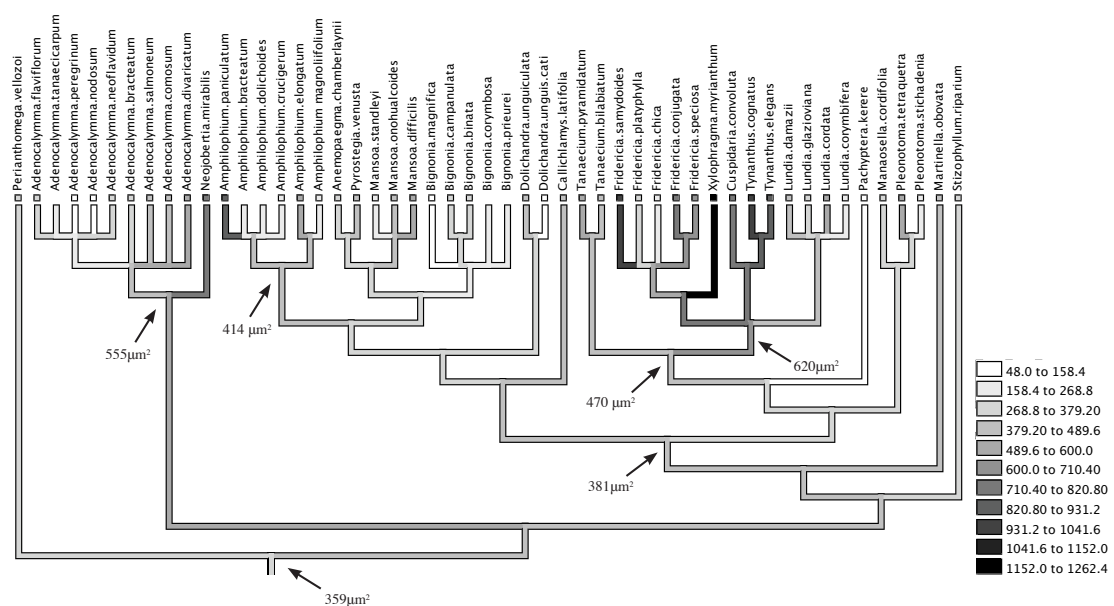


Fig. 10. Reconstrução das diferenças entre os valores de área dos elementos de tubo crivado do floema normal e do floema variante (dado contínuo, parcimônia).

Forma e arranjo dos elementos de tubo crivado. Além de diferirem em suas áreas, os elementos de tubo do floema normal e variante também diferem em relação à sua forma e arranjo, como visto em secção transversal (Fig. 7). Nas porções de floema normal os elementos de tubo crivado são em geral achatados radialmente, com formato retangular (Fig. 7A). Além disso, são geralmente encontrados em agrupamentos ou em múltiplos radiais de 2-3 células (Fig. 7A), mais raramente podendo estar solitários.

Além disso, em algumas espécies estão presentes elementos de tubo de diâmetro muito diminuto, associados às suas células companheiras e a pequenas células parenquimáticas, todos compondo um *assemblage* (Fig. 11). *Assemblages* geralmente possuem as mesmas dimensões de uma única célula do parênquima axial encontrada ao lado (Fig. 11), indicando uma origem a partir de uma única derivada fusiforme floemática que sofreu várias divisões.

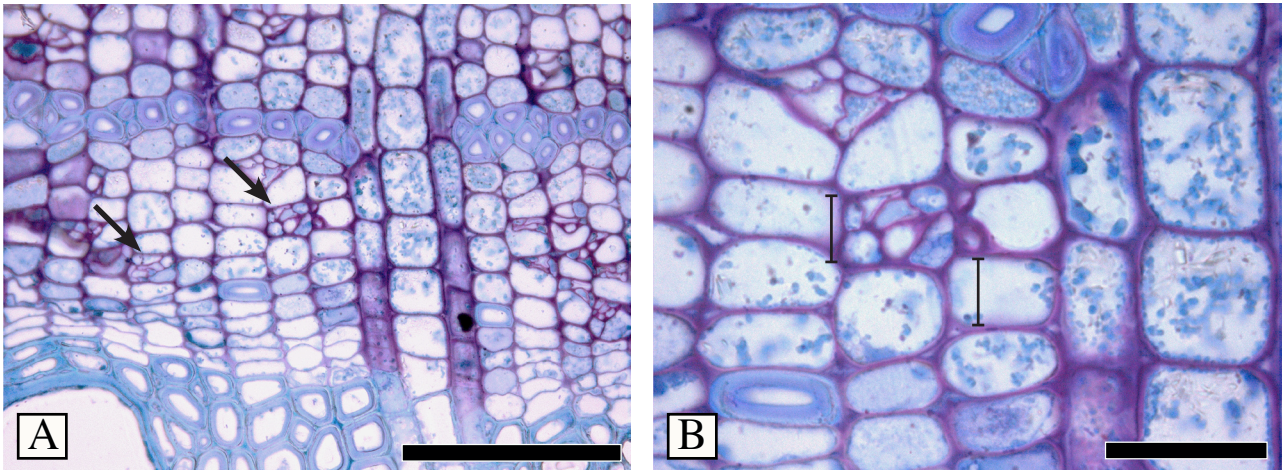


Fig. 11. *Tynanthus cognatus*. A. Floema normal com uma reunião de diminutos elementos de tubo crivado, suas células companheiras e pequenas células parenquimáticas, todas compondo um *assemblage*. B. Detalhe de um *assemblage*. Note que um *assemblage* tem o mesmo diâmetro de uma célula inteira do parênquima axial, evidenciando sua origem a partir de uma única derivada floemática. Escala: A = 100 μm , B = 30 μm .

No floema variante, por sua vez, a maioria dos elementos de tubo crivado são grandes e arredondados (Fig. 7B) e estão em geral arranjados em múltiplos de duas a três células (Fig. 7B).

Freqüência dos elementos de tubo crivado x área total ocupada. O número de elementos de tubo por milímetro quadrado é superior na porção normal em relação à porção variante (Tabela 1). Entretanto, a área total ocupada pelos elementos de tubo é muito inferior na porção normal em relação à porção variante.

Parênquima

Freqüência do parênquima axial x área total ocupada. No floema normal o parênquima é muito mais abundante, cobrindo em geral mais de 50% da área total ocupada por todas as células (Tabela 1, Fig. 7). No floema variante, contudo, o parênquima contribui com normalmente menos de 30% da área total ocupada por todas as células (Tabela 1, Fig. 7).

Esclerênquima

Fibras x esclereídes. Praticamente todos os gêneros da tribo apresentam fibras do floema tanto no floema normal quanto no variante, com exceção de um único gênero, *Pleonotoma*, cujo floema normal apresenta somente esclereídes (Fig. 12A), ao passo que possui fibras do floema em sua porção variante (Fig. 12B).

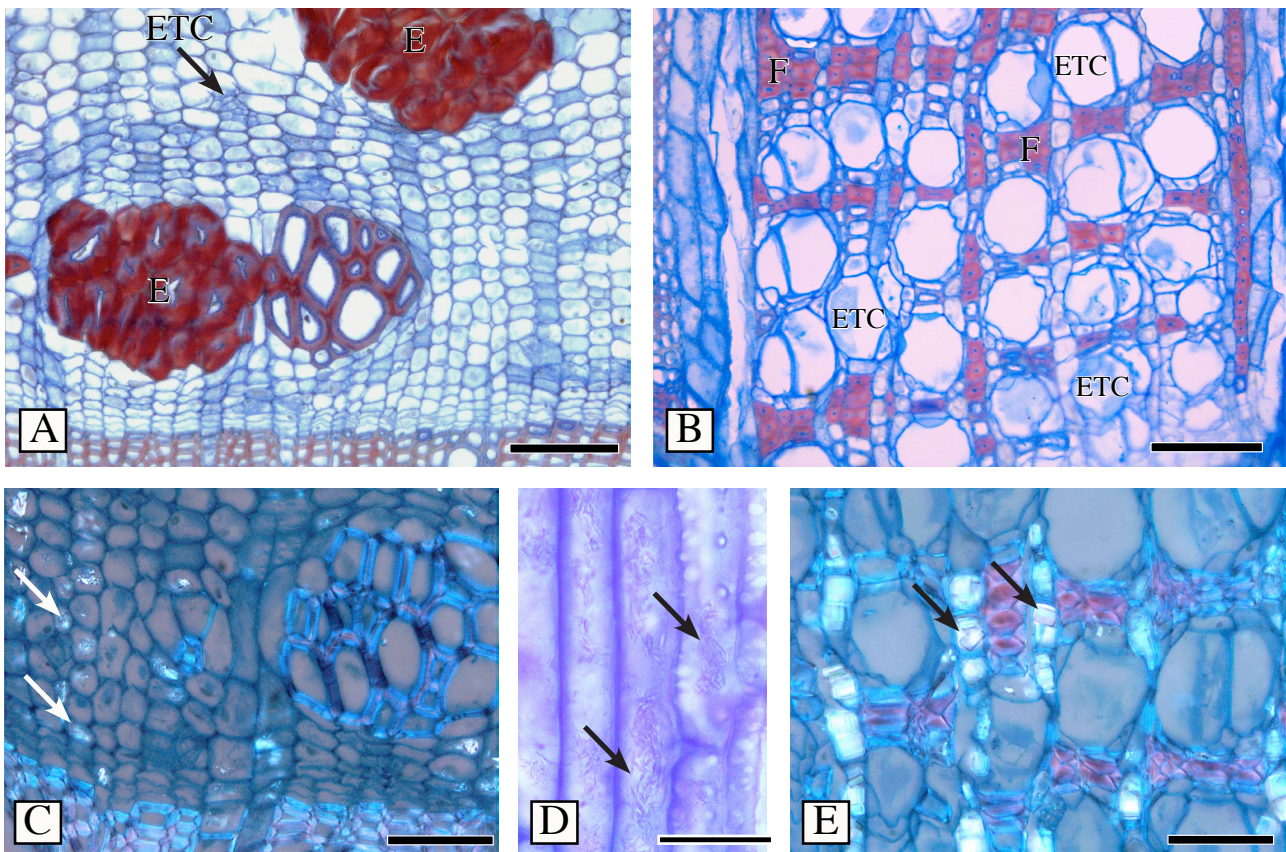


Fig. 12. Floema normal e variante de *Pleonotoma tetraquetra*. A. Secção transversal (ST) com floema normal apresentando somente esclereídes. B. Floema variante apresentando somente fibras do floema (ST). C. Floema normal sob luz polarizada, evidenciando a presença de cristais (ST). D. Secção longitudinal tangencial mostrando células do parênquima axial do floema normal com cristais aciculares. E. Floema variante sob luz polarizada evidenciando cristais prismáticos (ST). E = Esclereídes, ETC = Elemento de tubo crivado, F = Fibras. Escalas: A-B = 100 μ m, C,E = 50 μ m, D = 25 μ m.

Diferença no arranjo das fibras. Em relação à sua forma e dimensões, as fibras não apresentam diferenças entre o floema normal e o variante. Contudo, há diferenças em relação ao padrão de distribuição das fibras entre ambos floemas. De fato, dois arranjos distintos podem ser encontrados: no primeiro tipo há a presença de bandas de fibras tanto no floema normal quanto no variante, com igual distribuição (Fig. 13A), ao passo que no segundo tipo a distribuição das fibras é diferente entre ambos floemas, permanecendo em bandas bem distribuídas na porção normal, mas com um padrão de fibras que formam um pano de fundo nos quais as outras células do floema estão imersas na porção variante (Fig. 13B).

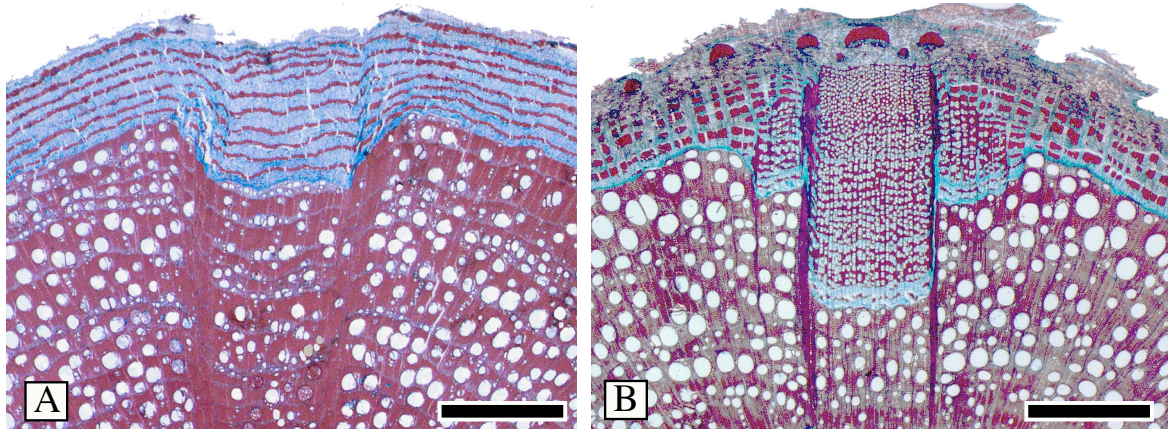


Fig. 13. Padrões de distribuição das fibras no floema normal e variante em secção transversal. A. *Adenocalymma bracteatum*, padrão de distribuição das fibras idêntico, tanto no floema normal quanto no variante. B. *Stizophyllum riparium*, padrão de distribuição das fibras diferente entre floema normal e floema variante. Escala = 2 mm.

A reconstrução deste caráter evidencia que a diferença entre o padrão de distribuição das fibras entre ambos floemas evoluiu independentemente pelo menos quatro vezes em Bignonieae (Fig. 14), pelo menos uma vez em *Adenocalymma*, uma vez no clado “*Arrabidaea* and allies” (com uma reversão), uma vez em *Pleonotoma*, e uma vez em *Stizophyllum* (Fig. 14). A condição ancestral para Bignonieae como um todo, entretanto, é equívoca na parcimônia (Fig. 14A). A mesma reconstrução na máxima verossimilhança, entretanto, indica que há uma probabilidade de 81% de que o ancestral das Bignonieae possua igual distribuição das fibras no floema normal e variante, ao passo que a condição ancestral para as “core Bignonieae” é inferida como sendo de 65% de que ambos floemas possuam igual distribuição de fibras (Fig. 14B). Em relação a *Adenocalymma*, um dos gêneros mais plásticos quanto à distribuição das fibras entre o floema normal e variante, é sugerida como condição ancestral do clado uma probabilidade de 53% de que as fibras apresentem mesmo padrão de distribuição. (Fig. 14B).

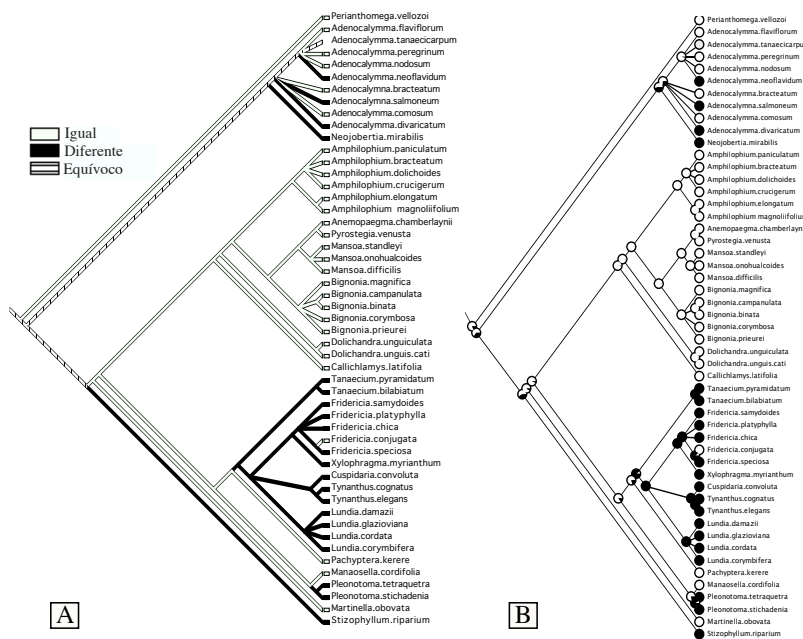


Fig. 14. Reconstrução do padrão de distribuição entre o floema normal e o variante. A. Reconstrução pela parcimônia. B. Reconstrução pela máxima verossimilhança.

Raios

Se por um lado todas as diferenças presentes entre o floema normal e o variante já estavam presentes desde o ancestral de Bignonieae, as diferenças entre a largura e altura dos raios é um caráter presente somente a partir das “core Bignonieae” (Fig. 15).

Largura e altura dos raios. Como visto em secção tangencial, os raios floemáticos de *Perianthomega* são idênticos tanto no floema normal quanto no variante, todos largos e altos (Figs. 16A-B). Nas “core Bignonieae”, entretanto, os raios do floema normal são multisseriados e altos, com mais de 1 mm (Fig. 16C), enquanto no floema variante são unisseriados a bisseriados e curtos, com menos de 1 mm (Fig. 16D).

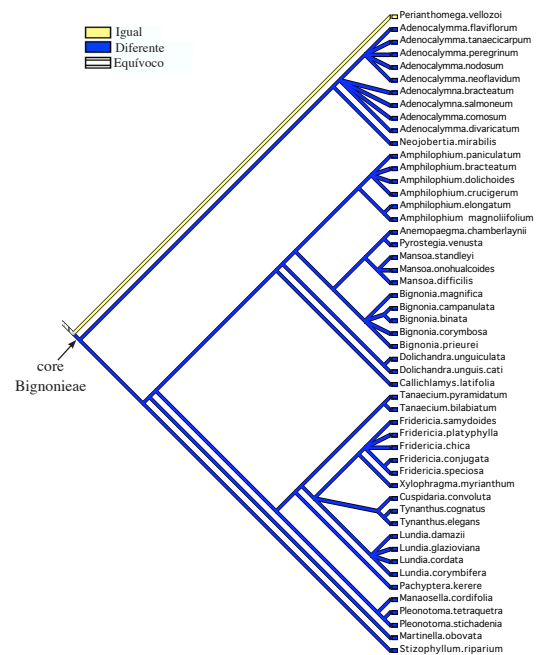


Fig. 15. Reconstrução da altura e largura dos raios, se igual ou diferente entre floema normal e variante.

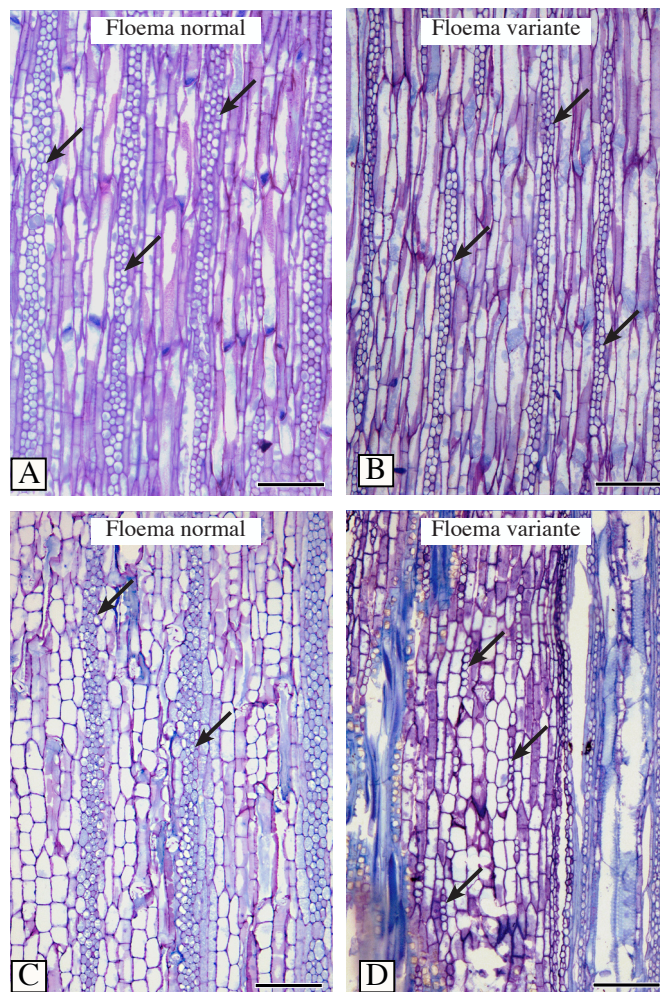


Fig. 16. Largura e altura dos raios em secção longitudinal tangencial. A-B, *Perianthomega vellozoi*, raios idênticos (↔) entre o floema normal e o variante. C-D, *Amphiphilium crucigerum*, com raios altos e multisseriados (↔) na porção normal e raios curtos e unisseriados (→) no floema variante. Escalas: 200 µm.

Cristais

Diferenças entre os cristais. Três diferentes tipos de cristais estão presentes nos raios e parênquima axial em Bignoniaceae: prismáticos (Fig. 17A), aciculares (Fig. 17B) e estiloidais (Fig. 17C). Praticamente todas as espécies analisadas apresentam o mesmo tipo de cristal tanto no floema normal quanto no variante, com exceção de *Pleonotoma*, cujo floema normal apresenta apenas cristais aciculares (Figs 12C-D), enquanto o floema variante apresenta apenas cristais prismáticos (Fig. 12E).

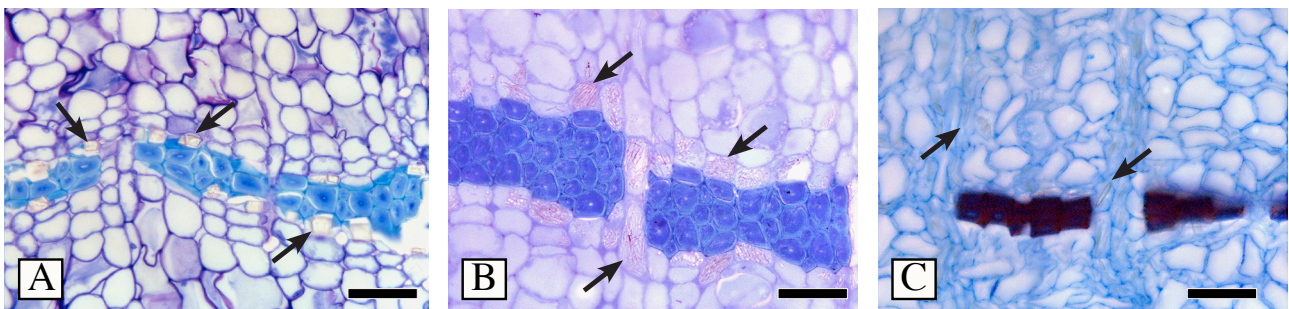


Fig. 17. Tipos de cristais presentes no floema de Bignoniaceae (setas). A. *Amphilophium crucigerum*, cristais prismáticos. B. *Perianthomega vellozoi*, cristais aciculares. C. *Amphilophium paniculatum*, cristais estiloidais. Escala: 50 μ m.

DISCUSSÃO

Este estudo ilustra as diferenças entre o floema secundário normal e variante de Bignoniaceae e as compara dentro de um contexto filogenético, afim de elucidar como ocorreu a evolução de diferenças entre ambas porções.

Posição do floema normal e variante

O padrão vascular primário e filotaxia oposta cruzada das folhas foram sugeridos como de primordial importância na formação e regulação da variação cambial em Bignoniaceae (Dobbins 1970, 1981, 2005). Nossos resultados apontam que de fato as cunhas de floema e as folhas estão relacionadas, já que as cunhas se encontram sempre entre as folhas e nunca abaixo delas. Dado que a filotaxia em Bignoniaceae é oposta cruzada, as cunhas descrevem um percurso espiralado ao longo do caule. A alternância entre folhas e cunhas de floema corrobora as primeiras observações feitas com essas plantas (Schenck 1893; Solereder 1908).

As folhas são centros de produção de auxinas, hormônio diretamente envolvido na diferenciação e formação do padrão vascular (Ye 2002). Conseqüentemente, não é de se surpreender que de fato as folhas estejam diretamente correlacionadas com o controle da variação cambial (Dobbins 2005), apesar de desconhecermos como exatamente ocorre esse controle e o que levaria a formação de mais de quatro cunhas no caule.

Por outro lado, a sugestão de que o câmbio variante de Bignoniaceae seria unidirecional, i.e., em alguns casos interrompendo totalmente a produção de xilema (Boureau 1957; Philipson & Ward 1965; Dobbins 1971; Philipson *et al.* 1971; Philipson 1990; Carlquist 1991, Gabrielli 1992; Dickison 2000; Ozório-Filho 2002) jamais foi observada neste estudo. Ainda que de fato o câmbio variante reduza sensivelmente a produção de xilema, ele jamais cessa totalmente sua produção.

Diferenças entre o floema normal e o variante

Todos os tipos celulares presentes no floema secundário apresentam algum grau de variação entre o floema normal e o variante, que é sumarizado na Figura 18.

O primeiro tipo celular analisado neste estudo, os elementos de tubo crivado, apresentam diferenças entre o floema normal e o variante entre todas as espécies amostradas. A reduzida área dos elementos de tubo crivado no floema normal provavelmente está associada ao número maior de divisões celulares sofridas pelas derivadas fusiformes nesta porção, como sugerido previamente por Dobbins (1971) em *Dolichandra unguis-cati*. De fato, ao contrário das derivadas fusiformes do floema variante, as derivadas floemáticas da porção normal sofrem um número superior de divisões celulares ainda junto à zona cambial que, conseqüentemente, reduzem o calibre dos elementos de tubo no floema normal. Este padrão foi observado em todas as espécies amostradas.

O estudo da variação dos elementos de tubo crivado ao longo da filogenia revelou alguns resultados interessantes. Primeiramente, os elementos de tubo do floema normal revelam tendências evolutivas que caminham em duas direções opostas: no clado “Multiples of four”, sobretudo o gênero *Amphilophium*, os elementos de tubo apontaram um aumento da área em direção aos nós mais apicais da filogenia, ao passo que no clado “*Arrabidaea* and allies” o oposto foi encontrado, com uma redução gradual na área dos elementos de tubo crivado em direção aos nós mais apicais. O aumento na área dos elementos de tubo em *Amphilophium* é extremamente interessante, dado que *Amphilophium* é o único gênero em Bignoniaceae cujas cunhas de floema se tornam inclusas à medida que o caule aumenta em diâmetro, com o floema precocemente perdendo a sua condutividade (Pace *et al.* no prelo). Sendo assim, é possível que em *Amphilophium* tenha havido seleção favorecendo o aumento

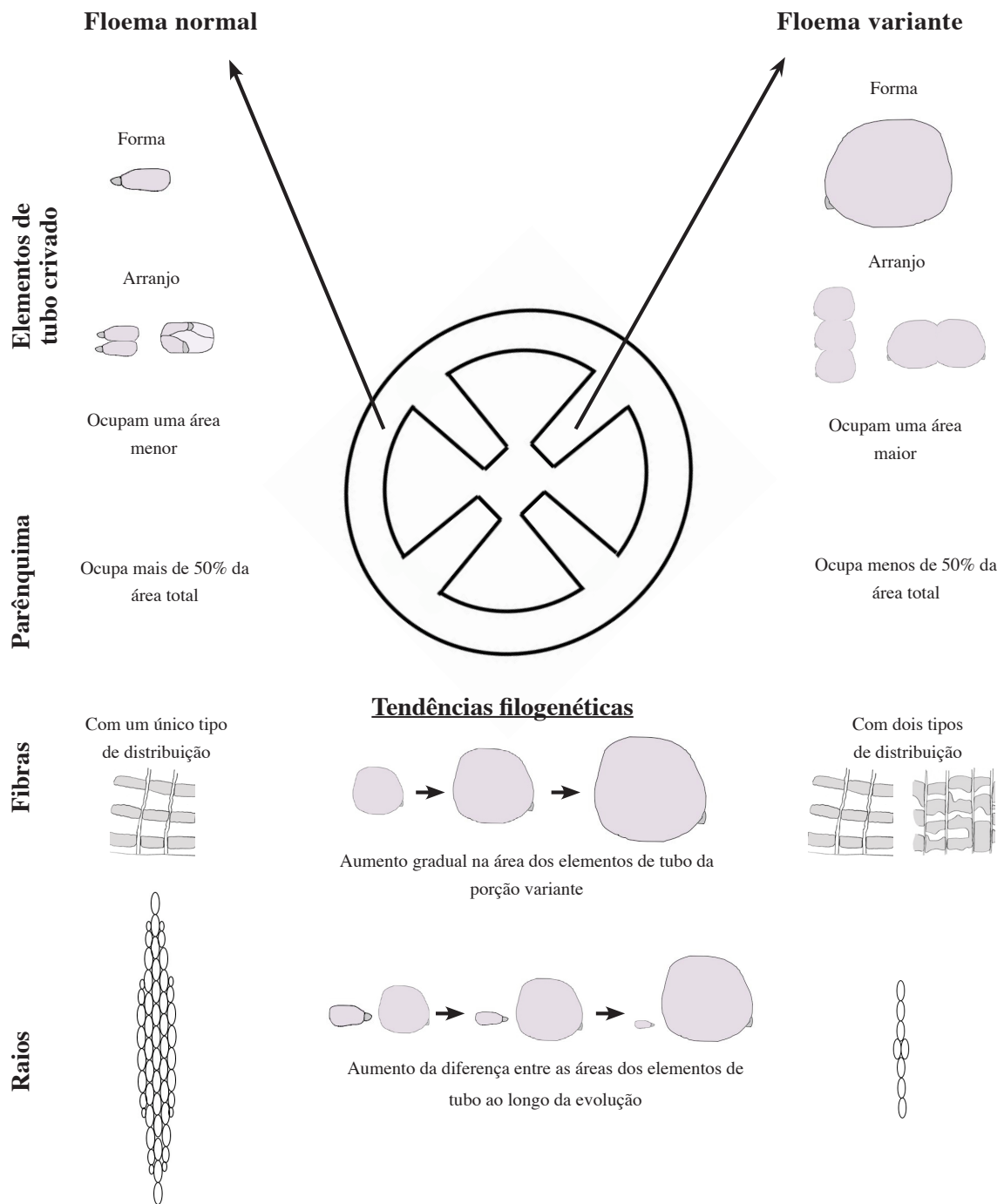


Fig. 18. Comparação entre o floema normal e o variante em Bignoniae e tendências filogenéticas.

dos elementos de tubo crivado no floema normal, compensando a falta de condutividade do floema variante. Por outro lado, a redução nas áreas dos elementos da porção normal visto em “*Arrabidaea* and allies” indicaria que o floema variante neste clado pode estar ganhando maior importância na condução de fotossintatos, um cenário que será melhor discutido a seguir.

Os resultados de áreas para os elementos de tubo do floema variante, entretanto, revelam uma tendência geral para um aumento gradual dos elementos de tubo nesta porção. Esse resultado indica que o floema variante provavelmente está se especializando na condução de fotossintatos no

floema variante. Assim, além de conferir flexibilidade (Carlquist 1988; Rowe *et al.* 2004, Isnard & Silk 2009), atuar no reparo de injúrias (Dobbins & Fisher 1986) e estar envolvido com armazenamento de água (Carlquist 1988), uma especialização em condução demonstra que o floema variante também deve estar sujeito a pressões seletivas para melhor conduzir fotossintatos. Essa especialização em condução é algo já conhecido para o xilema de lianas, nos quais estão normalmente presentes vasos de calibres muito grandes (Carlquist 1985), capazes de conduzir grandes quantidades de água. Uma excelente condução é vital para suprir o grande número de ramos e folhas que uma liana costuma possuir (Ewers & Fisher 1991). A evolução de elementos de tubo de maior calibre, portanto, representaria uma especialização para o hábito lianescente. Essa sugestão é, ademais, corroborada pela análise dos arbustos de Bignoniaceae, cujos elementos de tubo da porção variante apresentam calibres significativamente inferiores aos das lianas.

Estudos anteriores que investigaram os diâmetros dos elementos de tubo em Loganiaceae (Veenendaal & Den Outer 1993) e Bignoniaceae (Pace *et al.* no prelo) já haviam sugerido que o floema variante deve assumir o papel principal na condução de fotossintatos; entretanto, esta é a primeira vez que tais sugestões são testadas numericamente em um contexto filogenético. Além disso, o aumento entre as diferenças de área do floema normal e variante indicam que os elementos da porção variante estão aumentando e aqueles da porção normal estão diminuindo. Assim, é possível que a condução de fotossintatos esteja restringindo-se ao floema variante.

Da mesma maneira que as áreas sempre foram diferentes entre o floema normal e o variante, a forma e o arranjo dos elementos de tubo crivado também sempre foram diferentes entre o floema normal e o variante. De fato, os elementos de tubo do floema normal são geralmente diminutos e achatados radialmente, muito semelhantes, curiosamente, aos elementos de tubo encontrados na porção terminal de camadas de crescimento presentes no floema de espécies com formação sazonal de tecidos secundários. Mais especificamente, essa semelhança advém da forma achatada radialmente dos elementos de tubo crivado (Schneider 1945; Deer & Evert 1967; Deshpande & Rajendrababu 1985; Rajput & Rao 1998; Angyalossy *et al.* 2005) e seu arranjo radial (Angyalossy *et al.* 2005).

Por outro lado, a maior freqüência de elementos de tubo no floema normal não contradiz a afirmação de que o floema variante seria o principal condutor dos fotossintatos, já que os elementos desse floema são muito menores e, portanto, ocupam uma área inferior dentro do tecido. De fato, os elementos de tubo do floema normal estão geralmente dispersos em uma matriz de parênquima axial, de maneira similar ao floema terminal de plantas com crescimento sazonal, reforçando que estariam envolvidos em uma menor condução de fotossintatos.

Outros caracteres também demonstraram ser diferentes entre o floema normal e o variante, como a distribuição das fibras e os raios floemáticos. Em ambos casos, essas diferenças não são gerais para a tribo, mas são restritas a clados em particular. No caso das fibras, estas podem ter igual distribuição entre o floema normal e o variante, ou podem estar distribuídas de maneira distinta,

com as fibras na porção variante mais proximamente relacionadas. Diferenças no arranjo das fibras parece ter evoluído independentemente em pelo menos quatro clados de Bignoniaceae: *Adenocalymma*, o clado “*Arrabidaea* and allies”, *Pleonotoma* e *Stizophyllum*. É possível que a evolução desse caráter esteja relacionada à conferência de proteção mecânica das cunhas de floema, tanto contra torções quanto a agentes externos, como herbívoros.

Em relação aos raios, estes são idênticos entre o floema normal e o variante em *Perianthomega* e são diferentes no grupo irmão (i.e., nas “core Bignoniaceae”). Essa característica representa uma sinapomorfia deste clado. A presença de exclusivamente raios unisseriados dentro das cunhas é uma característica intrigante, já que em todo o restante do caule os raios são multisseriados. Uma vez que estudos com o xilema secundário apontam que os raios são em geral mais estreitos no início do crescimento secundário (Barghoorn 1940; Chattaway 1951), é possível que a manutenção dessa característica representasse um caso de retenção do caráter juvenil no floema variante, ou seja, um caso de pedomorfose no floema secundário. Esse caráter pedomórfico, por sua vez, derivaria do fato de que o câmbio variante praticamente não sofre novas divisões anticlinais quando inicia sua atividade, ainda cedo na formação do caule (Pace *et al.* no prelo), momento em que as cunhas iniciam seu desenvolvimento e o câmbio se torna incluso. Uma vez que as cunhas de floema são formadas ainda cedo na ontogenia do caule e o câmbio variante praticamente interrompe as divisões anticlinais, a característica juvenil de possuir raios unisseriados permanece na cunha devido a uma retenção do padrão de desenvolvimento inicial.

Outro caráter variável entre o floema normal e o variante está relacionado à altura dos raios. Como esperado em lianas (Carlquist 1984; Gasson & Dobbins 1991; Dias-Leme 1999), os raios são bastante altos e largos na porção normal. Ao contrário, os raios são curtos e estreitos na porção variante. A razão pela qual os raios da cunha seriam mais curtos pode representar uma retenção do caráter plesiomórfico da família (Dos Santos & Miller 1992; Dos Santos & Miller 1997), já que nas demais Bignoniaceae os raios são geralmente curtos, ou ainda pode representar uma evolução semelhante à sugerida na especialização dos raios em dicotiledôneas (Kribs 1935), de raios altos a raios curtos. Essa sugestão, entretanto, deve ser interpretada com cautela, já que as linhas de evolução dos raios como proposta por Kribs (1935) parecem ser mais complexas do que uma única conversão de raios altos e multisseriados para raios curtos e unisseriados (Barghoorn 1941).

Cristais de oxalato de cálcio de três tipos distintos foram encontrados nos raios e parênquima axial de Bignoniaceae: prismáticos, aciculares e estiloidais. O cálcio é sabidamente crucial para a divisão, crescimento e manutenção celular (Arnott 1976; Franceschi 1989) elucidando, assim, porquê cristais de oxalato de cálcio abundam no floema normal e variante de Bignoniaceae. Além disso, os cristais são em geral do mesmo tipo entre a porção normal e variante, exceto em *Pleonotoma*, no qual cristais aciculares estão presentes no floema normal, ao passo que cristais prismáticos são encontrados no

floema variante. Outro caráter distintivo de *Pleonotoma* é a ausência de fibras no floema normal, no qual se encontram somente esclereídes, ao passo que no floema variante há fibras do floema. Diferenças tão marcantes entre o floema normal e variante como estas registradas para *Pleonotoma* indicam que ambos floemas provavelmente evoluem de maneira não correlacionada e, portanto, pertencem a módulos evolutivos distintos (*sensu* Wagner 1996) em Bignoniaceae.

CONCLUSÕES

Nossos resultados indicam que o floema normal e o variante estão se tornando cada vez mais diferentes em Bignoniaceae. Adicionalmente, muitas das características apontadas para as espécies decorrem do hábito lianescente ou da presença de variação cambial. Primeiramente, no floema variante os elementos de tubo crivado estão ficando cada vez maiores e ocupando uma maior área em todas as espécies da tribo, provavelmente aumentando a importância do floema variante na condução de fotossintatos. Um maior poder de condução pelo floema variante em Bignoniaceae provê, além do mais, outra importância nunca antes sugerida para a evolução e manutenção da variação cambial no grupo. Secundariamente, as fibras do floema variante estão em muito grupos evoluindo para um arranjo mais proximamente relacionado, provavelmente aumentando a proteção mecânica do tecido. Em terceiro lugar, os raios teriam se diferenciado devido a mudanças na ontogênese (pedomorfose) ou filogênese (especialização), tornando-se mais estreitos e curtos no floema variante. Estes resultados evidenciam a importância de estudos anatômicos comparativos dentro de um contexto filogenético, permitindo reconhecer a presença de tendências evolutivas que podem ter tido um papel crucial na diversificação dos grupos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGYALOSSY V., C. R. MARCATI & R. F. EVERT 2005. Aspects of the seasonal development of the secondary phloem in two Brazilian semi-ring porous trees. XVII IBC Book of Abstracts, Vienna, Áustria.
- ARNOTT H. J. 1976. Calcification in higher plants. Pages 55-78 *In* N Watanabe, KM Wilbur (eds.) The mechanisms of mineralization in the invertebrates and plants. The Belle W. Baruch Library in Marine Science 5. University of South Carolina Press, Columbia, EUA.
- BARGHOORN E. S. J. 1940. The ontogenetic development and phylogenetic specialization of rays in the xylem of dicotyledons. I. The primitive ray structure. *American Journal of Botany* 27:918-928.
- BARGHOORN E. S. J. 1941. The ontogenetic development and phylogenetic specialization of rays in the xylem of dicotyledons. II. Modification of the multiseriate and uniseriate rays. *American Journal of Botany* 28:273-282.

- BERLYN G. P. & J. P. MIKSCHE 1976. Botanical microtechnique and cytochemistry. The Iowa State University Press, Ames.
- BOUREAU E. 1957. Anatomie Végétale: L'appareil végétatif des phanérogames. Muséum National d'Histoire Naturelle. Tome troisième. Presses Universitaires de France, Paris, França.
- BUKATCH F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. *Mikrokosmos* 61:255.
- CABALLÉ G. 1993. Liana structure, function and selection: a comparative study of xylem cylinders of tropical rainforest species in Africa and America. *Botanical Journal of the Linnean Society* 113:41-60.
- CARLQUIST S. 1982. The use of ethylenediamine in softening hard plant structures for paraffin sectioning. *Stain Technology* 57:311-317.
- CARLQUIST S. 1985. Observations on functional wood histology of vines and lianas: vessel dimorphism, tracheids, vasicentric tracheids, narrow vessels, and parenchyma. *Aliso* 11:139-157.
- CARLQUIST S. 1988. Comparative wood anatomy - systematic, ecological, and evolutionary aspects of dicotyledon wood. Springer-Verlag, Berlin, Alemanha.
- CARLQUIST, S. 1991. Anatomy of vine and liana stems: a review and synthesis In F. E. Putz & H. A. Mooney (eds.) The biology of vines. Cambridge University Press. Cambridge, Reino Unido.
- CHATTAWAY M. M. 1951. Morphological and functional variations in the rays of pored timbers. *Australian Journal of Scientific Research series B* 4:12-27.
- DERR W. F. & R. F. EVERT 1967. The cambium and seasonal development of phloem in *Robinia pseudoacacia*. *American Journal of Botany* 54:147-157.
- DESHPANDE B. P. & T. RAJENDRABABU 1985. Seasonal changes in the structure of the secondary phloem of *Grewia tiliifolia*, a deciduous tree from India. *Annals of Botany* 56:61-71.
- DICKISON, W. C. 2000. Integrative plant anatomy. Elsevier Science Academic Press, San Diego, EUA.
- DOBBINS D. R. 1970. The influence of the leaves on anomalous cambial activity in the "cross-vine". *American Journal of Botany* 57:735.
- DOBBINS D. R. 1971. Studies on the anomalous cambial activity in *Doxantha unguis-cati* (Bignoniaceae). II. a case of differential production of secondary tissues. *American Journal of Botany* 58:697-705.
- DOBBINS D. R. 1981. Anomalous secondary growth in lianas of the Bignoniaceae is correlated with the vascular pattern. *American Journal of Botany* 68:142-144.
- DOBBINS D. R. 2005. Development and function of included phloem in woody lianas of the Bignoniaceae. XVII IBC Book of Abstracts, Vienna, Áustria.
- DOBBINS D. R. & J. B. FISHER 1986. Wound responses in girdled stems of lianas. *Botanical Gazette* 147:278-289.
- DOS SANTOS G. & R. B. MILLER 1992. Wood anatomy of Tecomeae. *Flora Neotropica Monograph* 25:336-358.
- DOS SANTOS G. & R. B. MILLER 1997. Wood anatomy of *Jacaranda* (Bignoniaceae): systematic relationships in sections monolobos and dilobos as suggested by twig and stem wood rays. *IAWA Journal* 184: 369-383.
- DUNN M. T., M. KRINGS, G. MAPES, G. W. ROTHWELL, R. H. MAPES & S. KEQIN 2003. *Medullosa steinii* sp. nov., a seed

- fern vine from the Upper Mississippian. *Review of Paleobotany and Palynology* 124:307-324.
- EWERS F.W. & J. B. FISHER 1991. Why vines have narrow stems: histological trends in *Bauhinia* (Fabaceae). *Oecologia* 88:223-237.
- FISHER J. B. & F.W. EWERS 1992. Xylem pathways in liana with variant secondary growth. *Botanical Journal of the Linnean Society* 108:181-202.
- FRANCESCHIV. R. 1989. Calcium oxalate formation is a rapid and reversible process in *Lemna minor* L. *Protoplasma* 148:130-137.
- GABRIELLI A. C. 1993. Estrutura caulinar secundária em *Pyrostegia venusta* (Ker.) Miers – Bignoniaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 16: 167-173.
- GENTRY A. H. 1991. The distribution and evolution of climbing plants. Pages 3-49 in F. E. Putz, H.A. Mooney, eds. *The biology of vines*. Cambridge University Press, Cambridge.
- ISNARD, S. & W. K. SILK 2009. Moving with climbing plants from Charles Darwin's time into the 21st century. *American Journal of Botany* 96: 1205-1221.
- KARNOVSKY M. J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27:137-138.
- KRIBS D.A. 1935. Salient lines of structural specialization in the wood rays of dicotyledons. *Botanical Gazette* 96:547-557.
- LENS F., J. KÅREHED, P. BAAS, S. JANSEN, D. RABAEY, S. HUYSMANS, T. HAMANN & E. SMETS 2008. The wood anatomy of polyphyletic Icacinaceae s.l. and their relationship within asterids. *Taxon* 57:525-552.
- LOHMANN L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* 93:304-318.
- LOHMANN L. G. no prelo. A new generic classification of Bignoniaceae (Bignoniaceae) based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. *Annals of the Missouri Botanical Garden*.
- MADDISON, W. P. & D. R. MADDISON 2003. MacClade: analysis of phylogeny and character evolution, version 4.06 for Mac OSX. PPC Sinauer, Sunderland, Massachusetts, EUA.
- MADDISON W. P. & D. R. MADDISON 2009. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 2.6. <http://mesquiteproject.org>
- MIDFORD P. E., T. GARLAND Jr & W. P. MADDISON 2003. PDAP Package.
- OBATON M. 1960. Les lianes ligneuses a structure anormale des forêts denses d'Afrique Occidentale. *Annales des Sciences Naturelle Botanic et Biologie Végétale* 12: 1-220.
- O'BRIEN T. P., N. FEDER & M. E. MACCULLY 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59:368-373.
- OZÓRIO-FILHO, H. L. 2002. Variação cambial em Bignoniaceae: padrão anatômico e desenvolvimento do caule. Master dissertation, University of São Paulo, São Paulo, Brasil.
- PACE M. R., L. G. LOHMANN & V. ANGYALOSSY no prelo. The rise and evolution of the cambial variant in Bignoniaceae

(Bignoniaceae). *Evolution and Development* 11.

PHILIPSON W. R. 1990. Anomalous cambia. Pages 201-212 in M. Iqbal, ed. *The vascular cambium*. John Wiley & Sons Inc, New York, England, Research Studies Press Ltd. Tauton, Somerset.

PHILIPSON W. R. & J. M. WARD 1965. The ontogeny of the vascular cambium in the stem of seed plants. *Biology Review* 40: 534-579.

PHILIPSON W. R., J. M. WARD & B. G. BUTTERFIELD 1971 *The vascular cambium: its development and activity*. Chapman and Hall Ltd. London, Inglaterra.

RAJPUT K. S. & K. S. RAO 1997. Seasonal anatomy of secondary phloem of teak (*Tectona grandis* L. Verbenaceae) growing in dry and moist deciduous forests. *Phyton* 38:251-258.

ROSELL J. A. & M. E. OLSON 2007. Testing implicit assumptions regarding the age vs size dependence of stem biomechanics using *Pittocaulon* (~ *Senecio*) *praecox* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 94:161- 172.

ROWE N., S. ISNARD & T. SPECK 2004. Diversity of mechanical architectures in climbing plants: an evolutionary perspective. *Journal of Plant Growth and Regulation* 23:102-128.

RUPP P. 1964. Polyglycol als Einbettungsmedium zum Schneiden botanischer Präparate. *Mikrokosmos* 53:123-128.

SCHENCK H. 1893 Beiträge zur Biologie und Anatomie der Lianen im Besonderen der in Brasilien einheimischen Arten. II Theil. Beiträge zur Anatomie der Lianen. Pages 1-271 In AFW Schimper, ed. *Botanische Mittheilungen aus den Tropen*. Gustav Fisher, Jena, Alemanha.

SCHNEIDER H. 1945 The anatomy of Peach and Cherry phloem. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 72:137-156

SCHNITZER, S. A., S. J. DEWALT & J. CHAVE 2006. Censuring and measuring lianas: a quantitative comparison of the common methods. *Biotropica* 38: 581-591.

SOLEREDER H. 1908. *Systematic anatomy of the dicotyledons*, Vols. I and II. Charenton Press, Oxford, Reino Unido.

VAN VEENENDAAL W. L. H. & R. W. DEN OUTER 1993. Development of included phloem and organization of the phloem network in the stem of *Strychnos millepunctata* (Loganiaceae). *IAWA Journal* 14:253-265.

WAGNER G. P. 1996. Homologues, natural kinds and the evolution of modularity. *American Zoologist* 36:36-43.

YE, Z. H. 2002 Vascular tissue differentiation and pattern formation in plants. *Annual Review of Plant Biology* 53:183-202.

CAPÍTULO 3

DIVERSIDADE E EVOLUÇÃO DO FLOEMA SECUNDÁRIO EM
BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE)

I know it will be difficult to make observations of this kind upon the Organical Parts of Plants, severally For what we obtain of Nature, we must not do it by commanding, but by courting at Her . . . I mean, that where ever Men will go beyond Phansie and Imagination, . . . they must Labour, Hope and Persevere . . . And as the means propounded, are all necessary, so they may in some measure, prove effectual. How far, I promise not; the Way is long and dark . . . I but little should be effected, yet to desire more, can do us no harm: For although a Man shall never be able to hit Stars by shooting at them; yet he shall come much nearer to them, than another that throws at Apples.

(The Anatomy of Plants, Nehemiah Grew, 1682)

CAPÍTULO 3

DIVERSIDADE E EVOLUÇÃO DO FLOEMA SECUNDÁRIO EM BIGNONIEAE (BIGNONIACEAE)

RESUMO

A evolução do floema é até hoje um dos temas mais controversos em anatomia vegetal, uma vez que o padrão de evolução proposto para os seus tipos celulares: elementos de tubo, parênquima, fibras e raios, não encontrou correspondência com a filogenia das plantas, com grupos basais apresentando caracteres considerados derivados e grupos apicais apresentando caracteres primitivos. Entretanto, nunca foi realizado um estudo que analisasse o floema dentro de uma filogenia, acessando informações mais precisas sobre a evolução deste tecido. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi investigar o floema secundário presente nos caules de Bignoniaceae (Bignoniaceae) dentro de um contexto filogenético, com a finalidade de elucidar aspectos evolutivos de todos os tipos celulares do floema. Para tanto, analisamos a anatomia do floema de 54 espécies de Bignoniaceae pertencentes a todos os gêneros da tribo. Caracteres do floema foram delimitados de acordo com seu padrão de variação e seus estados de caráter foram reconstruídos na filogenia de Bignoniaceae, afim de detectar quando e em que consistiam as mudanças que ocorreram ao longo de sua evolução. Nossos resultados apontam que em Bignoniaceae diferentes linhagens estão seguindo padrões opostos na evolução do floema. Em algumas linhagens os elementos de tubo crivado tendem a diminuir de comprimento e número de áreas crivadas na placa crivada, reduzir na abundância de fibras e aumentar na abundância de parênquima. Contudo, em outras linhagens os elementos de tubo se tornam mais longos, suas placas crivadas com maior número de áreas crivadas, maior abundância de fibras e menor abundância de parênquima. Sendo assim, fica evidente que a evolução do floema não está restrita a uma única ordem de especialização, tomando diferentes direções em diferentes linhagens ao longo do tempo.

Palavras-chave: Anatomia vegetal, Bignoniaceae, elemento de tubo crivado, evolução, floema, liana, variação cambial.

ABSTRACT

Phloem evolution has always been a rather controversial topic, as the lines of evolution proposed for its cell types: sieve tubes, parenchyma, fibers and rays, would not find correspondence in plants phylogeny, with most basal groups presenting advanced characters and most recent groups presenting primitive characters. However, studies correlating phloem traits and a phylogenetic frame have never been done, something that would allow the obtention of more specific data on phloem evolution. Therefore, the aim of this study was to investigate the secondary phloem in the stems Bignoniaceae (Bignoniaceae) within a phylogenetic framework in order to address questions on the evolution of all cell types in the phloem. For this purpose, we analyzed the phloem anatomy of 54 species of Bignoniaceae distributed in all genera of the tribe. Phloem characters were delimited according to their pattern of variation and their character states were reconstructed onto the phylogeny of Bignoniaceae, in order to detect when exactly there has been changes and in what they could consist along their evolution. Our results illustrate that in Bignoniaceae different lineages are following opposite directions on phloem evolution. In fact, in some lineages the sieve tubes decrease in length and in number of sieve areas per sieve plate, reduce in the fibers abundance, and augment in parenchyma abundance. In contrast, in other lineages the sieve tubes increase in length and in number of sieve areas per sieve plate, have their fibers more abundant, and their parenchyma more scarce. Consequently, it becomes evident that phloem evolution is not constraint to a single order of specialization, taking different directions in different lineages along evolution.

Keywords: Bignoniaceae, cambial variant, evolution, liana, phloem, plant anatomy, sieve tube element.

INTRODUÇÃO

A evolução do floema é até hoje um dos temas mais controversos em anatomia vegetal. A maioria dos estudos com essa ênfase focam na evolução dos elementos de tubo crivado e, ainda assim, há poucas informações disponíveis. Hemenway (1911, 1913) foi um dos primeiros autores desde a descoberta dos elementos de tubo crivado (Hartig 1837) a sugerir tendências evolutivas para o floema, seguindo tendências similares às propostas para os elementos traqueais. Dessa maneira, os elementos de tubo crivado derivariam de uma célula crivada, com uma diminuição gradual de seu comprimento, redução da inclinação das paredes terminais, concentração das áreas crivadas nestas porções e aumento dos poros, formando assim as placas crivadas. Estas, por sua vez, teriam emergido como placas crivadas compostas com muitas áreas crivadas, evoluindo para placas simples (Hemenway 1913). Consequentemente, dentro das angiospermas, Hemenway reconheceu três tipos distintos de elementos de tubo crivado, o primeiro tipo sendo o mais primitivo, com elementos de tubo longos, apresentando placas crivadas inclinadas e compostas com mais de dez áreas crivadas; o segundo sendo intermediário, apresentando placas crivadas com cinco a dez áreas crivadas; e por fim o terceiro sendo o mais derivado, com elementos de tubo curtos, apresentando placas crivadas simples, transversais a levemente inclinadas (Hemenway 1911, 1913). As tendências evolutivas propostas por Hemenway (1911, 1913) e fortemente reforçadas por estudos com monocotiledôneas (Cheadle & Witford 1941; Cheadle 1948) foram, entretanto, objeto de debate de outros estudos que não encontraram um modo de evolução linear e gradual ao analisar comparativamente o floema de diversas famílias de plantas (MacDaniels 1918). De fato, as características encontradas nos elementos de tubo das espécies estudadas não seguiriam a ordem esperada quando confrontadas com as classificações vegetais, tanto em relação às classificações passadas (Engler & Prantl 1907; Cronquist 1981) quanto em relação às presentes (APG II 2003). De fato, algumas Magnoliales (angiospermas basais, APG II 2003) possuem elementos de tubo com placas crivadas simples (Zahur 1959), ao passo que muitas Fagales (core Eudicotiledônias, APG II 2003) possuem elementos de tubo com placas crivadas tidas como dentre as mais primitivas nas angiospermas (Hemenway 1913; MacDaniels 1918). Como resultado, ainda hoje o padrão de evolução dos elementos de tubo permanece incerto (Evert 2006), e a diversidade de formas e tamanhos dos elementos de tubo ao longo da filogenia indicariam que estes estariam mais suscetíveis a pressões fisiológicas do que filogenéticas (MacDaniels 1918) ou, ainda, que os grupos mais basais não reteriam caracteres mais primitivos, ao contrário do xilema (Esau 1969).

Por outro lado, apesar de muito debate, parece haver um consenso geral de que os elementos de tubo teriam derivado de uma célula condutora similar às células crivadas das gimnospermas (Esau 1969; Roth 1981). Sendo assim, dadas as características das células crivadas, os elementos

de tubo crivado de fato teriam seguido uma ordem de especialização semelhante àquela proposta por Hemenway (Esau 1969; Roth 1981). Além disso, dado que os elementos de tubo derivam dos mesmos meristemas que os elementos traqueais, alguma semelhança entre os padrões de evolução de ambos seria de se esperar, ao menos para os caracteres que derivam de modificações nas iniciais meristemáticas (Esau 1969; Evert 2006). De fato, a redução em tamanho sofrida pelos elementos de vaso ao longo da evolução resultam da diminuição nas iniciais fusiformes do câmbio, algo que por conseguinte afetaria o floema (Evert 2006). Entretanto, o fato de as derivadas do floema frequentemente sofrerem divisões transversais (septação) após deixarem o câmbio (Esau & Cheadle 1955; Zahur 1959) traz mais controvérsia ao tema e pode indicar que a diferença no tamanho dos elementos de tubo crivado não carregam o mesmo significado filogenético que para elementos de vaso (Bailey 1944; Evert 2006).

Quando outros tipos celulares do floema são considerados, ainda menos informações evolutivas existem. Zahur (1959) foi um dos poucos a propor tendências evolutivas para o parênquima e o esclerênquima floemáticos no corpo secundário, sendo o parênquima escasso e a presença de fibras uma condição mais primitiva, enquanto a presença de muito parênquima e esclereídes seriam uma condição mais derivada. Em relação às células companheiras, sobretudo em relação ao seu tamanho e forma, as mais primitivas seriam aquelas subdivididas, formando uma série longitudinal ao lado do elemento de tubo, uma vez que são normalmente encontradas associadas a elementos longos e com placas compostas (Chavan *et al.* 1983; Chavan 2000). Por outro lado, as células companheiras mais derivadas seriam inteiras e do mesmo comprimento que o elemento de tubo crivado, uma vez que são geralmente encontradas associadas a elementos de tubo curtos e com placas simples (Chavan *et al.* 1983, 2000). Roth (1981), além disso, fornece uma tabela (página 558) onde sumariza todas as tendências evolutivas encontradas para as células do floema, incluindo dados novos e de outros autores. Dentre as novas tendências propostas, ela adiciona que os raios homogêneos, tanto multisseriados quanto unisseriados, representariam uma condição mais derivada, assim como a presença de meristemas de dilatação nos raios. Da mesma forma, a passagem de um câmbio não-estratificado para um câmbio estratificado representaria uma especialização (Esau 1969; Roth 1981). Essas sugestões, novamente, seguem as tendências sugeridas para o xilema (Kribs 1935), apesar de não se sustentarem na ordem filética de evolução de muitos táxons (Roth 1981; Iqbal & Zahur 1995).

Entretanto, para o nosso conhecimento a evolução e diversidade do floema secundário e todos seus tipos celulares nunca foram investigados tendo como base uma filogenia. A análise das modificações anatômicas sofridas pelas células do floema num contexto filogenético permitiria testar hipóteses acerca da evolução do floema secundário, trazendo novas informações para este

campo. Sendo assim, o objetivo do presente estudo é analisar a anatomia do floema secundário de Bignonieae (Bignoniaceae) dentro de um contexto filogenético.

A tribo Bignonieae forma um grupo monofilético (Spangler & Olmstead 1999; Lohmann 2006; Olmstead et al. no prelo) e reúne aproximadamente metade de todas as espécies da família, representando ainda o grupo mais abundante de lianas nos neotrópicos (Gentry 1991; Lohmann 2006). Seus representantes são especialmente interessantes por possuírem uma variação cambial (Schenck 1893; Dobbins 1971; Pace et al. no prelo) sinapomórfica para a tribo (Lohmann 2006), que resulta na formação de dois tipos distintos de floemas secundários (Solleder 1908; Dobbins 1971), um normal e um variante. Ambos floemas são anatomicamente diferentes por vários caracteres, como área total dos elementos de tubo crivado, abundância de parênquima, distribuição das fibras e tipos de raios, indicando que ambos provavelmente evoluíram de maneira não modular (Pace capítulo 2). Portanto, é possível estudar a evolução de ambos os floemas e testar as hipóteses já sugeridas pelos autores supra-citados (Hemenway 1913, Zahur 1959, Esau 1969, Roth 1981).

O objetivo deste estudo é analisar os caracteres do floema, visando avaliar sua história evolutiva dentro de um contexto filogenético. Mais especificamente, investigamos duas questões principais: (1) qual a diversidade dos caracteres anatômicos presentes no floema secundário de Bignonieae? e (2) quais os padrões evolutivos encontrados para estes caracteres em Bignonieae?

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Neste estudo foi analisado o floema de 54 espécies pertencentes aos 21 gêneros atualmente reconhecidos em Bignonieae (Lohmann no prelo, Apêndice A). As coletas, fixação, padronizações e procedimentos anatômicos foram feitos seguindo Pace et al. (no prelo e capítulo 1)

Terminologia anatômica adotada

A terminologia adotada para o floema neste estudo seguem as sugestões de Trockenbrodt (1990), Angyalossy-Alfonso & Richter (1991) e Richter et al. (1996), exceto pelas seguintes:

Cunhas de floema e intercunhas (floema normal e variante). De acordo com a terminologia previamente proposta para os caules de Bignonieae (Pace et al. no prelo), cunhas de floema são as regiões resultantes da atividade variante do câmbio de algumas porções do caule, que passam a

produzir mais floema e menos xilema, dando ao caule um aspecto de cruz, ao passo que intercunhas são as regiões situadas entre as cunhas, nas quais o câmbio possui uma atividade padrão (Fig. 1). Além disso, como resultado da variação cambial produz-se um floema variante (Fig. 1), ao passo que nas intercunhas permanece um floema normal (Fig. 1).

Parênquima crivocêntrico. Em muitas das espécies analisadas, o floema variante é caracterizado por uma grande quantidade de fibras que entremeiam os outros tipos celulares do floema. Nestes casos, é freqüente a presença de uma bainha de parênquima axial ao redor dos grupos de elementos de tubo crivado; a este parênquima deu-se o nome de parênquima crivocêntrico, similarmente ao termo proposto para os vasos (parênquima vasicêntrico) no xilema secundário (IAWA Committee 1989).

Reconstrução dos estados de caráter ancestrais e análise de contrastes independentes da filogenia

Toda a variação encontrada no floema foi delimitada em caracteres qualitativos ou quantitativos, de acordo com sua natureza. O percentual de parênquima axial e fibras do floema foi calculado utilizando o software ImageJ versão 1.39d (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>), a partir da área ocupada por estas células em uma grade de 50 μm^2 . Pelos menos quatro medições aleatórias foram realizadas por espécime. Uma média obtida a partir destas medidas foi utilizada para representar cada espécie. Neste estudo discutimos somente os dados extraídos para a abundância de parênquima e fibras (Tabela 1). Dados de área ocupada por elementos de tubo foram tratados em outro estudo (Pace capítulo 2). O número de áreas crivadas presente em 20 placas crivadas por espécie foram contadas a partir de secções longitudinais. Novamente, uma média foi calculada para representar a espécie.

A reconstrução dos caracteres ancestrais foi realizada utilizando a parcimônia e a máxima verossimilhança, implementados respectivamente no MacClade 4.06 (Maddison & Maddison 2003) e Mesquite 2.06 (Maddison & Maddison 2009), com os caracteres não ordenados. Além disso, os caracteres contínuos foram reconstruídos utilizando a parcimônia no Mesquite 2.06. Sempre que um caráter não era aplicável em alguma espécie, adicionou-se o estado “ausente”, de maneira a evitar que o programa interpretasse um caráter inaplicável como um caráter não amostrado (Maddison 1993). Quando os resultados em ambas inferências foram iguais, uma única reconstrução foi apresentada. Por outro lado, quando os diferentes algoritmos apresentavam resultados diferentes, ambas reconstruções foram apresentadas.

Análises de contrastes filogenéticos independentes foram realizadas utilizando o pacote PDAP (*Phylogenetic Diversity Analysis Program*) implementado no Mesquite 2.06 (Mildford et al. 2003) para testar a presença de tendências evolutivas independentes das relações filogenéticas entre as

espécies, calculando a tendência em aumentar ou diminuir os valores quantitativos a medida que se ascende em direção aos nós ancestrais mais recentes da filogenia.

Para tanto, uma filogenia robusta de Bignonieae foi usada como base (Lohmann 2006). Entretanto, dado que muitas das espécies aqui estudadas não foram amostradas por Lohmann (2006), colapsamos todas as espécies nos nós mais internos correspondentes a gêneros na última classificação do grupo (Lohmann no prelo). Posteriormente, editamos a árvore eliminando todos os táxons não amostrados. Reconstruções foram sempre realizadas na árvore com todos os terminais e naquela editada com somente as espécies estudadas e, como ambas apresentaram sempre as mesmas reconstruções, decidimos apresentar somente as reconstruções feitas em cima da árvore com as espécies amostradas.

RESULTADOS

CARACTERES POR TIPO CELULAR OU INCLUSÕES ENCONTRADOS NO FLOEMA SECUNDÁRIO DE BIGNONIEAE

Este estudo apresenta as modificações anatômicas sofridas por tipos celulares no floema normal e no variante de Bignonieae ao longo da diversificação do grupo. Todos os caracteres anatômicos delimitados estão sintetizados na Tabela I. Uma descrição detalhada de cada caráter é apresentada no texto abaixo.

FLOEMA NORMAL

Elementos de tubo crivado

Como visto em secção transversal, os elementos de tubo crivado do floema normal são geralmente achatados radialmente (Figs. 1A-B), mas eventualmente podem ser arredondados (Fig. 1B), com uma célula companheira. Os elementos de tubo estão normalmente arranjados radialmente, em múltiplos de 2-3 células (Fig. 1B), raramente solitários (Fig. 1A) ou em agrupamentos, e todos os tipos podem ser encontrados ocorrendo concomitantemente. Como visto em secção longitudinal, os elementos de tubo são geralmente menores que 500 μm . Um único caráter apresentou variação:

I – Presença de assemblages. *Assemblages* representam uma reunião de pequenos elementos de tubo, células companheiras e células parenquimáticas que ocorrem conjuntamente (Fig. 1A). Um assemblage inteiro costuma ter o mesmo tamanho de uma célula de parênquima axial (Fig. 1A), indicando que derivam de uma única célula mãe.

- **Assemblages ausentes** (Fig. 1A)
- **Assemblages presentes** (Fig. 1B)

A reconstrução de caracteres ancestrais revela que há múltiplas evoluções para *assemblages* no floema normal (Fig. 1C), tendo evoluído pelo menos 8 vezes em Bignonieae, com o ancestral tendo sido reconstruído como não possuidor de *assemblages*.

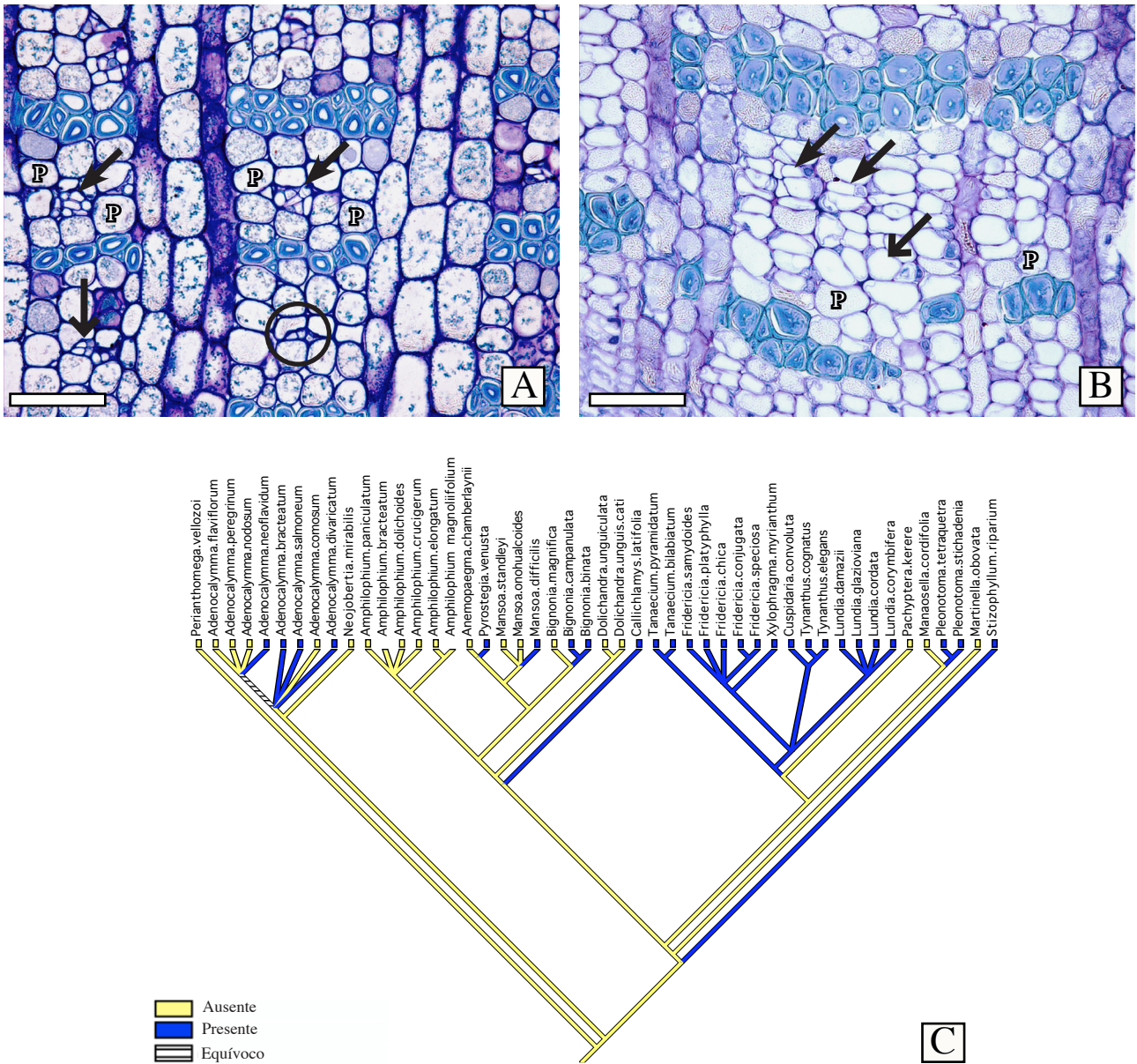


Fig. 1. Elementos de tubo crivado no floema normal. A. *Tynanthus cognatus*, secção transversal (ST), elementos de tubo achatados radialmente, em múltiplos de dois (→) ou ocorrendo juntos de células parenquimáticas compondo um *assemblage* (↔). Um *assemblage* tem as mesmas dimensões de uma única célula parenquimática vizinha. Elementos de tubo podem ser ainda solitários (círculo). B. *Bignonia magnifica* ST, floema sem *assemblages*, elementos de tubo achatados radialmente (→) e elemento de tubo arredondado (↔). C. Reconstrução da ocorrência de *assemblages* no floema normal. P = Parênquima axial. Escala: 100 µm.

Parênquima

O parênquima axial é abundante, ocupando geralmente mais de 50% da área total de floema (Tabela I), e com um arranjo radial partindo do câmbio para a periferia (Fig. 2A). Essa disposição radiada só é interrompida por elementos de tubo e pelas faixas de fibra do floema. Os raios são geralmente multisseriados no floema normal (Figs. 2A-B).

2 – Abundância de parênquima axial. A área total ocupada por parênquima axial foi calculada (Tabela I) e mapeada como um caráter contínuo (Fig. 2C).

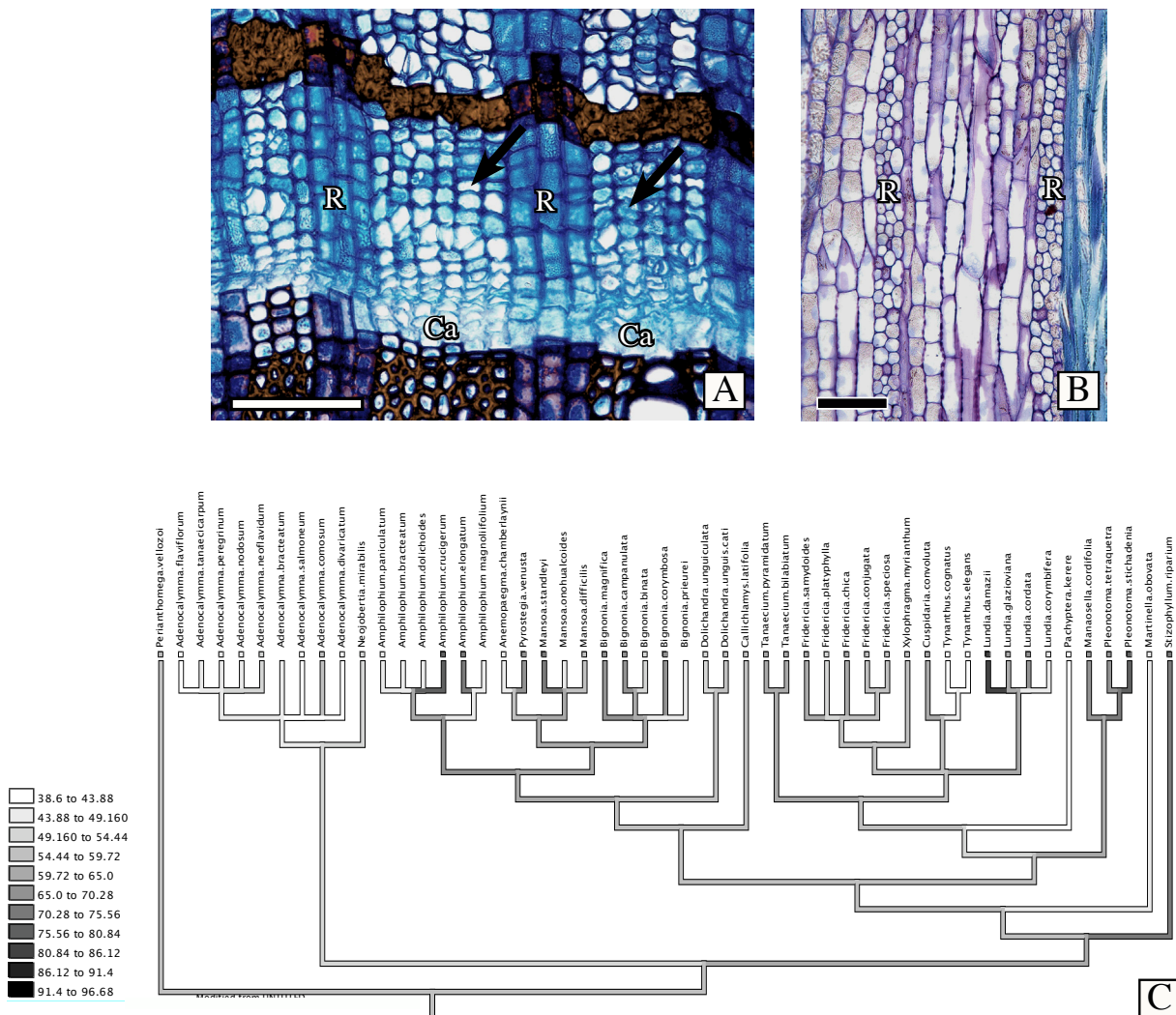


Fig. 2. Parênquima axial. A. *Fridericia chica* secção transversal (ST), parênquima axial (→) representa o tipo celular mais abundante do floema normal e está arranjado radialmente a partir da zona cambial. B. *Perianthomega vellozoi* secção tangencial, raios multisseriados. C. Reconstrução do percentual de parênquima por área total no floema normal. Ca = Câmbio, R = Raios, Escala: 100 µm.

A reconstrução dos caracteres ancestrais revela que há uma tendência geral em aumentar a abundância de parênquima axial dos nós mais basais para os nós mais apicais da filogenia (Fig. 2C). Essa tendência é confirmada pela análise de contrastes filogenéticos independentes, com $P < 0,05$.

Fibras

Faixas de fibras sempre estão presentes no floema normal, alternando com parênquima axial e elementos de tubo crivado e sendo tangencialmente interrompidas por raios (Figs. 3A-B). As fibras presentes nas bandas de fibras são geralmente mais espessas que aquelas encontradas no xilema, como visto em secção transversal (Figs. 3A-B).

3 – Espessura das faixas de fibras. As faixas de fibras no floema normal podem apresentar diferentes espessuras, sendo divididas em três grupos:

- **Estreitas:** faixas de fibras ≤ 3 células de largura (Fig. 3A)
- **Largas:** faixas de fibras ≥ 4 células de largura (Fig. 3B)
- **Ausentes:** não há fibras no floema normal (Fig. 3C)

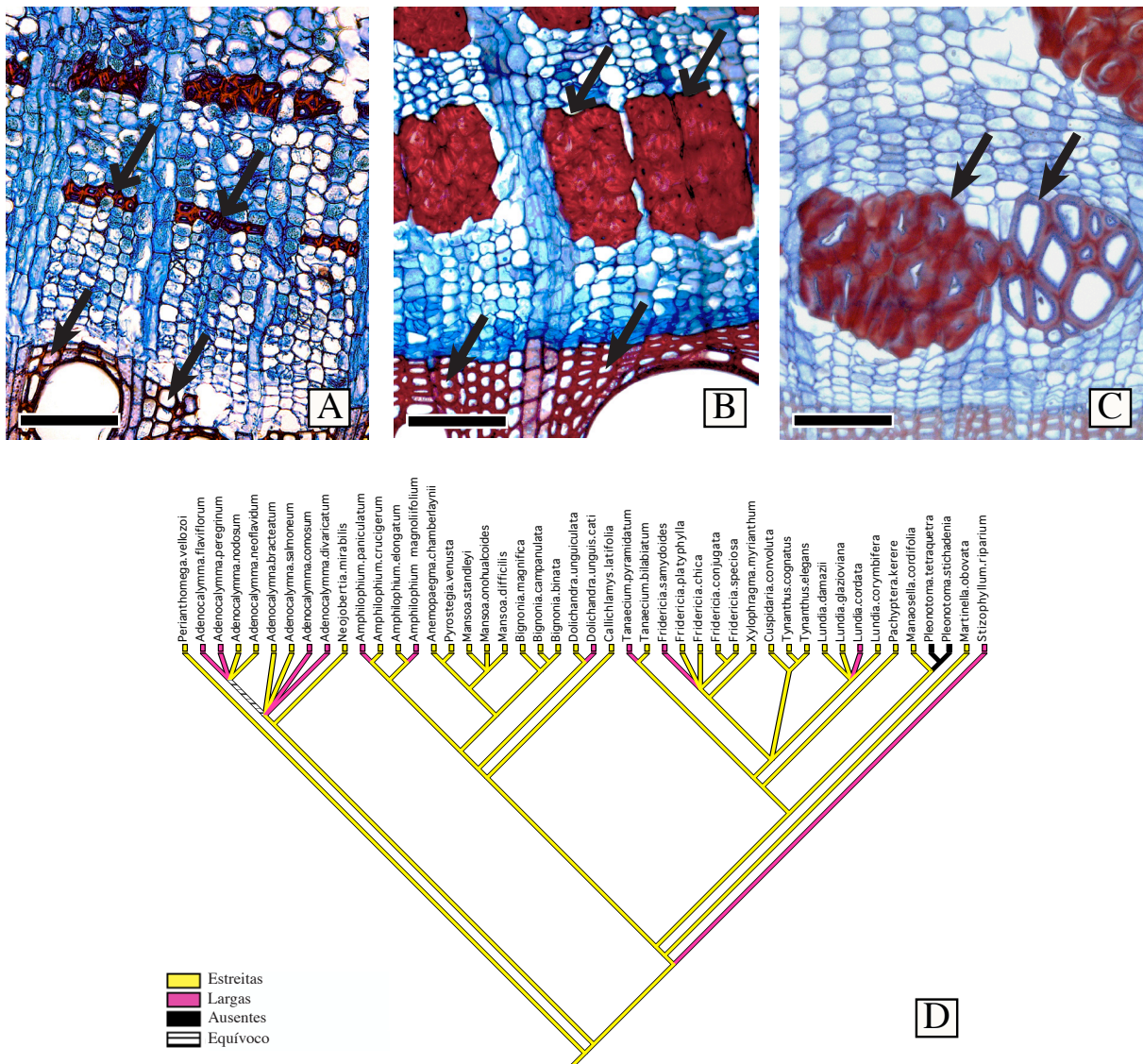


Fig. 3. Esclerênquima no floema normal. A. *Lundia corymbifera* seção transversal (ST), espécie com faixas de fibras estreitas. B. *Stizophyllum riparium* ST, espécie com faixas de fibras largas. Fibras do floema (→) são mais espessas que as fibras do xilema (→→). C. *Pleonotoma tetraquetra* ST, espécie sem fibras do floema, apresentando um floema com apenas esclereídes. D. Reconstrução da espessura das fibras no floema normal. Escala: 100 μ m.

Otimização do caráter sobre a filogenia (Fig. 3D) revela que a condição ancestral da tribo é a presença de faixas de fibras estreitas, com múltiplas evoluções de espécies com faixas de fibras mais largas (Fig. 3D) e *Pleonotoma* que não possui fibras (Fig. 3D), apresentando esclereídes em seu lugar (Fig. 3C).

FLOEMA VARIANTE

I – Degraus ao lado das cunha de floema. Em todas as espécies, degraus laterais se formam em ambos lados das cunhas de floema (Fig. 4). Estes degraus representam partes do câmbio normal ao lado das cunhas que muda de uma atividade normal para uma atividade variante. De acordo com o padrão que estes degraus assumem, dois estados de caráter são reconhecidos:

- **Simétricos:** cada lado da cunha de floema possuirá praticamente o mesmo padrão de degraus (Fig. 4A)
- **Assimétricos:** degraus de um dos lados da cunha são distintos dos degraus presentes do outro lado da cunha. Essa diferença se deve a que um dos lados inicia sua formação antes do outro (Fig. 4B)

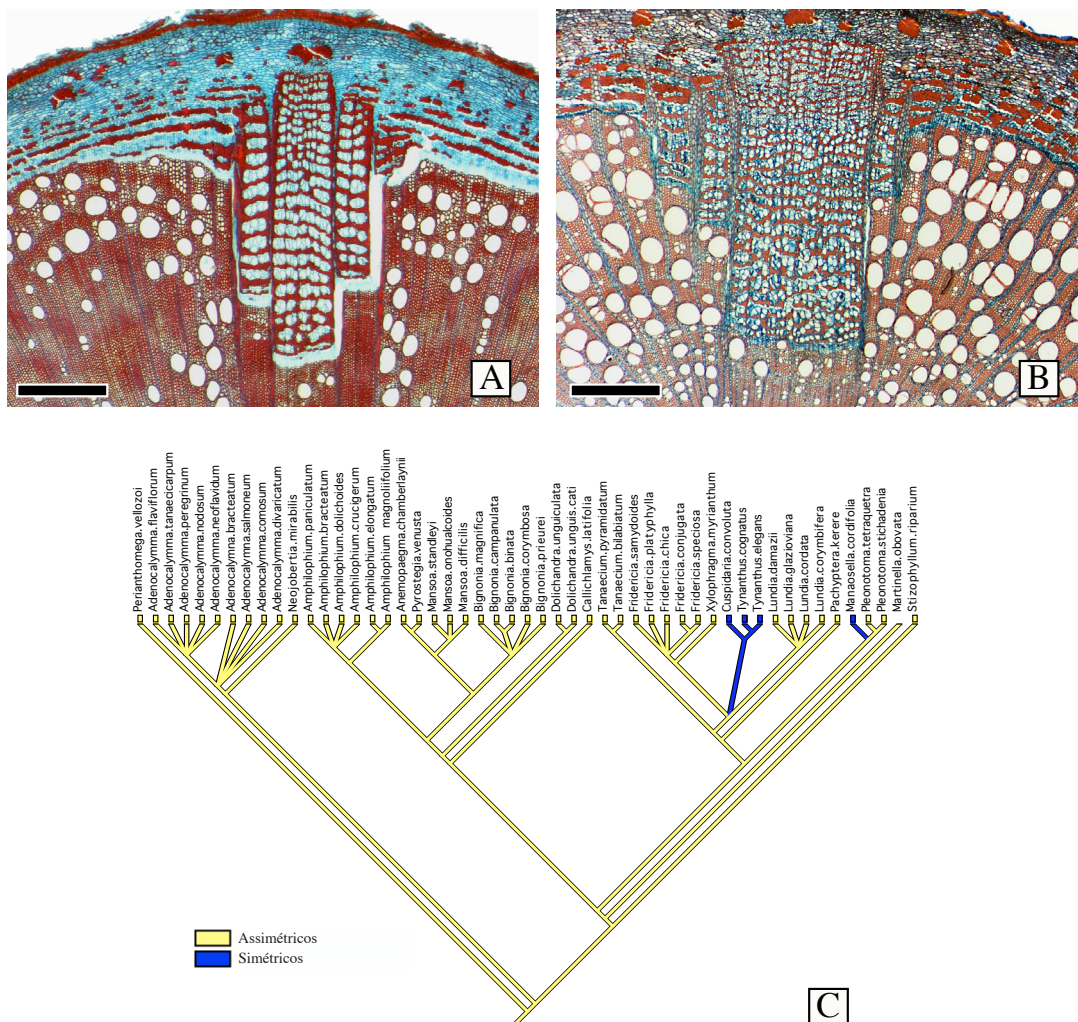


Fig. 4. Degraus laterais das cunhas de floema. A. *Tynanthus cognatus* seção transversal (ST), apresentando um padrão simétrico de degraus. B. *Fridericia samydoides* ST, apresentando um padrão assimétrico de degraus. C. Reconstrução do padrão de simetria dos degraus laterais nas cunhas de floema. Escala: A = 2 mm, B = 1,5 mm.

A reconstrução dos caracteres ancestrais (Fig. 4C) revela que degraus assimétricos correspondem à condição plesiomórfica da tribo, com duas evoluções independentes para cunhas com padrão simétrico de degraus (Fig. 4C).

2 – Raios limitantes. Em cada um dos lados das cunhas de floema e seus degraus, raios multisseriados, denominados raios limitantes, estão presentes (Fig. 5). Os raios limitantes cruzam todo floema variante (Fig. 5). Além disso, apesar de aparecerem como uma estrutura única, derivam em parte do câmbio normal, que se situa junto à cunha, e em parte do câmbio variante, no interior da cunha de floema. A parte derivada do câmbio normal origina a porção xilemática do raio e a porção derivada do câmbio variante origina sua porção floemática. Sendo assim, de acordo com seu padrão de lignificação, três grupos podem ser reconhecidos:

- Raios limitantes possuem apenas porção xilemática lignificada (Fig. 5A)
- Raios limitantes possuem porção xilemática e floemática lignificadas, porém com um grupo de células não lignificadas entre ambas (Fig. 5B)
- Raios limitantes não se lignificam em nenhuma porção (Fig. 5C)

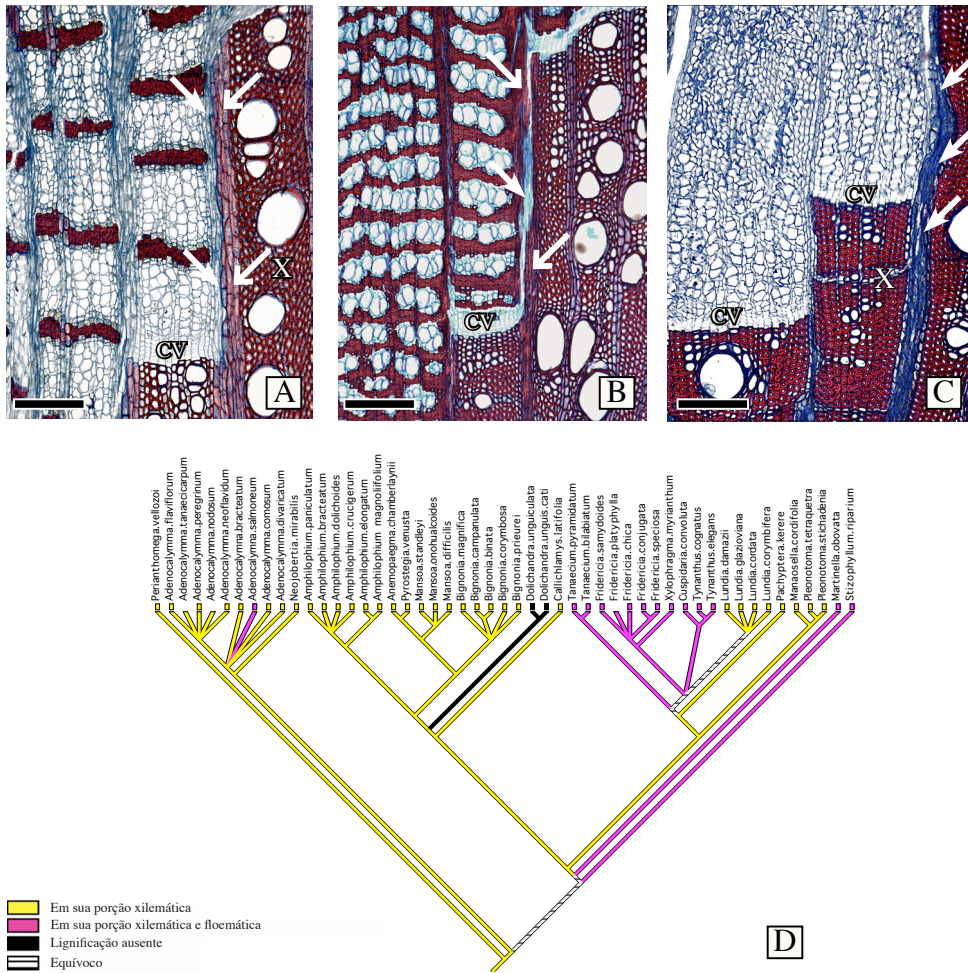


Fig. 5. Lignificação dos raios limitantes (floema variante). A. *Pyrostegia venusta* secção transversal (ST), raios limitantes lignificados apenas em sua porção xilemática (→), com porção floemática não lignificada (→). B. *Tynanthus elegans* ST, raios limitantes lignificados em sua porção xilemática e floemática (→), com um grupo de células não lignificadas no meio (→). C. *Dolichandra unguiculata* ST, raios limitantes não se lignificam (→). D. Reconstrução do tipo de lignificação dos raios limitantes. CV = Câmbio variante, X = xilema. Escala: 200 µm.

Reconstrução dos caracteres ancestrais revela que a condição ancestral para a tribo é a presença de raios limitantes que se lignificam apenas em sua porção xilemática (Fig. 5D), com pelo

menos três evoluções para uma lignificação tanto da porção xilemática quanto floemática (Fig. 5D) e uma única evolução para a presença de raios limitantes não lignificados em *Dolichandra* (Fig. 5D).

3 – Estrutura estratificada. Um tecido é considerado estratificado quando suas células se encontram camadas horizontais, com a porção final das células no mesmo nível, quando visto em secção tangencial. Três configurações diferentes existem em Bignonieae:

- **Ausente** (Fig. 6A)
- **Presente no parênquima axial** (Fig. 6B)
- **Presente no parênquima axial e radial** (Fig. 6C)

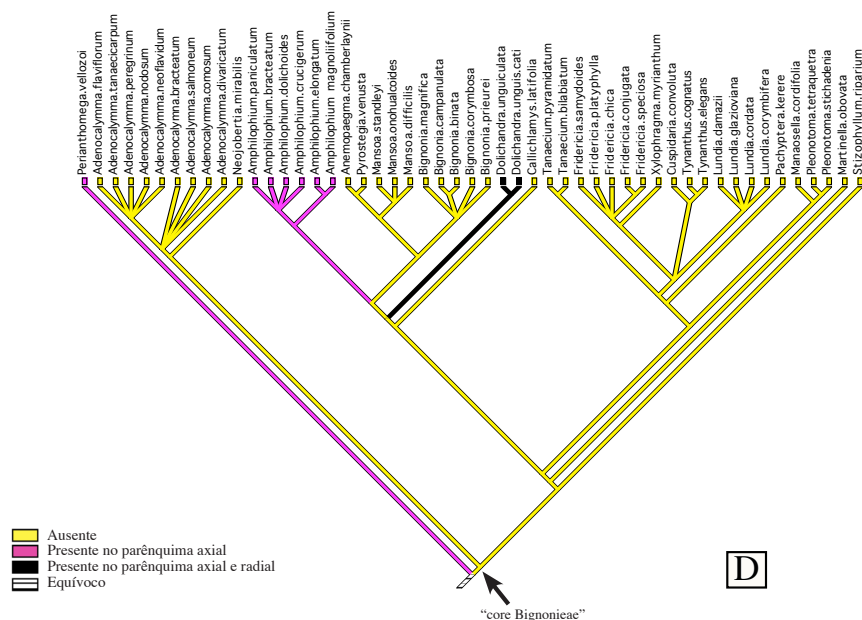
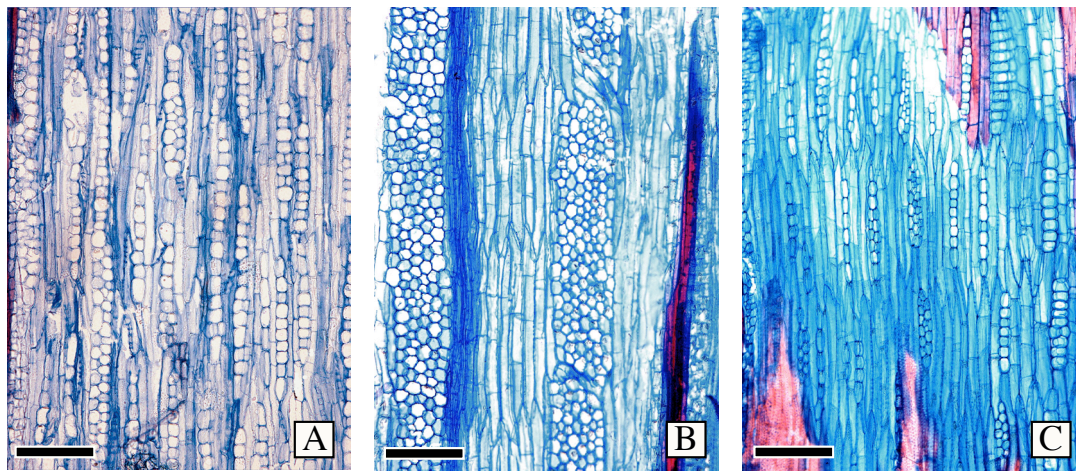


Fig. 6. Estratificação do floema variante. A. *Callilchlamys latifolia* secção tangencial (ST), sem estratificação. B. *Amphilophium elongatum* ST, parênquima axial estratificado. C. *Dolichandra unguis-cati* ST, parênquima axial e radial estratificados. D. Reconstrução do tipo de estratificação do floema variante. Escala: 200 μ m.

Reconstrução dos caracteres ancestrais revela que a condição ancestral para a tribo é ambígua, dado que *Perianthomega* possui estrutura estratificada do parênquima axial e o ancestral de Bignonieae não (Fig. 6D). Dentro das “core Bignonieae” há uma única evolução para a presença de

estratificação do parênquima axial e outra para a evolução de estratificação dos raios e parênquima axial (Fig. 6D).

Elementos de tubo crivado

Como visto em secção transversal, os elementos de tubo crivado da porção variante são geralmente arredondados, arranjados em múltiplos e mais raramente em agrupamentos ou solitários. Como visto em secção longitudinal, os elementos de tubo crivado são normalmente maiores que 500 μm . Células crivadas de raio são raras, mas foram encontradas em algumas espécies (Fig. 7), e provavelmente estão presentes em todas as espécies da tribo.

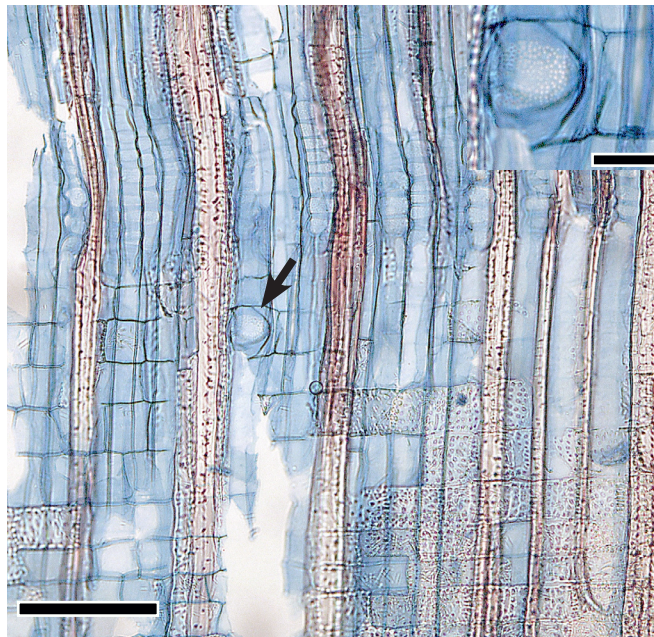


Fig. 7. *Stizophyllum riparium* secção radial mostrando uma célula crivada de raio (→) no floema variante. Note a placa crivada simples (detalhe acima à direita). Escala: 100 μm , detalhe: = 20 μm .

Em relação aos elementos de tubo crivado, dois caracteres foram delimitados no floema variante: o arranjo dos elementos de tubo e o tipo de placa crivada.

4 – Arranjo dos elementos de tubo. A maneira em que os elementos de tubo estão arranjados variada e podem ser reconhecidos três estados de caráter:

- **Difusos** (Fig. 8A)
- **Com uma tendência radial** (Fig. 8B)
- **Como uma tendência tangencial** (Fig. 8C)

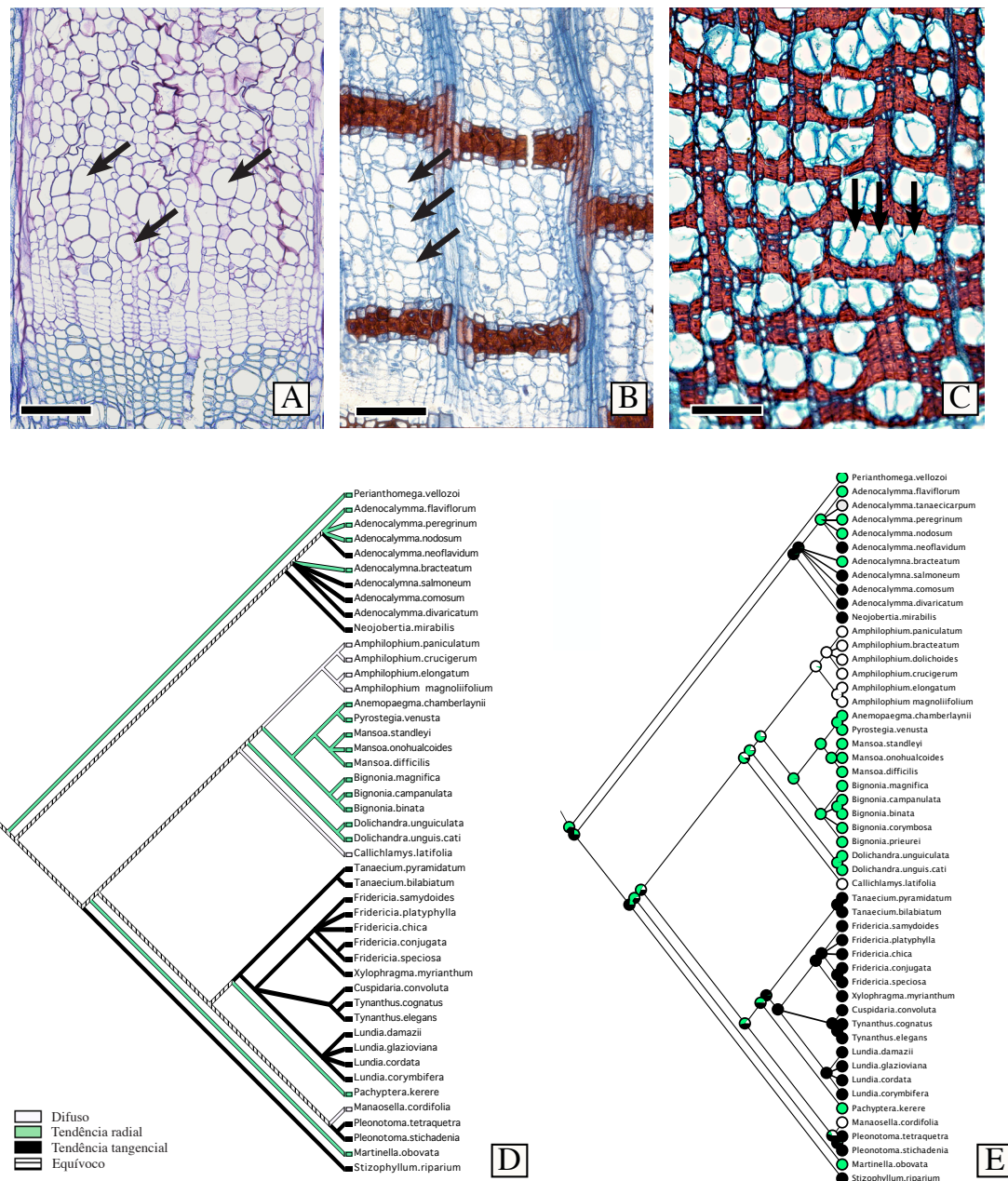


Fig. 8. Arranjo dos elementos de tubo crivado no floema variante. A. *Amphilophium crucigerum* secção transversal (ST), elementos de tubo difusos (→). B. *Mansoa difficilis* ST, elementos de tubo dispostos radialmente (→). C. *Cuspidaria convoluta* ST, com elementos de tubo dispostos tangencialmente (→). D. Reconstrução do tipo de arranjo dos elementos de tubo no floema variante. Escala: 100 µm.

A reconstrução dos caracteres ancestrais a partir da parcimônia (Fig. 8D) sugere múltiplas evoluções de todos os estados de caráter, com uma condição ambígua para o ancestral de Bignonieae (Fig. 8D). A reconstrução pela máxima verossimilhança (Fig. 8D), por sua vez, confere uma probabilidade de 60% de que o ancestral das Bignonieae possua um arranjo radial dos elementos de tubo (Fig. 8E). O ancestral de *Adenocalymma*, que na parcimônia também é reconstruído com ambigüidade (Fig. 8D), na máxima verossimilhança tem atribuída uma probabilidade de 96% de que seu ancestral possua arranjo tangencial dos elementos de tubo (Fig. 8E). Ambas reconstruções concordam em que houve múltiplas evoluções de todos os estados de caráter na tribo.

5 – Tipo de placa crivada. Como visto em secção radial, dois tipos de placas crivadas podem ser encontradas:

- **Maioria simples** (Fig. 9A)
- **Compostas** (Figs. 9B-C)

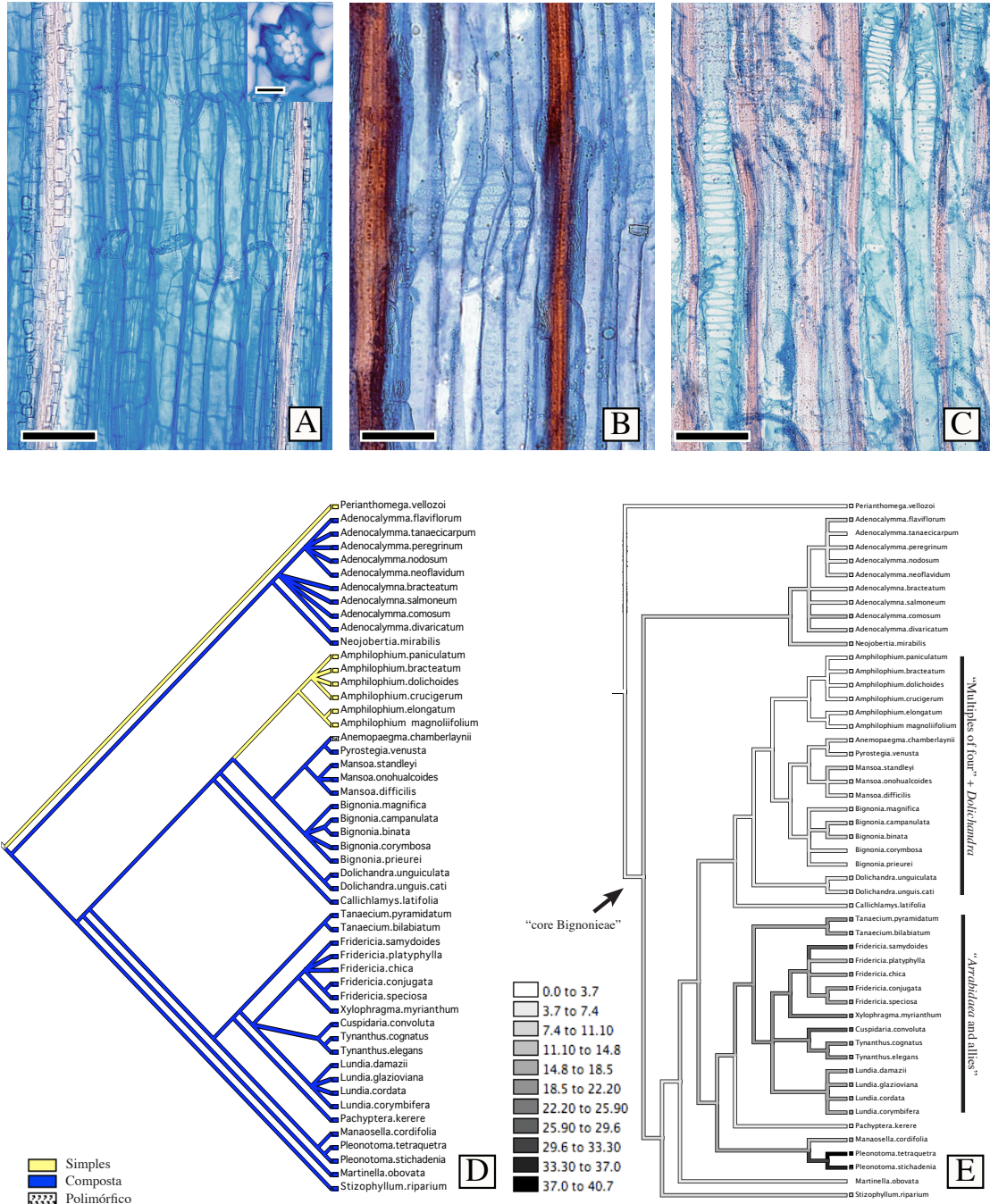


Fig. 9. Tipo de placa crivada. A. *Amphiphilium crucigerum* secção radial (SR), elementos de tubo com placas simples. Detalhe de uma palca simples em secção transversal (acima à direita). B. *Bignonia campanulata* SR, elementos de tubo com placas compostas com poucas áreas crivadas. C. *Fridericia samydoides* SR, elementos de tubo com placa compostas com muitas áreas crivadas. D. Reconstrução do tipo de placa. E. Reconstrução do número médio de áreas crivadas por placa. Escalas: 50 µm, detalhe = 15 µm.

A reconstrução dos caracteres ancestrais (Fig. 9D) revelam que a condição ancestral em Bignonieae é incerta, com iguais probabilidades de a placa ser simples ou composta, dado que *Perianthomega* apresenta placa simples e seu grupo irmão apresenta placas compostas (Fig. 9D). A

condição ancestral inferida para as “core Bignonieae”, entretanto, é a presença de placa composta, com uma única evolução para placas simples dentro de *Amphilophium* (Fig. 9D). Elementos de tubo crivado de placa composta, ademais, estão sempre presentes em elementos mais longos que aqueles nos quais estão presentes placas simples (Fig. 9A-C)

Dentro de placas crivadas compostas, entretanto, não todas possuem o mesmo número de áreas crivadas. Quando mapeamos o número de áreas crivadas por placa (caráter contínuo, Tabela I) para cada uma das espécies, obtemos que a condição ancestral da tribo é apresentar cerca de três áreas crivadas por placa, ao passo que dentro da tribo os elementos de tubo estão evoluindo em duas direções opostas (Fig. 9E). Por um lado, no clado que contém as “Multiples of four” + *Dolichandra* há uma tendência para a diminuição do número de áreas crivadas a medida que ascendemos nos nós da filogenia (Fig. 9E), com *Amphilophium* apresentando praticamente somente elementos com placa simples e com um ancestral inferido como possuindo duas áreas crivadas (Fig. 9E). Por outro lado, no clado “*Arrabidaea* and allies” e nos gêneros *Manaosella* e *Pleonotoma* um cenário oposto está presente (Fig. 9E), com uma clara tendência para o aumento do número de placas crivadas a medida que nos aproximamos dos nós ancestrais mais recentes da filogenia, com um número máximo reconstruído para o ancestral de *Pleonotoma* e *Manaosella*, com aproximadamente 20 áreas crivadas por placa e *Pleonotoma tetraquetra* com mais de 30 áreas crivadas por placa (Tabela I).

Células companheiras

6 – Número de células companheiras e sua posição. Elementos de tubo crivado estão sempre acompanhados por células companheiras. Como visto em secção longitudinal, em Bignonieae as células companheiras são subdivididas, estando em fileiras de 3-4 células, tão longas quanto os elementos. Quando vistas em secção transversal, três diferentes configurações relativas às células companheiras podem ser encontradas:

- **Uma célula companheira por elemento de tubo** (Fig. 10A)
- **Duas a três células companheiras por elemento de tubo, posicionadas em um mesmo lado do elemento** (Fig. 10B)
- **Duas células companheiras por elemento de tubo, uma de cada lado do elemento** (Fig. 10C)

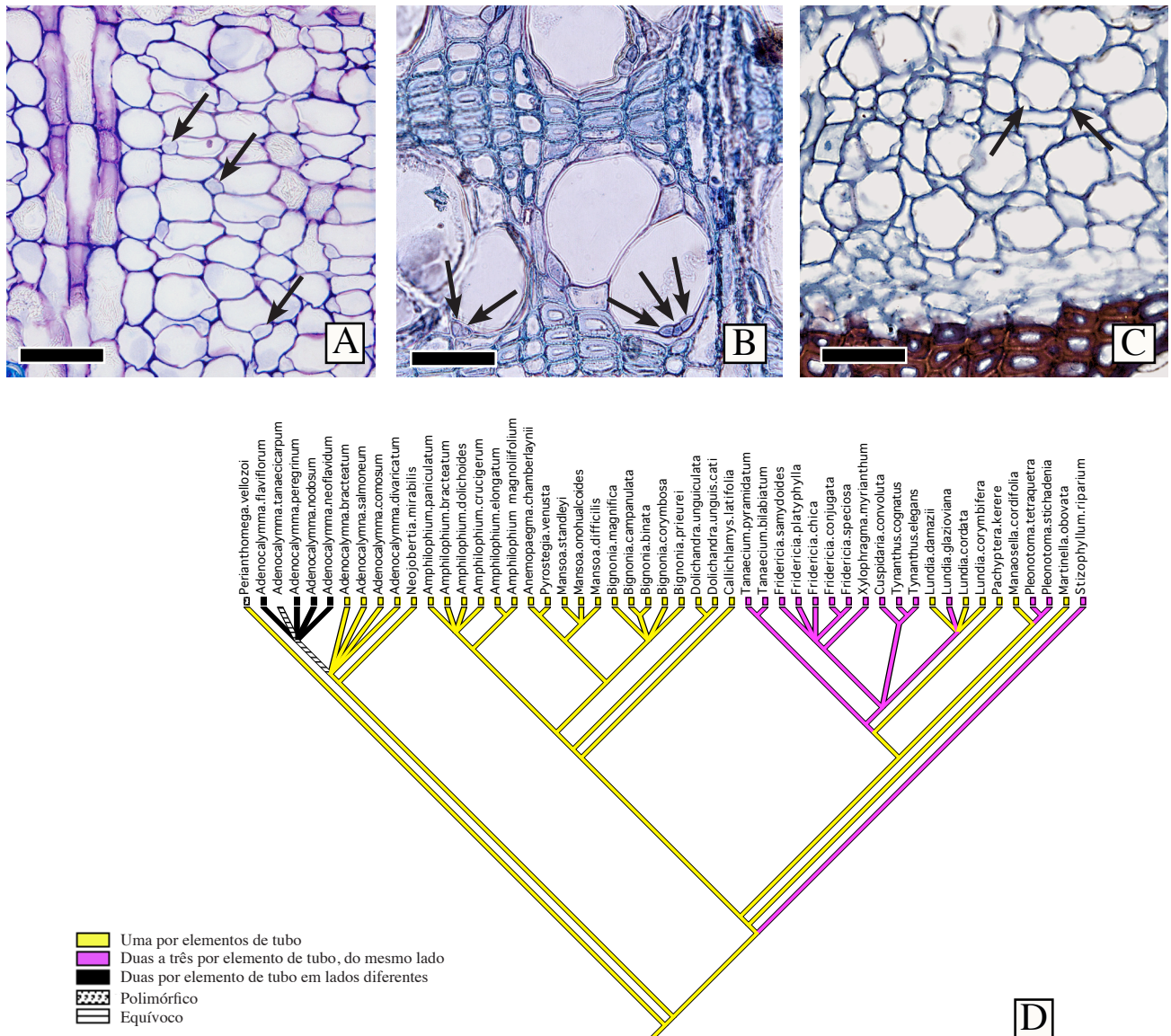


Fig. 10. Número de células companheiras por elemento de tubo crivado e sua posição no floema variante. A. *Perianthomega vellozoi* secção transversal (ST), uma célula companheira por elemento de tubo (→). B. *Tynanthus cognatus* ST, duas a três células companheiras posicionadas do mesmo lado do elemento de tubo (→). C. *Adenocalymma flaviflorum* ST, com duas células companheiras por elemento de tubo, posicionadas em lados diferentes do elemento de tubo (→). D. Reconstrução do número de células companheiras e sua posição no floema variante. Escala: 50 µm.

A reconstrução dos caracteres ancestrais (Fig. 10D) revela que a condição ancestral para a tribo é possuir apenas uma célula companheira por elemento de tubo, com três evoluções em paralelo de elementos de tubo com duas a três células companheiras posicionadas em um mesmo lado do elemento de tubo e duas evoluções para elementos de tubo com duas células companheiras posicionadas em lados diferentes do elemento de tubo, uma em *Perianthomega* (polimórfica) e uma em *Adenocalymma* (Fig. 10D).

Parênquima

7 – Abundância do parênquima axial. O parênquima axial geralmente ocupa menos de 50% da área total no floema variante (Tabela I). Fileiras radiais de 4-7 células são comuns em todas as espécies, intercaladas com elementos de tubo crivado (Fig. IIA). O percentual da área ocupada no floema variante foi calculado e mapeado como um caráter contínuo na filogenia de Bignonieae.

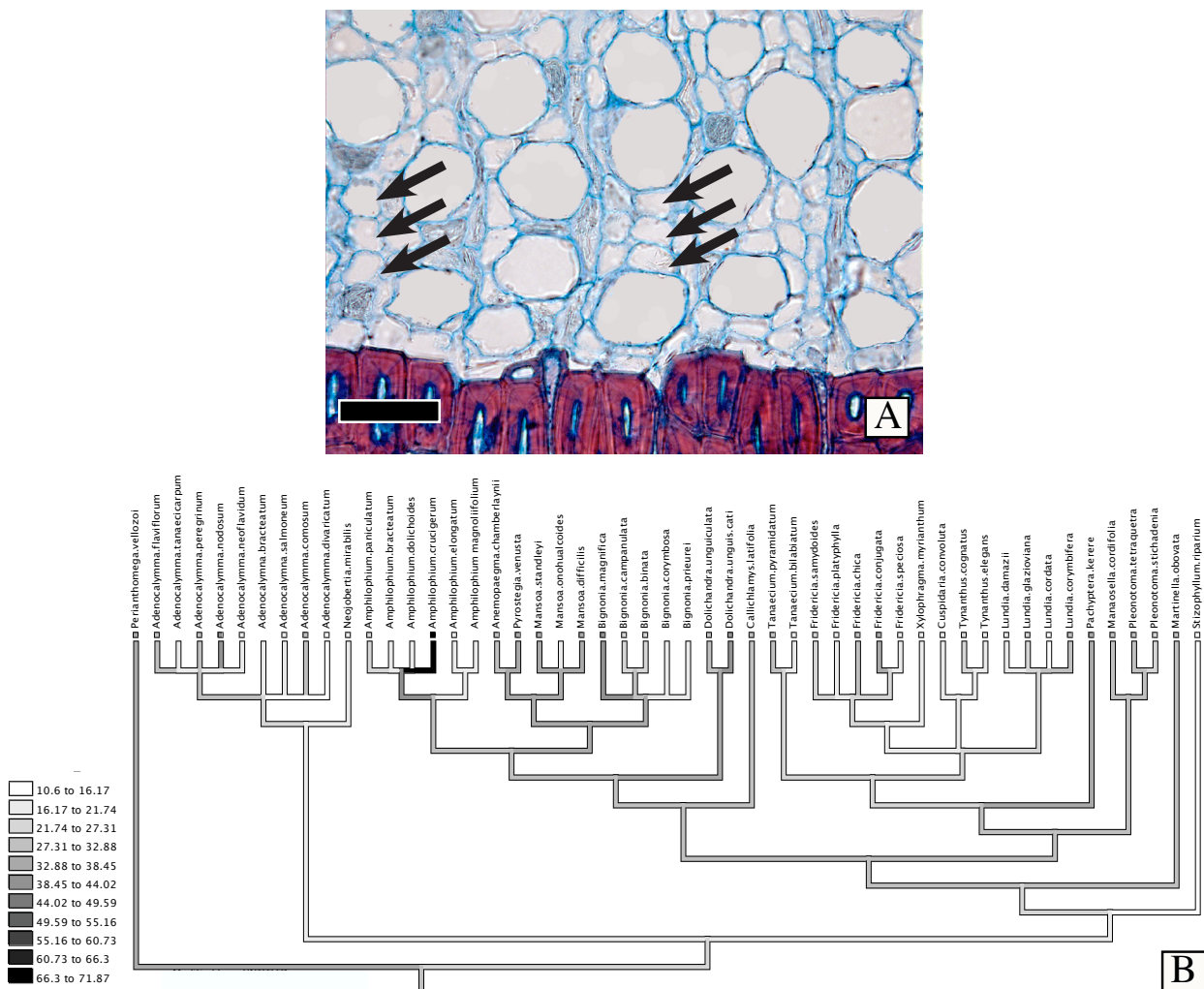


Fig. 11. Parênquima axial no floema variante. A. *Manaosella cordifolia* secção transversal, fileiras radiais de parênquima axial (→). B. Reconstrução do percentual de parênquima axial por área total do floema variante. Escala: 50 µm.

A reconstrução dos caracteres ancestrais (Fig. 11B) revela que o parênquima axial varia aleatoriamente no floema variante, com táxons de valores altos ao lado de táxons de valores baixos ao longo de toda a filogenia (Fig. 11B). A ausência de tendências evolutivas é, ademais, confirmada pela análise de contrastes independentes ($P > 0,05$).

8 – Tipo de parênquima. Além das fileiras radiais de parênquima axial comum a todas as espécies, outros tipos de parênquima axial podem ser encontrados no floema variante:

- **Difuso:** células entremeadas em meio aos elementos de tubo crivado (Fig. 12A)
- **Crivocêntrico:** formando uma bainha ao redor dos elementos de tubo crivado (Fig. 12B)

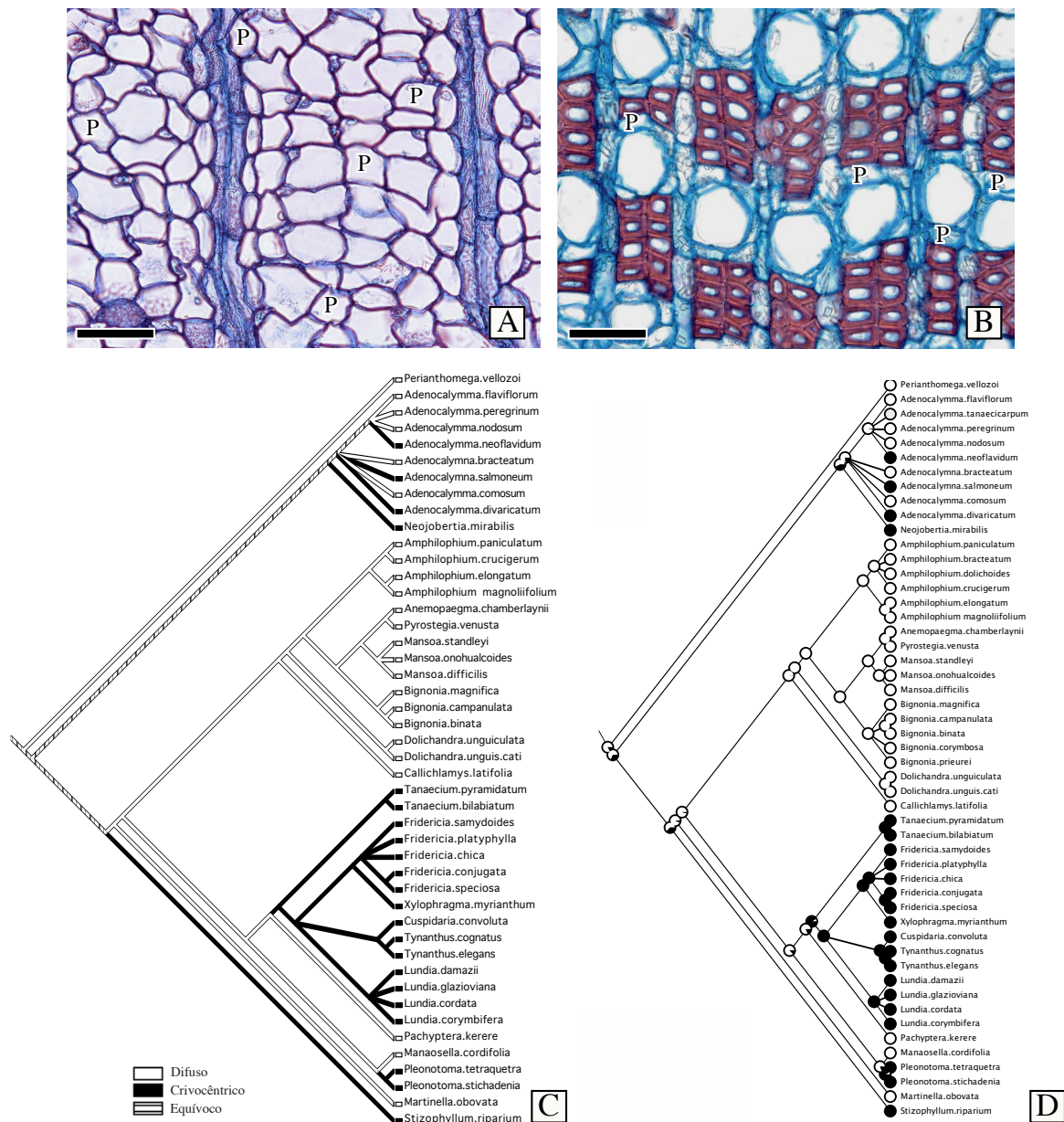


Fig. 12. Tipo de parênquima no floema variante. A. *Perianthomega vellozoi* secção transversal (ST), parênquima difuso. B. *Neojobertia* sp. nov. ST, parênquima crivocêntrico. C. Reconstrução do tipo de parênquima no floema variante usando a parcimônia. D. Reconstrução do tipo de parênquima usando a máxima verossimilhança. Escala: 50 μ m.

A reconstrução dos caracteres ancestrais utilizando a parcimônia (Fig. 12C) indica que o parênquima crivocêntrico teria evoluído independentemente ao menos cinco vezes na tribo (Fig. 12C). Uma condição ambígua é reconstruída para o ancestral da tribo. A reconstrução utilizando máxima verossimilhança, por outro lado, indica uma probabilidade maior de 50% para que o ancestral de Bignonieae possua um parênquima difuso (Fig. 12D).

9 – Lignificação dos raios floemáticos. Raios floemáticos são unisseriados e ao cruzarem o floema variante podem ser reconhecidos três estados de caráter, de acordo com seu padrão de lignificação:

- **Ausente** (Fig. 13A)
- **Presente somente ao cruzar as faixas de fibras** (Figs. 13B)
- **Presente em porções aleatórias:** as células radiais lignificam-se aleatoriamente; algumas células não se lignificam quando cruzam as faixas de fibras, enquanto outras se lignificam longe das faixas de fibras ou mesmo próximas ao câmbio (Fig. 13C)

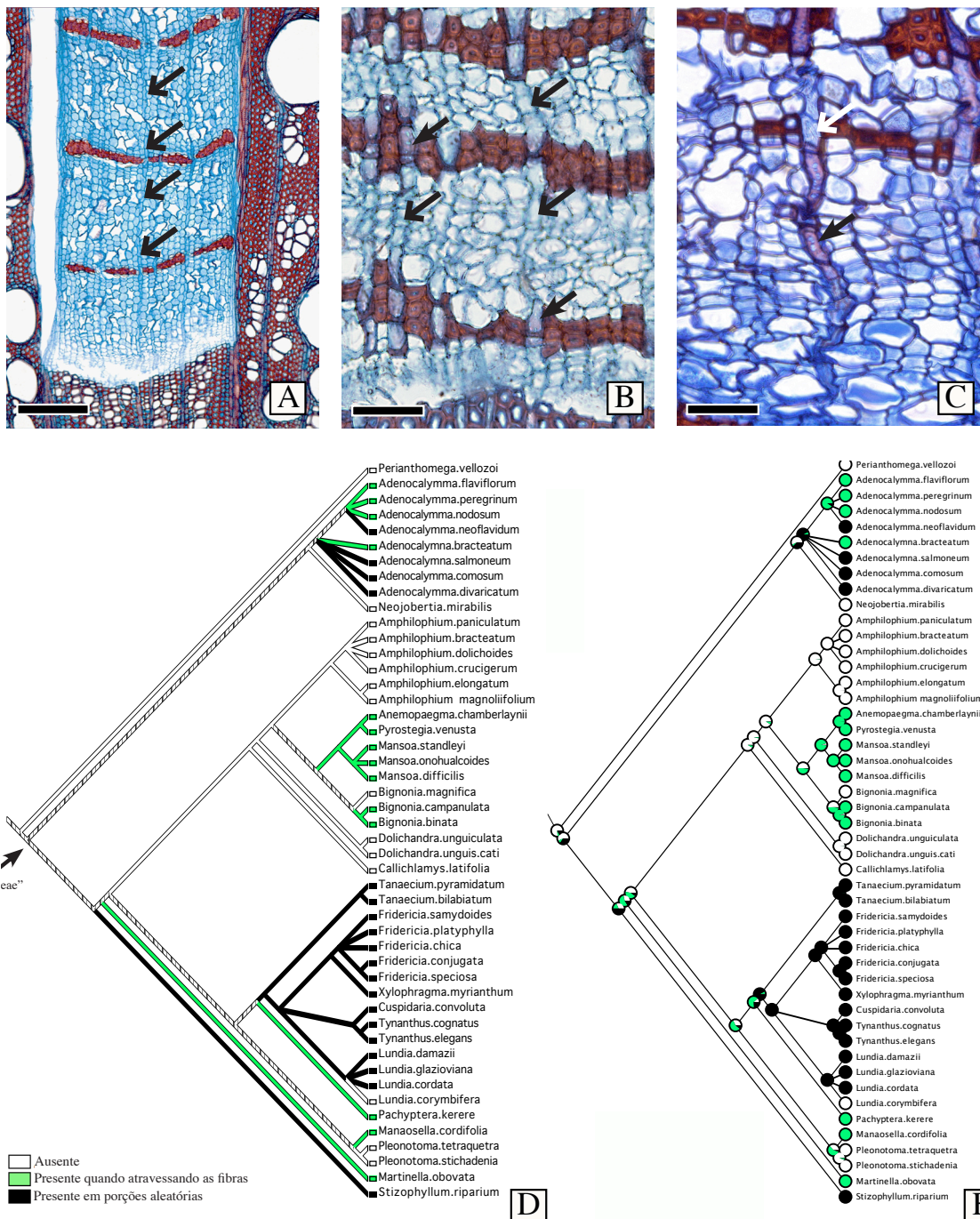


Fig. 13. Lignificação dos raios no floema variante. A. *Amphilophium crucigerum* secção transversal (ST), raios não se lignificam (→). B. *Adenocalymma peregrinum* ST, raios se lignificam quando tocam as fibras (→→), mantendo-se não lignificados em outras porções (→). C. *Tanaecium pyramidatum* TS, com células lignificadas (→→) e não lignificadas (→) distribuídas aleatoriamente. D. Reconstrução da lignificação dos raios usando a parcimônia. E. Reconstrução do tipo de lignificação dos raios utilizando a máxima verossimilhança. Escala: A = 200 µm, B-C = 50 µm.

A reconstrução dos caracteres ancestrais usando a parcimônia (Fig. 13D) revela que houve múltiplas evoluções dos diferentes tipos de lignificação ao longo da tribo, sem reconstruir um caráter ancestral nem para Bignonieae nem para as “core Bignonieae” (Fig. 13D). A mesma reconstrução usando a máxima verossimilhança (Fig. 13E), por sua vez, encontra uma probabilidade de 76% de que o ancestral de Bignonieae possua raios que não se lignificam, nem mesmo ao cruzar as faixas de fibras. Outros nós que também são reconstruídos como ambíguos na parcimônia, como o ancestral de *Pleonotoma* e *Manaosella*, é inferido com uma probabilidade de 54% de possuir raios que se lignificam ao cruzar as faixas de fibras, ao passo que o ancestral do clado “Multiples of four s.s.” é inferido com uma probabilidade de 96% de que possua raios que não se lignificam (Fig. 13E).

Fibras

As fibras do floema são em geral mais espessas que as do xilema, como visto em secção transversal (Figs. 13A-B, 14A).

10 – Abundância de fibras. De acordo com a abundância de fibras é possível distinguir qualitativamente o floema variante em três grupos:

- **Não fibroso:** marcado pela presença de faixas de fibras com de três a cinco células de espessura, alternando-se radialmente por mais de 10 células de parênquima axial e elementos de tubo crivado entre elas (Fig. 14A)
- **Semi-fibroso:** apresentando faixas de fibras onduladas, geralmente com um formato em U, gerado pela presença de mais células nas bordas da faixa do que no centro. Estas faixas de fibras se alternam com menos de 10 células de parênquima axial e elementos de tubo entre elas (Fig. 14B)
- **Fibroso:** as fibras formam um pano de fundo no qual os demais tipos celulares se encontram dispersos. É difícil o reconhecimento de faixas de fibras (Fig. 14C).

A reconstrução dos caracteres ancestrais (Fig. 14D) mostra que houve múltiplas evoluções dos estados de caráter delimitados para a abundância de fibras em Bignonieae (Fig. 14D), com o estado não fibroso sendo reconstruído como ancestral na tribo (Fig. 14D)

Quando utilizados os dados quantitativos da abundância de fibra por área total (Tabela 1, Fig. 14E) vemos que pelo menos cinco clados em Bignonieae estão evoluindo gradualmente para uma maior abundância de fibras (Fig. 14E), com os grupos mais fibrosos sendo o clado “*Arrabidaea* and allies”, o clado *Manaosella* e *Pleonotoma* e os gêneros *Stizophyllum* e *Adenocalymma*. O ancestral do clado “*Arrabidaea* and allies” é inferido como possuindo 32% do floema ocupado por fibras (Fig. 14E), com duas espécies: *Lundia cordata* e *Lundia glazioviana* apresentando floemas com mais de 50%

da área total ocupada por fibras (Tabela I). Um cenário oposto é encontrado no clado “Multiples of four” + *Dolichandra*, no qual observa-se uma tendência gradual à diminuição do percentual de fibras à medida que se aproximam os nós mais recentes da filogenia (Fig. 14E), chegando a um mínimo em *Amphilophium*, cujo ancestral é reconstruído como possuindo menos de 5% da área total do floema ocupada por fibras (Fig. 14E). Uma espécie em particular, *Amphilophium elongatum*, possui menos de 2% de fibras por área total no floema secundário (Tabela I). O ancestral de Bignonieae é inferido como possuindo 17% da área total do floema ocupada por fibras.

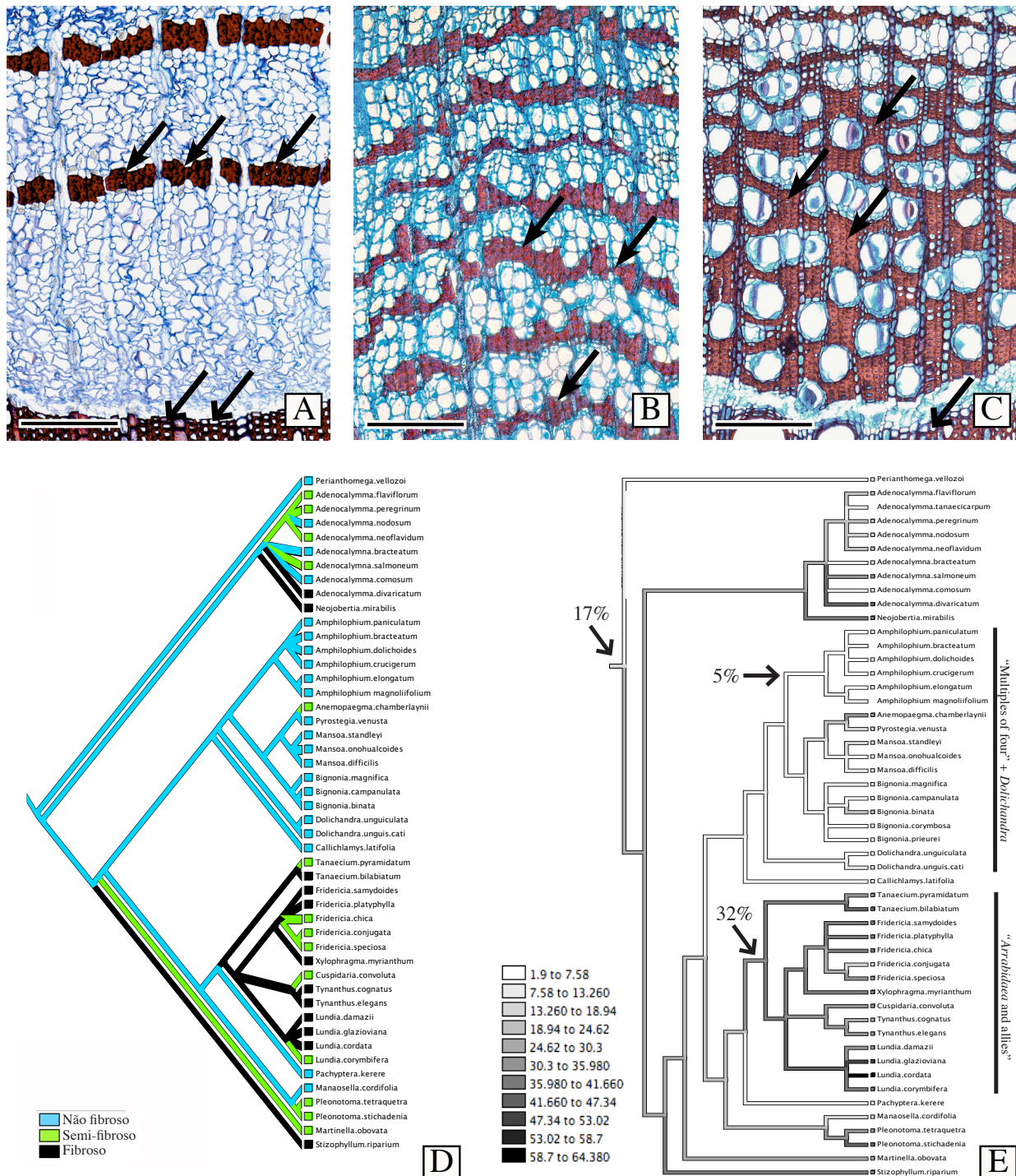


Fig. 14. Tipos de floema de acordo com a abundância de fibras (floema variante). A. *Callichlamys latifolia* seção transversal (ST), floema não fibroso, com mais de 10 células de parênquima axial e elementos de tubo entre bandas de fibras (→). Note que as fibras do floema (→) são mais espessas que as fibras do xilema (→). B. *Adenocalymma comosum* ST, floema semi-fibroso, com menos de 10 célula de parênquima axial e elementos de tubo entre bandas de fibras. Note o formato em U das bandas de fibras. C. *Xylophragma myrianthum* ST, floema fibroso, com as fibras entremeando todas as demais células. D. Reconstrução dos tipos de fibra no floema variante. E. Reconstrução do percentual de fibras por área total no floema variante. Escala: A-B = 200 µm, C = 120 µm.

INCLUSÕES ENCONTRADAS TANTO NO FLOEMA NORMAL QUANTO NO VARIANTE

Cristais

I – Cristais no parênquima axial e radial.

- Ausentes
- Presentes exclusivamente nas células não lignificadas (Fig. 15A)
- Presentes exclusivamente nas células lignificadas (Fig. 15B)
- Presentes tanto nas células lignificadas quanto não lignificadas

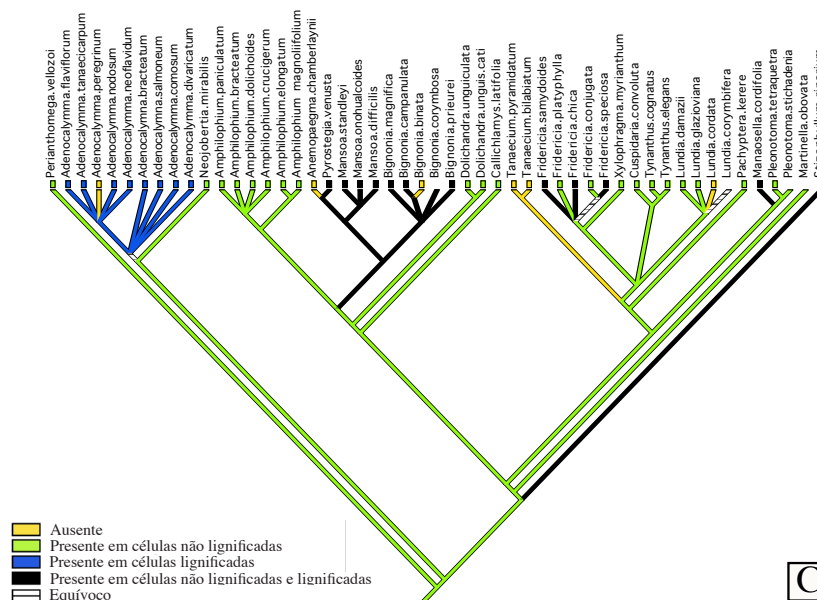
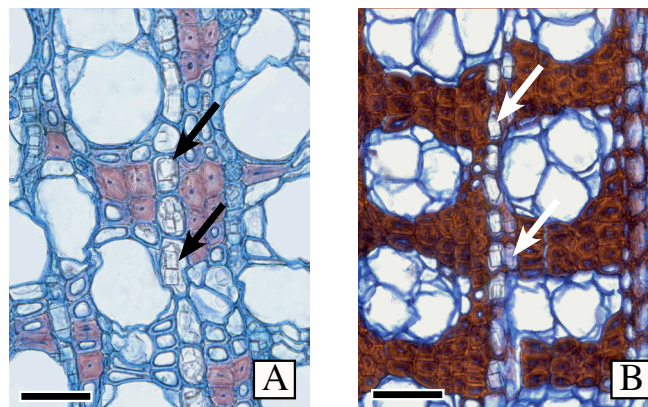


Fig. 15. Cristais no parênquima axial e radial. A. *Pleonotoma tetraquetra* seção transversal (ST), cristais prismáticos presentes nas células não lignificadas (→). B. *Adenocalymma divaricatum* ST, cristais prismáticos nas células lignificadas (→). C. Reconstrução da presença e local de ocorrência das fibras no floema variante. Escala: A-B = 45 μ m.

A reconstrução dos caracteres ancestrais (Fig. 15C) revela que o estado de caráter plesiomórfico reconstruído para a tribo é a presença de cristais nas células parenquimáticas não lignificadas (Fig. 15C), com uma única evolução em *Adenocalymma* para cristais exclusivamente nas células parenquimáticas lignificadas (Fig. 15C) e pelo menos quatro evoluções independentes para

cristais tanto nas células lignificadas quanto não lignificadas (Fig. 15C).

2 – Tipo de cristal no parênquima axial e radial. Três estados de caráter distintos podem ser delimitados:

- **Ausentes**
- **Aciculares** (Fig. 17A)
- **Prismáticos** (Fig. 17B)
- **Estiloidais** (Fig. 17C)

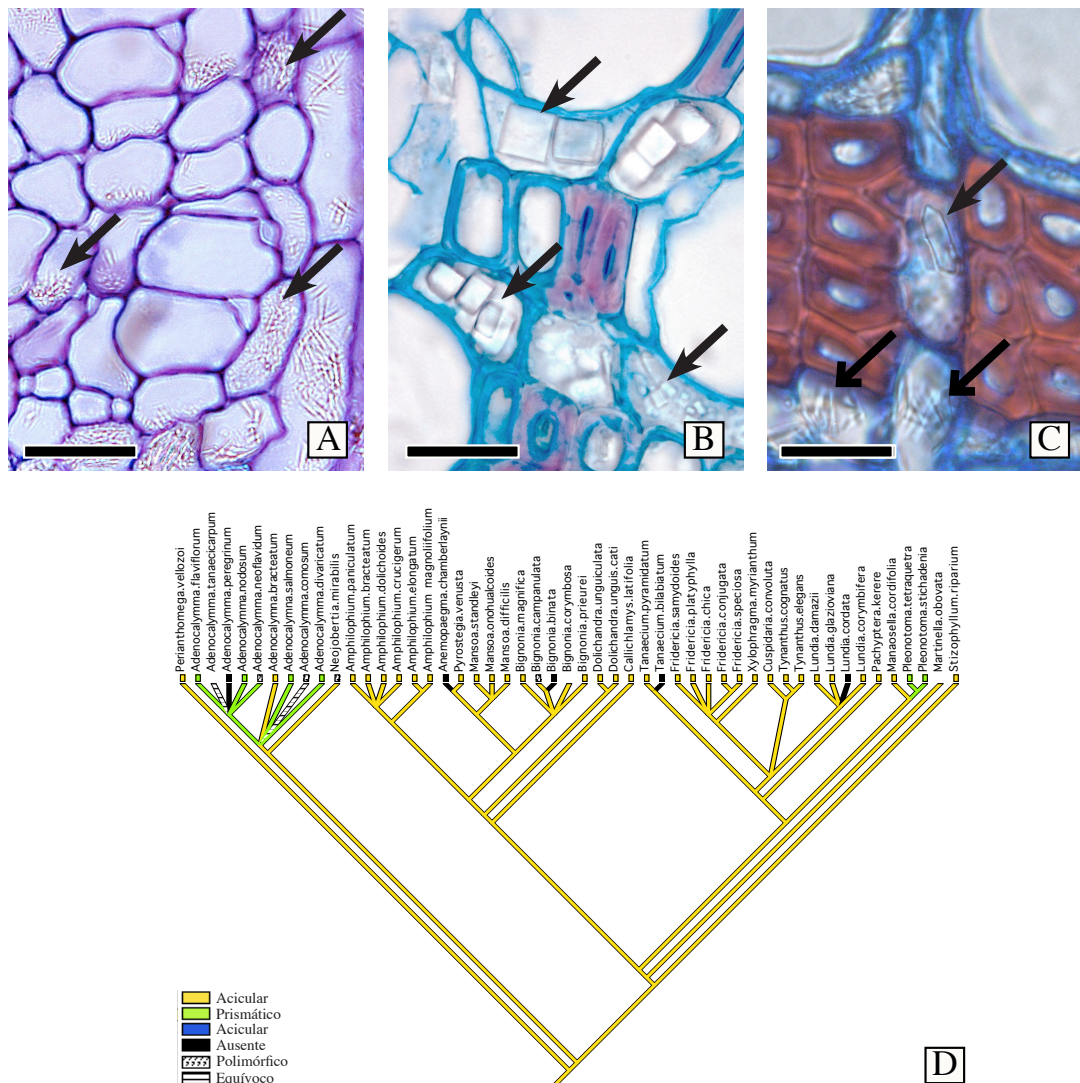


Fig. 16. Tipo de cristal no parênquima axial e radial. A. *Perianthomega vellozoi* seção transversal (ST), cristais aciculares (→). B. *Pleonotoma tetraquetra* ST, cristais prismáticos (→). C. *Neojobertia mirabilis* ST, cristais estiloidais (→) e aciculares (→). D. Reconstrução dos tipos de cristal presentes no floema variante. Escala: A-B = 30 µm, C = 20 µm.

A reconstrução dos caracteres ancestrais (Fig. 16D) revela que o estado plesiomórfico para a tribo é possuir cristais aciculares (Fig. 16D), com duas evoluções independentes para cristais prismáticos, uma em *Adenocalymma* e outra em *Pleonotoma* (Fig. 16D). Cristais estiloidais foram encontrados em somente quatro espécies: *Adenocalymma comosum*, *Adenocalymma neoflavidum*,

Bignonia campanulata e *Neojobertia mirabilis*. Entretanto, todas estas espécies são polimórficas (Figs. 16C-D), estando os cristais estiloidais associados aos cristais aciculares. Sendo assim, esse caráter não é reconstruído.

3 – Bainha cristalífera. Parênquima cristalífero pode estar presente formando uma bainha ao redor das faixas de fibras

- **Ausente**
- **Presente** (Figs. 17A-B)

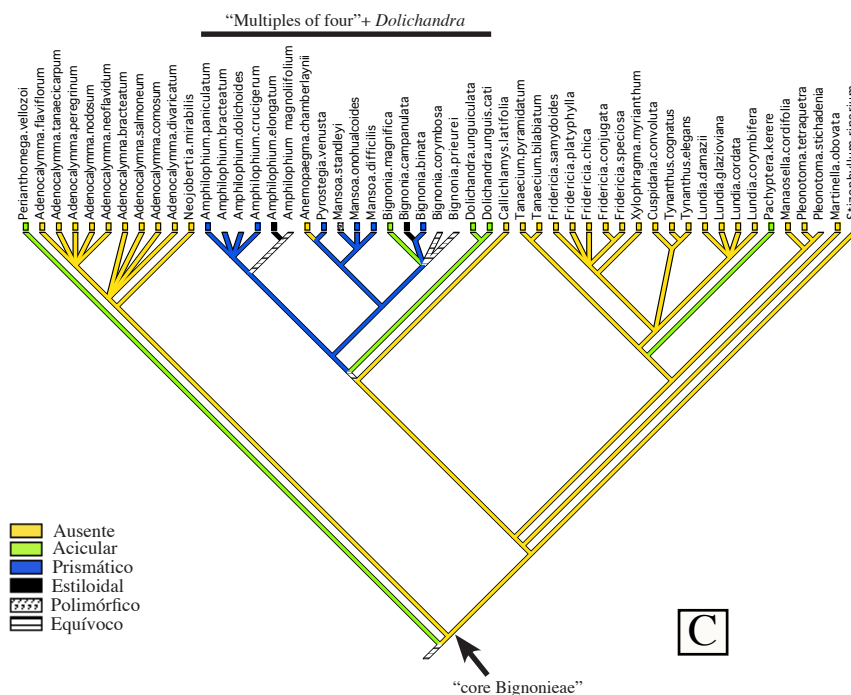
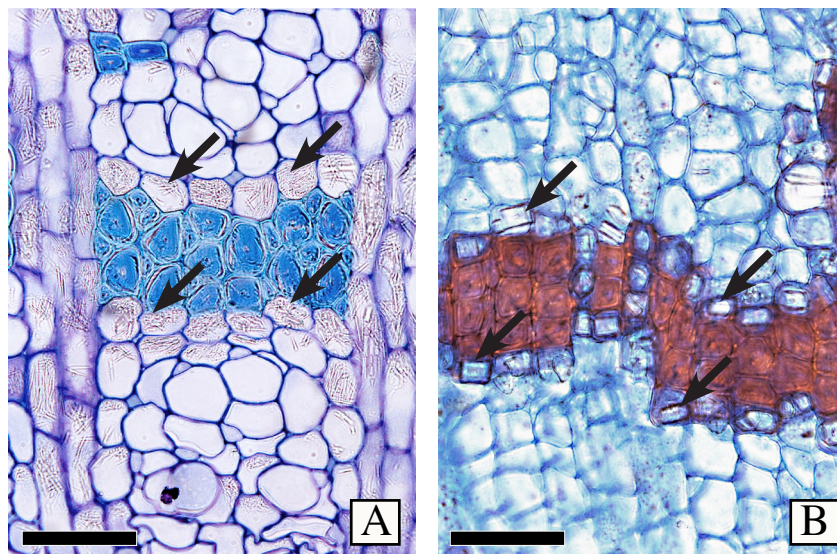


Fig. 17. Presença de bainha cristalífera ao redor das faixas de fibras e tipo de cristal. A. *Perianthomega vellozoi* secção transversal (ST), bainha cristalífera com cristais aciculares (→). B. *Mansoa standleyi* ST, bainha cristalífera com cristais prismáticos e estiloidais (→). C. Reconstrução dos tipos de cristal presentes na bainha cristalífera. Escala: 50 µm.

A reconstrução dos caracteres ancestrais (Fig. 17C) revela que a condição ancestral para a tribo é ambígua, uma vez que *Perianthomega* apresente bainha cristalífera e o ancestral das “core Bignonieae” é reconstruído como não as possuindo. Dentro das “core Bignonieae”, contudo, duas evoluções em paralelo são inferidas para esse caráter, uma dentro do clado das “Multiple of four”+ *Dolichandra*, com uma reversão, e outra em *Pachyptera* (Fig. 17C).

4 – Tipo de cristal na bainha cristalífera. Três tipos distintos de cristais podem ser encontrados nas bainhas cristalíferas:

- **Aciculares** (Fig. 17A)
- **Prismáticos** (Figs. 17B)
- **Estiloidais**

A reconstrução dos caracteres ancestrais (17C) revela que entre as espécies com bainha cristalífera, o estado de caráter mais comum é apresentar cristais prismáticos (Fig. 17C). Uma única evolução é inferida para cristais prismáticos, ao passo que múltiplas evoluções são inferidas tanto para cristais aciculares quanto estiloidais dentro da bainha cristalífera (Fig. 17C). O caráter ancestral para Bignonieae é incerto, ao passo que para as “core Bignonieae” é inferido como não possuindo uma bainha cristalífera (Fig. 17C).

Tabela 1. Caracteres anatómicos do floema normal e variante em Bignoniaceae (Bignoniaceae)

| TÁXON | FLOEMA NORMAL | | | | FLOEMA VARIANTE | | | | Abundância das fibras (Classe de floema) | | | | | |
|-----------------------------------|---------------|---|------------------|------------------------------------|---|--------------------------------------|--|---|--|---|------------------------|--------------|--|--------------|
| | Assembléias | Percentual de placas por área transversal | Bandas de fibras | Degrês ao lado das faces de floema | Arranjo dos elementos de tubo | Placa crivada (média) | Número de áreas crivadas por placa (média) | Percentual de placas por área transversal | | Tipo de parênquima axial | Significação dos raios | | | |
| <i>Adenocalymna bracteatum</i> | ? | ? | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 7 | Uma por elemento de tubo crivado | ? | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Não fibroso |
| <i>Adenocalymna comosum</i> | Ausente | 56,3 | Largas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 14 | Uma por elemento de tubo crivado | 29,7 | Difuso | Presente em porções aleatórias | Não fibroso |
| <i>Adenocalymna divaricatum</i> | Presente | 40,8 | Largas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 8 | Uma por elemento de tubo crivado | 10,6 | Chvocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosus |
| <i>Adenocalymna flaviflorum</i> | ? | 42,5 | Largas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | 8 | Duas por elemento de tubo em diferentes lados | 32,2 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Semifibrosus |
| <i>Adenocalymna neoflavidium</i> | Presente | 52,7 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 6 | Duas por elemento de tubo em diferentes lados | 20,9 | Chvocêntrico | Presente em porções aleatórias | Semifibrosus |
| <i>Adenocalymna nodosum</i> | ? | 44,8 | Estreitas | Assimétricos | na | Ausente | Radial | Composta | 7 | Duas por elemento de tubo em diferentes lados | 42,1 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Não fibroso |
| <i>Adenocalymna pergrinum</i> | Ausente | 47,6 | Largas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | 6 | Duas por elemento de tubo em diferentes lados | 32,3 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Semifibrosus |
| <i>Adenocalymna salmoneum</i> | Presente | 41,9 | Estreitas | Assimétricos | Para ambas faces, xilemática e tolemática | Ausente | Tangencial | Composta | 7 | Uma por elemento de tubo crivado | 21,2 | Chvocêntrico | Presente em porções aleatórias | Semifibrosus |
| <i>Amphilophium bracteatum</i> | ? | ? | ? | Assimétricos | Para a face xilemática | Presente no parênquima axial | Difuso | Majoria simples | ? | Uma por elemento de tubo crivado | ? | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Amphilophium crucigerum</i> | Ausente | 78,7 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Presente no parênquima axial | Difuso | Majoria simples | 0 | Uma por elemento de tubo crivado | 66,3 | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Amphilophium dolichooides</i> | ? | ? | ? | Assimétricos | Para a face xilemática | Presente no parênquima axial | Difuso | Majoria simples | 0 | Uma por elemento de tubo crivado | ? | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Amphilophium elongatum</i> | Ausente | 73,9 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Presente no parênquima axial | Difuso | Majoria simples | 1 | Uma por elemento de tubo crivado | 17,2 | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Amphilophium magnolifolium</i> | ? | ? | Largas | Assimétricos | Para a face xilemática | Presente no parênquima axial | Difuso | Majoria simples | 2 | Uma por elemento de tubo crivado | ? | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Amphilophium paniculatum</i> | Ausente | 48,5 | Largas | Assimétricos | Para a face xilemática | Presente no parênquima axial | Difuso | Majoria simples | 0 | Uma por elemento de tubo crivado | 25,2 | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Anemopaegma chamberlaynii</i> | Ausente | 47,8 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Presente no parênquima axial | Radial | Majoria simples | 5 | Uma por elemento de tubo crivado | 29,9 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Semifibrosus |
| <i>Bignonia bina ta</i> | Presente | 49,6 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | 10 | Uma por elemento de tubo crivado | 26,5 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Não fibroso |
| <i>Bignonia campanulata</i> | Presente | 65,8 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | 8 | Uma por elemento de tubo crivado | 22,5 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Não fibroso |
| <i>Bignonia corymbosa</i> | ? | ? | ? | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | ? | Uma por elemento de tubo crivado | ? | Difuso | ? | Não fibroso |
| <i>Bignonia magnifica</i> | Ausente | 66,3 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | 7 | Uma por elemento de tubo crivado | 43 | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Bignonia prierei</i> | ? | ? | ? | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | ? | Uma por elemento de tubo crivado | ? | Difuso | ? | Não fibroso |
| <i>Callichlamys latifolia</i> | Presente | 57,1 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Difuso | Composta | 7 | Uma por elemento de tubo crivado | 28,0 | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Cuspidaria convoluta</i> | Presente | 64,7 | Estreitas | Simétrico | Para ambas faces, xilemática e tolemática | Ausente | Tangencial | Composta | 26 | Duas-três por elemento de tubo do mesmo lado | 18,0 | Chvocêntrico | Presente em porções aleatórias | Semifibrosus |
| <i>Cuspidaria pulchra</i> | Presente | 91,4 | Estreitas | Simétrico | Para ambas faces, xilemática e tolemática | Ausente | Tangencial | Composta | 17 | Duas-três por elemento de tubo do mesmo lado | 16,7 | Chvocêntrico | Presente em porções aleatórias | Semifibrosus |
| <i>Dolichandra unguiculata</i> | Ausente | 54,2 | Estreitas | Assimétricos | Não se lignificam | Presente no parênquima axial e raios | Radial | Composta | 4 | Uma por elemento de tubo crivado | 29,3 | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Dolichandra unguis-cati</i> | Ausente | 56,2 | Largas | Assimétricos | Não se lignificam | Presente no parênquima axial e raios | Radial | Composta | 6 | Uma por elemento de tubo crivado | 40,1 | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Fridericia chica</i> | Presente | 63,3 | Estreitas | Assimétricos | Para ambas faces, xilemática e tolemática | Ausente | Tangencial | Composta | 18 | Duas-três por elemento de tubo do mesmo lado | 25,9 | Chvocêntrico | Presente em porções aleatórias | Semifibrosus |

Table 1. Continued

| TAXON | FLOEMA NORMAL | | | | FLOEMA VARIANTE | | | | | | | Abundância das fibras | | |
|--------------------------------|---------------|---|------------------|---------------------------------------|--|----------------|-------------------------------|-----------------|--|--|---|-----------------------|--|------------------------|
| | Assemblages | Percentual de parênquima por área transversal | Bandas de fibras | Degráus no lado das cunetas de floema | Lignificação dos raios limitantes | Estratificação | Arranjo dos elementos de tubo | Placa crivada | Número de áreas crivadas por placa (média) | Número de células companheiras | Percentual de parênquima por área transversal | | Tipo de parênquima axial | Lignificação dos raios |
| <i>Fridericia confugata</i> | Presente | 56,2 | Estreitas | Assimétricos | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Tangencial | Composta | 15 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 35,3 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Semifibrosas |
| <i>Fridericia platyphyla</i> | Presente | 51,8 | Estreitas | Assimétricos | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Tangencial | Composta | 14 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 16,8 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosas |
| <i>Fridericia samyoides</i> | Presente | 61,5 | Largas | Assimétricos | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Tangencial | Composta | 26 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 23,4 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosas |
| <i>Fridericia speciosa</i> | Presente | 59,1 | Estreitas | Assimétricos | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Tangencial | Composta | 18 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 19,0 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Semifibrosas |
| <i>Lundia cordata</i> | Presente | 67,5 | Largas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 15 | Uma por elemento de tubo crivado | 11,6 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosas |
| <i>Lundia corymbifera</i> | Presente | 47,0 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 16 | Uma por elemento de tubo crivado | 31,4 | Criocêntrico | Ausente | Semifibrosas |
| <i>Lundia damazi</i> | Presente | 82,5 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 18 | Uma por elemento de tubo crivado | 18,9 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosas |
| <i>Lundia glazioviana</i> | Presente | 63,3 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 17 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 25,1 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosas |
| <i>Manosella cordifolia</i> | Ausente | 66,1 | Estreitas | Simétrico | Para a face xilemática | Ausente | Difuso | Composta | 12 | Uma por elemento de tubo crivado | 30,6 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Não fibroso |
| <i>Mansoa officinalis</i> | Presente | 56,5 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | 5 | Uma por elemento de tubo crivado | 37,4 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Não fibroso |
| <i>Mansoa onohualcooides</i> | ? | ? | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | 5 | Uma por elemento de tubo crivado | ? | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Não fibroso |
| <i>Mansoa standleyi</i> | Ausente | 74,3 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | 9 | Uma por elemento de tubo crivado | 36,1 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Não fibroso |
| <i>Martinella obovata</i> | Ausente | 45,6 | Estreitas | ? | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Radial | Composta | ? | Uma por elemento de tubo crivado | 30,5 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Semifibrosas |
| <i>Neojobertia mirabilis</i> | Ausente | 52,6 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 10 | Uma por elemento de tubo crivado | 18,8 | Criocêntrico | Ausente | Fibrosas |
| <i>Pachyptera kerere</i> | Ausente | 38,6 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | 7 | Uma por elemento de tubo crivado | 37,4 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Não fibroso |
| <i>Perianthomega vellozoi</i> | Ausente | 66,6 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Márbria simples | 0 | Uma por elemento de tubo crivado | ? | Difuso | Ausente | Não fibroso |
| <i>Pleonotoma stichadenia</i> | Presente | 79,2 | Ausente | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 34 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 22,2 | Criocêntrico | Ausente | Semifibrosas |
| <i>Pleonotoma tetraquetra</i> | Presente | 67,8 | Ausente | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Tangencial | Composta | 37 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 32,5 | Criocêntrico | Ausente | Semifibrosas |
| <i>Pyrostegia venusta</i> | Presente | 65,8 | Estreitas | Assimétricos | Para a face xilemática | Ausente | Radial | Composta | 6 | Uma por elemento de tubo crivado | 37,6 | Difuso | Presente quando em contato com as fibras | Não fibroso |
| <i>Stizophyllum riparium</i> | Presente | 71,9 | Largas | Assimétricos | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Tangencial | Composta | 8 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 11,9 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosas |
| <i>Tanaecium bilabiatum</i> | Presente | 61,0 | Estreitas | Assimétricos | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Tangencial | Composta | 17 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 21,0 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosas |
| <i>Tanaecium pyramidalatum</i> | Presente | 68,6 | Largas | Assimétricos | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Tangencial | Composta | 19 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 28,4 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Semifibrosas |
| <i>Tynanthus cognatus</i> | Presente | 40,9 | Estreitas | Simétrico | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Tangencial | Composta | 19 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 22,6 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosas |
| <i>Tynanthus elegans</i> | Presente | 39,2 | Estreitas | Simétrico | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Tangencial | Composta | 21 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 20,6 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosas |
| <i>Xylophragma myrianthum</i> | Presente | 57,2 | Estreitas | Assimétricos | Para ambas faces, xilemática e folenmática | Ausente | Tangencial | Composta | 25 | Dois-três por elemento de tubo do mesmo lado | 16,4 | Criocêntrico | Presente em porções aleatórias | Fibrosas |

Table 1. Continued

| INCLUSÕES CELULARES DO FLOEMA NORMAL E VARIANTE | | | | |
|---|--|---|----------------------|---|
| TÁXON | Cristais no preênquima axial e raios | Tipo de cristal no parênquima axial e raios | Bainha cristallifera | Tipo de cristal na bainha cristallifera |
| <i>Adenocalymna bracteatum</i> | Presente nas células lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Adenocalymna cosmum</i> | Presente nas células lignificadas | Acicular/Estiloidal | Ausente | Ausente |
| <i>Adenocalymna divaricatum</i> | Presente nas células lignificadas | Prismático | Ausente | Ausente |
| <i>Adenocalymna flaviflorum</i> | Presente nas células lignificadas | Prismático | Ausente | Ausente |
| <i>Adenocalymna neoflavidum</i> | Presente nas células lignificadas | Acicular/Prismático | Ausente | Ausente |
| <i>Adenocalymna nodosum</i> | Presente nas células lignificadas | Prismático | Ausente | Ausente |
| <i>Adenocalymna peregrinum</i> | Ausente | - | Ausente | Ausente |
| <i>Adenocalymna salmoneum</i> | Presente nas células lignificadas | Prismático | Ausente | Ausente |
| <i>Amphilophium bracteatum</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | ? |
| <i>Amphilophium crucigerum</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | Prismático |
| <i>Amphilophium dolichoideis</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | ? |
| <i>Amphilophium elongatum</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | Estiloidal |
| <i>Amphilophium magnoliifolium</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | ? |
| <i>Amphilophium paniculatum</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | Prismático |
| <i>Anenopasagma chamberlaynii</i> | Ausente | - | Ausente | Ausente |
| <i>Bignonia binata</i> | Ausente | - | Presente | Prismático |
| <i>Bignonia campanulata</i> | Presente nas células lignificadas e não lignificadas | Acicular/Estiloidal | Presente | Estiloidal |
| <i>Bignonia corymbosa</i> | ? | ? | Presente | ? |
| <i>Bignonia magnifica</i> | Presente nas células lignificadas e não lignificadas | Acicular | Presente | Acicular |
| <i>Bignonia preurei</i> | Presente nas células lignificadas e não lignificadas | Acicular | Presente | ? |
| <i>Callichlamys latifolia</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Cuspidaria convoluta</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Cuspidaria pulchra</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Dolichandra unguiculata</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | Acicular |
| <i>Dolichandra unguis-cati</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | Acicular |
| <i>Fridericia chica</i> | Presente nas células lignificadas e não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Fridericia conjugata</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Fridericia platyphyla</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Fridericia samyroides</i> | Presente nas células lignificadas e não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Fridericia speciosa</i> | Presente nas células lignificadas e não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Lundia cordata</i> | Ausente | - | Ausente | Ausente |
| <i>Lundia corymbifera</i> | ? | ? | Ausente | Ausente |
| <i>Lundia damazii</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Lundia glazioviana</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Manassella cordifolia</i> | Presente nas células lignificadas e não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Mansoa difficilis</i> | Presente nas células lignificadas e não lignificadas | Acicular | Presente | Prismático |
| <i>Mansoa onchualcoides</i> | Presente nas células lignificadas e não lignificadas | Acicular | Presente | Prismático |
| <i>Mansoa standleyi</i> | Presente nas células lignificadas e não lignificadas | Acicular | Presente | Prismático/Estiloidal |
| <i>Martinea obovata</i> | ? | ? | Ausente | Ausente |
| <i>Neoberberis mirabilis</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular/Prismático/Estiloidal | Ausente | Ausente |
| <i>Pachyptera kerere</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | Acicular |
| <i>Perianthomega wellosei</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | Acicular |
| <i>Pleonotoma stichadenia</i> | ? | ? | Ausente | ? |
| <i>Pleonotoma tetraquetra</i> | Presente nas células não lignificadas | Prismático | Ausente | Ausente |
| <i>Pyrostegia venusta</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Presente | Prismático |
| <i>Stizophyllum riparium</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Tanaecium bilabiatum</i> | Ausente | ? | Ausente | Ausente |
| <i>Tanaecium pyramidalum</i> | Ausente | ? | Ausente | Ausente |
| <i>Tynanthus cognatus</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Tynanthus elegans</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |
| <i>Xylophragma myrianthum</i> | Presente nas células não lignificadas | Acicular | Ausente | Ausente |

DISCUSSÃO

Este estudo explora as tendências evolutivas trilhadas por todos os tipos celulares do floema de Bignonieae ao longo do tempo. Estudos anteriores sobre a evolução do floema sugeriram que os elementos de tubo crivado evoluíram por redução de seu comprimento, diminuição do número de áreas crivadas nas placas crivadas, aumento do diâmetro dos poros, assim como um aumento na abundância de parênquima e redução na abundância de fibras (sumarizado em Roth 1981). Entretanto, a diversidade conhecida para os caracteres do floema nas angiospermas como um todo apontam que a evolução do floema teria sido muito mais complexa do que inicialmente proposto (MacDaniels 1918). Nossos resultados sugerem que o floema evoluiu em direções opostas em diferentes linhagens de Bignonieae e que as linhas de evolução propostas por Hemenway (1913) e amplamente aceitas por outros estudos (Zahur 1959, Esau 1969, Roth 1981) representariam apenas uma alternativa dentre muitas outras.

De fato, alguns dos caracteres analisados neste estudo coincidem com a idéia vigente de evolução do floema (Hemenway 1911, 1913, Zahur 1959), como por exemplo o aumento na abundância de parênquima axial no floema normal de Bignonieae. No entanto, cenários discordantes também são encontrados, já que o floema variante não apresenta a mesma tendência. Resultados discordantes não são encontrados somente entre floema normal e variante, mas também quando comparamos o floema variante como um todo. Estes casos serão discutidos a seguir em detalhe.

As múltiplas evoluções de elementos de tubo muito diminutos no floema normal, arranjados em assemblages, indicam que o floema normal deve estar deixando seu papel na condução de fotoassimilados, já que elementos de tubo em *assemblages*, comuns em plantas que apresentam sazonalidade no crescimento do floema (Derr & Evert 1967, Deshpande & Rajendrababu 1985; Angyalossy *et al.* 2005), são provavelmente menos eficientes na condução de fotossintatos (Pace cap. 2). Outra evidência corroborando a idéia de que o floema normal atua menos na condução de fotossintatos é dada pela tendência geral observada no aumento em abundância do parênquima axial neste floema, indicando que possivelmente o floema normal está se especializando no armazenamento de substâncias. A melhor eficiência na condução de fotossintatos do floema variante, além disso, conta com células crivadas de raio, que são conhecidas por unir diferentes tubos crivados e auxiliar na condução a curtas distâncias entre o sistema radial e axial (Rajput & Rao 1997).

O número de áreas crivadas por placa é um caráter que, no floema variante, demonstra estar evoluindo em direções opostas em diferentes linhagens. De fato, o ancestral de todas as Bignonieae é reconstruído como apresentando aproximadamente três áreas crivadas em sua placa crivada. Dentro do clado das “Multiples of four” + *Dolichandra* observamos uma tendência para a redução no número de áreas crivadas. Por outro lado, no clado “*Arrabidaea* and allies”, as placas

crivadas estão evoluindo em direção ao aumento no número de áreas crivadas por placa crivada, com algumas espécies possuindo elementos de tubo com placas crivadas escalariformes com mais de 30 áreas crivadas. Este padrão ilustra um cenário exatamente oposto ao proposto por Hemenway (1913). Não obstante, permanece incerta a relevância em se possuir mais ou menos áreas crivadas por placa. A única informação disponível é a de que placas simples seriam geralmente encontradas em elementos de tubo mais curtos, enquanto placas compostas seriam encontradas em elementos mais largos e longos (Parthasarathy 1968, Esau 1969). Este padrão é seguido em Bignonieae, na qual elementos de placa simples são muito menores do que os elementos de placa composta. Em relação à possível relação entre placas compostas e diâmetros mais largos dos elementos de tubo (diâmetros retirados de Pace capítulo 2), nossos dados não apontam nenhuma correlação, com elementos de placa simples e compostas possuindo diâmetros variados. Em Bignonieae, no entanto, a presença de elemento de tubo com placa simples parece estar correlacionada com a presença de uma estrutura estratificada, já que os gêneros *Amphilophium*, *Dolichandra* e *Perianthomega*, que apresentam a maioria de seus elementos com placa simples, possuem estrutura estratificada. Câmbios estratificados são conhecidos por possuírem iniciais fusiformes mais curtas e que, conseqüentemente, geram derivadas mais curtas, tanto para o xilema quanto para o floema (Eames & MacDaniels 1947, Esau 1965, Evert 2006).

Foi sugerido que a evolução dos elementos de tubo crivado deveria refletir a evolução dos elementos de vaso, uma vez que derivam dos mesmos meristemas (Cheadle & Witford 1941, Esau 1969). Não está claro, entretanto, se a interpretação dada às placas de perfuração simples ou múltiplas dada aos elementos de vaso poderia ser transposta às placas crivadas simples ou compostas dos elementos de tubo crivado. Em monocotiledôneas, placas crivadas simples são encontradas nos órgãos de fonte, isto é, rizomas e folhas, enquanto placas crivadas compostas são encontradas nos tecidos que consomem fotossintatos (drenos), isto é, caules e raízes (Cheadle & Witford 1941, Cheadle 1948). Estes autores sugerem que os elementos de tubo de placa simples seriam os mais eficientes na condução de fotossintatos. Na eudicotiledônea *Styrax camporum*, elementos de vaso e elementos de tubo crivado apresentam morfologias similares na raiz e no caule, possuindo placas de perfuração e crivadas simples e transversais na raiz e placas de perfuração e crivadas inclinadas e múltiplas/compostas no caule (Machado *et al.* 2005). Ao passo que este resultado corrobora a idéia de que o floema espelha a evolução do xilema, permanece incerto como e porque isso ocorreria. Em Bignonieae, as tendências opostas encontradas na evolução das placas crivadas indicam que a evolução dos tipos de placa devem estar mais correlacionadas a uma especialização fisiológica que filogenética (histórica), como previamente sugerido por MacDaniels (1918).

Corroborando a idéia de que em Bignonieae diferentes linhagens estão evoluindo em direções antagônicas, as fibras do floema também demonstraram estar gradualmente evoluindo em direções

opostas no floema variante, de um arranjo não fibroso para um arranjo fibroso. Mais uma vez, enquanto o clado das “Multiples of four” estão evoluindo a caminho de uma redução na quantidade total de fibras, seu grupo irmão, o clado das “*Arrabidaea* and allies” está caminhando em uma direção oposta, com um aumento na abundância de fibras, juntamente com os gêneros *Pleonotoma*, *Stizophyllum* e algumas *Adenocalymma*. As múltiplas evoluções para um aumento na abundância de fibras podem estar relacionadas à maior proteção mecânica que as fibras conferem às células mais frágeis do floema, similarmente ao sugerido às ilhas de floema incluso no xilema (Calquist 1991) ou para o floema fibroso de *Carya cordiformis* (Juglandaceae, Eames & MacDaniels 1947). De fato, colapso nunca foi registrado em espécies de floema fibroso, ao passo que em clados com poucas fibras, como nas “Multiples of four” + *Dolichandra* a maioria do floema se colapsa a poucos milímetros do câmbio (observação pessoal). Além disso, o gênero com menor quantidade de fibras, *Amphilophium*, tem não somente seu floema variante colapsado, mas o xilema se projeta em direção à cunha, levando à sua inclusão e restabelecimento da continuidade do câmbio normal, formando ilhas de floema incluso no xilema (Solereeder 1908, Dos Santos 1995, Pace *et al.* no prelo). Uma evolução em direção à diminuição na abundância de fibras, por outro lado, pode conferir maior flexibilidade aos caules escandentes, dado que as espécies dentro das “Multiples of four”+ *Dolichandra* foram apontadas como as mais flexíveis dentro de Bignonieae (Gentry 1980), uma vez que combinariam um menor percentual de fibras, observado neste estudo, com a presença de cunhas em múltiplos de quatro (Dos Santos 1995, Pace *et al.* no prelo).

Nos clados que evoluem em direção a um aumento no percentual de fibras, por sua vez, acreditamos que muitos caracteres evoluem de maneira correlacionada, como a disposição tangencial dos elementos de tubo, a presença de parênquima crivocêntrico, a lignificação dos raios e a presença de múltiplas células companheiras.

No que diz respeito à presença de parênquima crivocêntrico nas espécies fibrosas, a presença de parênquima ao redor dos elementos de tubo é provavelmente primordial tanto para a manutenção de elementos não nucleados como auxiliando na condução de fotoassimilados. Na manutenção do elemento de tubo crivado, uma menor quantidade de parênquima em contato com os elementos de tubo seria então compensada pela presença de múltiplas células companheiras, como visto em secção transversal. A presença de duas células companheiras, uma em cada lado, é um caráter já visto em outros estudos (Cheadle & Esau 1958, Chavan *et al.* 1983, Chavan 2000), mas a presença de duas a três células companheiras posicionadas em um mesmo lado do elemento de tubo crivado é mencionada aqui por primeira vez, possivelmente sendo fundamentais para a manutenção de elementos tão longos e largos. A contribuição do parênquima axial auxiliando no transporte vascular, ademais, é aqui sugerida refletindo o que se sabe sobre transporte em xilema, no qual as células parenquimáticas atuam como tecido acessório (Braun 1984), auxiliando na condução de água por

meio de diferenças osmóticas criadas pelo parênquima. O transporte do floema é conhecido por ser dependente de diferenças osmóticas, que atuam como força motriz promotoras do carregamento e descarregamento dos tubos crivados que, conseqüentemente, transportam os assimilados (Aloni et al. 1986, Sjölund 1997, Van Bel 2003). Sendo assim, propomos que o parênquima ao redor do floema atue aqui também como tecido acessório na condução vascular.

Outros caracteres analisados neste estudo mostraram ser específicos, e portanto diagnósticos, de alguns grupos, como a presença de bainha cristalífera no clado das “Multiples of four” + *Dolichandra* e *Pachyptera*, a ausência de fibras no floema regular em *Pleonotoma*, a forma dos degraus simétrica em *Tynanthus-Cuspidaria* e *Manaosella* e o tipo de lignificação dos raios limitantes.

A presença de parênquima cristalífero ao redor das faixas de fibras é um caráter bastante comum no floema (Roth 1981). As múltiplas evoluções de tipos diferentes de cristais dentro das “Multiples of four” + *Dolichandra*, entretanto, ilustram quão plástica parece ser a conversão de um tipo de cristalização do oxalato de cálcio para outro, com os cristais prismáticos sendo o mais comum. Além disso, cristais foram encontrados em praticamente todas as espécies da tribo, mostrando a importância que o cálcio possui no metabolismo das plantas, para o qual foi sugerido como desempenhando um papel de extrema importância na divisão, crescimento e manutenção celular (Arnott 1976, Franceschi 1989).

A presença de raios limitantes em ambos lados das cunhas de floema constitui um aspecto observado desde os primeiros estudos com essas plantas (Schenck 1893) e foram posteriormente propostos como atuando como barreira fisiológica para os fito-hormônios derivados das folhas, que de alguma maneira estariam relacionados à formação e manutenção da variação cambial (Dobbins 1970, 1981, 1990). Aqui, os raios foram estudados quanto à sua lignificação, que pode variar de não lignificados a lignificados. Raios inteiramente não lignificados são característicos de *Dolichandra*, e ocorrem conjuntamente ao parênquima axial não lignificado no xilema (Pace et al. no prelo). A presença de lignificação dos raios limitantes em sua porção xilemática e floemática, por sua vez, mantendo algumas células não lignificadas em seu interior, mostram que os raios limitantes provavelmente são fundamentais para permitir que o floema formado nas cunhas possa deslizar pela cunha, atravessando o xilema secundário que permanece estático (Pace et al. no prelo). Estes raios, além disso, devem atuar no transporte de fotoassimilados para o xilema, dado que estudos de crescimento xilemático demonstraram que mais xilema é produzido nas regiões vizinhas às cunhas de floema (Lima & Angyalossy em prep.).

CONCLUSÕES

Este estudo ilustra que a evolução do floema é muito mais complexa do que inicialmente

proposto e que o floema evoluir em direções opostas em diferentes grupos de plantas.

Além disso, este estudo indica que muitas questões primordiais permanecem sem resposta, como o significado de diferentes números de áreas crivadas nas placas crivadas, questões levantadas desde 1948 por Cheadle. Dessa forma, mais estudos que correlacionam a anatomia do floema e a fisiologia são necessários para elucidar tais questões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONI, B., R. E. WYSE & S. GRIFFITH 1986. Sucrose transport and phloem unloading in stem of *Vicia faba* – Possible involvement of a sucrose carrier and osmotic regulation. *Plant Physiology* 81: 482-486.
- ANGYALOSSY V., C. R. MARCATI & R. F. EVERT 2005. Aspects of the seasonal development of the secondary phloem in two Brazilian semi-ring porous trees. XVII IBC Book of Abstracts, Viena, Áustria.
- ANGYALOSSY-ALFONSO, V. & H. G. RICHTER 1991. Wood and bark anatomy of *Buchenavia Eichl.* (Combretaceae). *IAWA Bulletin* n.s. 12: 123–141.
- APG II (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP II) 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436.
- ARNOTT H. J. 1976. Calcification in higher plants. In N. Watanabe, K. M. Wilbur [eds.], *The mechanisms of mineralization in the invertebrates and plants*, 55-78, The Belle W. Baruch Library in Marine Science 5. University of South Carolina Press, Columbia, EUA.
- BAILEY, I. W. 1944. The development of vessels in angiosperms and its significance in morphological research. *American Journal of Botany* 31: 421-428.
- BRAUN, H. J. 1984. The significance of the accessory tissues of the hydrosystem for osmotic water shifting as the secondary principle of water ascent, with some thoughts concerning the evolution of trees. *IAWA Bulletin* n.s. 5: 275-294.
- CARLQUIST, S. 1991. Anatomy of vine and liana stems: a review and synthesis. In F. E. Putz & H. A. Mooney [eds.] *The biology of vines*. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.
- CHAVAN, R. R., J. J. SHAH & K. R. PATEL 1983. Isolated sieve tube(s)/elements in some Angiosperms. *IAWA Bulletin* 4: 255-263.
- CHAVAN, R. R., J. E. BRAGGINS & P. J. HARRIS 2000. Companion cells in the secondary phloem of Indian dicotyledonous species: a quantitative study. *New Phytologist* 146: 107-118.
- CHEADLE, V. I. 1948. Observations on the phloem in the Monocotyledoneae. II. Additional data on the occurrence and phylogenetic specialization in structure of the sieve tubes in the metaphloem. *American Journal of Botany* 35: 129-131.

- CHEADLE, V. I. & N. B. WHITFORD 1941. Observations on the phloem in the Monocotyledoneae. I. The occurrence and phylogenetic specialization in structure of the sieve tubes in the metaphloem. *American Journal of Botany* 28: 623-627.
- CHEADLE, V. I. & K. ESAU 1958. Secondary phloem of Calycanthaceae. University of California Publications – *Botany* 29: 397-510.
- COSTA, C. G., V. T. R. CORADIN, C. M. CZARNESKI & B. A. D. PEREIRA 1997. Bark anatomy of arborescent Leguminosae of cerrado and gallery forest of Central Brazil. *IAWA Journal* 18(4): 385-399.
- CRONQUIST, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press. New York, EUA.
- DERR, W. F. & R. F. EVERT 1967. The cambium and seasonal development of phloem in *Robinia pseudoacacia*. *American Journal of Botany* 54: 147-157.
- DESHPANDE, B. P. & T. RAJENDRABABU 1985. Seasonal changes in the structure of the secondary phloem of *Grewia tiliifolia*, a deciduous tree from India. *Annals of Botany* 56: 61-71.
- DOBBINS, D. R. 1971. Studies on the anomalous cambial activity in *Doxantha unguis-cati* (Bignoniaceae). II. a case of differential production of secondary tissues. *American Journal of Botany* 58: 697-705.
- DOS SANTOS, G. M. A. 1995. Wood anatomy, chloroplast DNA, and flavonoids of the tribe Bignoniaceae (Bignoniaceae). Tese de doutorado. University of Reading, Reading, Reino Unido.
- EAMES, A. J. & L. H. MACDANIELS 1947. An introduction to plant anatomy. 2nd ed. MacGraw-Hill, New York, EUA.
- ESAU, K. & V. I. CHEADLE 1955. Significance of cell divisions in differentiating secondary phloem. *Acta Botanica Neerlandica* 4: 348-357.
- ESAU, K. 1969. The phloem. In W. Zimmermann, P. Ozenda, and H. D. Wulff [eds.], *Encyclopedia of Plant Anatomy*, 1-505, Band V, Teil 2, Gebrüder Bornstraeger, Berlin, Alemanha.
- EVERT, R. F. 2006. Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body – their structure, function, and development. 3rd ed. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, EUA.
- EWERS, F. W. & J. B. FISHER 1991. Why vines have narrow stems: histological trends in *Bauhinia* (Fabaceae). *Oecologia* 88: 223-237.
- FRANCESCHIV, R. 1989. Calcium oxalate formation is a rapid and reversible process in *Lemna minor* L. *Protoplasma* 148: 130-137.
- GENTRY, A. H. 1980. Bignoniaceae Part I – Tribes Crescentieae and Turretieae. *Flora Neotropica Monograph* 25.
- GENTRY, A. H. 1991. The distribution and evolution of climbing plants. In F. E. Putz and H. A. Mooney [eds.], *The biology of vines*, 3-49, Cambridge University Press, Cambridge.
- HARTIG, T. 1837. Vergleichende Untersuchungen über die Organisation des Stammes der einheimischen Waldbäume. *Jahresbericht Fortschritt Fortwissenschaft und Forstliche Naturkunde* 1: 125-168.
- HEMENWAY, A. F. 1911. Studies on the phloem of the dicotyledons I. Phloem of the Juglandaceae. *Botanical Gazette* 51: 131-135.

- HEMENWAY, A. F. 1913. Studies on the phloem of the dicotyledons II. The evolution of the sieve-tube - Contributions from the Hull Botanical Laboratory. *Botanical Gazette* 55: 236-243.
- IAWA COMMITTEE 1989. IAWA list of microscopic features for hardwood identification. *IAWA Bulletin* n.s. 10: 219-332.
- IQBAL, M. I. & M. S. ZAHUR 1995. Secondary phloem: origin, structure and specialization. In M. Iqbal [ed.], The cambial derivatives, C. The outer derivatives In S. Carlquist, F. Cutler, S. Fink, P. Ozenda, I. Roth, and H. Ziegler, encyclopedia of Plant Anatomy, Spezieller Teil, Band IX, Teil 4, Gebrüder Borntraeger, Berlin, Alemanha.
- KRIBS, D.A. 1935. Salient lines of structural specialization in the wood rays of dicotyledons. *Botanical Gazette* 96: 547-557.
- LOHMANN, L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignonieae, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* 93: 304-318.
- LOHMANN, L. G. IN PRESS. A new generic classification of Bignonieae (Bignoniaceae) based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. *Annals of the Missouri Botanical Garden*
- MACDANIELS, L. H. 1918. The histology of the phloem in certain woody Angiosperms. *American Journal of Botany* 5: 347-378.
- MACHADO, S. R., C. R. MARCATI, B. L. DE MORRETES & V. ANGYALOSSY 2005. Comparative bark anatomy of root and stem in *Styrax camporum* (Styracaceae). *IAWA Journal* 26: 477-487.
- MADDISON, W. P. & D. R. MADDISON 2003. MacClade: analysis of phylogeny and character evolution, version 4.06 for Mac OSX. PPC Sinauer, Sunderland, EUA.
- MADDISON, W. P. & D. R. MADDISON 2009. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 2.6. <http://mesquiteproject.org>
- MIDFORD P. E., T. GARLAND JR & W. P. MADDISON 2003. PDAP Package.
- OLMSTEAD, R. E., M. L. ZJHRA, L. G., LOHMANN, S. O. GROSE & A. J. ECKERT IN PRESS. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. *American Journal of Botany*.
- PACE, M. R., L. G. LOHMANN & V. ANGYALOSSY IN PRESS. The rise and evolution of the cambial variant in Bignonieae (Bignoniaceae). *Evolution and Development* 11(5)
- PARTHASARATHY, M.V. 1968. Observations on metaphloem in vegetative parts of palms. *American Journal of Botany* 55: 1140-1168.
- RAJPUT, K. S. & K. S. RAO 1997. Occurrence of sieve elements in phloem rays. *IAWA Journal* 18: 197-201.
- RICHTER, H. G., S. C. MAZZONI-VIVEIROS, E. S. ALVES, A. E. LUCHI & C. G. COSTA. 1996. Padronização de critérios para a descrição anatômica da casca: lista de características e glossário de termos. *IF Série Registros* 16: 1-25.
- ROTH, I. 1981. Structural patterns of tropical barks. In H. J. Braun, S. Carlquist, P. Ozenda, and I. Roth [eds.], Encyclopedia of Plant Anatomy, 1-609, Band IX, Teil 3, Gebrüder Borntraeger, Berlin, Alemanha.
- SCHENCK, H. 1893. Beiträge zur Biologie und Anatomie der Lianen im Besonderen der in Brasilien einheimischen Arten. II. Theil. Beiträge zur Anatomie der Lianen. In A. F.W. Schimper [ed.]. Botanische

Mittheilungen aus den Tropen. Gustav Fisher, Jena, Alemanha.

SJÖLUND, R. D. 1997. The phloem sieve element: a river runs through it. *The Plant Cell* 9: 1137-1146.

SOLEREDER, H. 1908. Bignoniaceae. In H. Solereder [ed.], *Systematic anatomy of the dicotyledon*, 601-611, Clarendon Press, Oxford, Reino Unido.

SPANGLER, R. E. & R. E. OLMSTEAD 1999. Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences *rbcl* and *ndhF*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 86: 33-46.

TROCKENBRODT, M. 1990. Survey and discussion of the terminology used in bark anatomy. *IAWA Bulletin* n.s. 11: 141-166.

VAN BEL, A. J. E. 2003. The phloem, a miracle of ingenuity. *Plant Cell and Environment* 26: 125-149.

ZAHUR, M. S. 1959. Comparative study of secondary phloem of 423 species of woody dicotyledons belonging to 85 families. Cornell University Agricultural Experiment Station Memoir 358, Ithaca, New York, EUA.

CONCLUSÃO GERAL

CONCLUSÃO GERAL

Neste estudo, utilizando uma filogenia molecular robusta para um grupo reconhecidamente monofilético, buscou-se entender a anatomia dos caules de Bignonieae em diferentes níveis, procurando, do primeiro ao último capítulo analisar dos aspectos mais gerais aos mais específicos. O objetivo de utilizar uma filogenia molecular sobre a qual mapear dados morfológicos foi o de buscar uma mútua iluminação que nos permitisse traçar a evolução morfológica e entender os processos de desenvolvimento que promovem a diversificação caulinar em Bignonieae, uma abordagem que vem despontando como promissora em estudos morfológicos.

No primeiro capítulo buscamos entender a origem da grande diversidade anatômica das variações cambiais em Bignonieae. Diferentes estudos haviam descrito as diferentes formas da variação cambial de Bignonieae muitas vezes como partes de categorias distintas. Neste estudo vimos que, não obstante a grande diversidade final das variações cambiais, **todas partem de um padrão comum de desenvolvimento**. Além disso, vimos que em Bignonieae as **variações cambiais** evoluíram de uma maneira **pontuada e aditiva**, partindo de uma morfologia comum às das demais plantas com crescimento secundário, com um câmbio contínuo de iguais produtos ao longo de toda sua extensão, para um **padrão mais complexo**. Esse padrão mais comum de desenvolvimento está presente nos grupos externos aqui utilizados (*Podranea ricasoliana* e *Tecoma capensis*), mas também nas **fases iniciais de desenvolvimento** de todas as Bignonieae, com subseqüentes evoluções para **novos padrões de desenvolvimento**. A maioria das espécies evolui para um padrão com **quatro cunhas de floema**. As cunhas derivam da diminuição do número de **divisões anticlinais** do câmbio variante, que leva à inclusão destas porções. Posteriormente, três outros grupos: *Adenocalymma*, *Lundia* e o grande clado das “Multiples of four” + *Dolichandra*, por sua vez, que atravessam a fase com quatro cunhas de floema, adicionam um novo passo, desenvolvendo **cunhas em múltiplos de quatro**. Dentro das espécies com cunhas em múltiplos de quatro, por conseguinte, *Dolichandra* evolui a presença de **parênquima não lignificado**, que à medida que o caule se desenvolve começa a se proliferar, gerando a **dissecção** das cunhas de floema e de porções do xilema, que passam a ficar envolvidos por grandes quantidades de parênquima não lignificado. A evolução de cunhas em múltiplos de quatro e das cunhas múltiplo-dissectadas confeririam maior **flexibilidade** aos caules escandentes. Em *Amphilophium*, as quatro cunhas de floema inicialmente formadas são **incluídas dentro xilema**, formando uma série de cunhas inclusas ao longo de um mesmo raio. As razões para esta inclusão são ainda incertas, mas hipotetizamos que a rápida **perda da condutividade** dos elementos de tubo crivado e a **escassa quantidade de fibras** do floema possam estar relacionadas com tal inclusão. Por fim, dentro de uma tribo onde prevalecem as lianas, múltiplas evoluções para o **hábito arbustivo** ocorreram, e com elas uma mudança na

anatomia de seus caules. Todas as espécies arbustivas aqui estudadas apresentaram uma **redução no desenvolvimento das cunhas**, um retardo atribuído à uma mudança heterocrônica que teria levado ao desenvolvimento de uma **morfologia juvenil** (pedomórfica) nestes caules.

No segundo capítulo o foco aumenta, e passa para uma análise das mudanças que teriam ocorrido aliadas à **variação cambial** de Bignoniaceae, levando à **evolução de diferenças** entre o floema normal e o variante. As variações cambiais são frequentemente atribuídas ao aumento de flexibilidade, reparo de injúrias e armazenamento. Contudo, vimos nesse trabalho que a variação cambial em Bignoniaceae também caminha rumo à uma **especialização na condução** de fotoassimilados. Sugerimos, ainda, que tal especialização esteja aliada a uma **diminuição da condutividade do floema normal**, cujos elementos de tubo crivado são reduzidos e apresentam aspectos semelhantes àqueles presentes no floema terminal de plantas com crescimento sazonal do floema. A **maior abundância de parênquima** no floema normal e a tendência ao seu aumento indicariam, por sua vez, que este floema deve estar se especializando no **armazenamento de substâncias**, deixando a condução para as cunhas de floema. Essa hipótese foi corroborada pelo aumento na área dos elementos de tubo de *Amphilophium*, único gênero em Bignoniaceae que perde o floema variante das cunhas devido à sua inclusão no xilema. O aumento na área dos elementos de tubo no floema normal de *Amphilophium* **supriria a demanda** que a cunha inclusa passa a não poder atender. A **maior abundância de fibras** que evoluiu múltiplas vezes no floema variante, promoveria maior proteção mecânica às células mais frágeis do floema: elementos de tubo crivado e parênquima, evitando seu colapso. Por fim, a presença de **raios uni-bisseriados e curtos** se deveria a dois possíveis fatores: seriam finos devido a **pedomorfose** em sua ontogênese, com os raios do floema variante permanecem com características juvenis, derivado do fato que o câmbio variante praticamente não se divide anticlinalmente. Por fim, os raios ou seriam curtos devido a uma retenção do **caráter plesiomórfico** em Bignoniaceae, uma vez que os raios curtos prevalecem na família, ou derivariam de uma **especialização**, seguindo a ordem de evolução dos raios sugerida por Kribs.

O terceiro capítulo está direcionado ao entendimento da **evolução do floema secundário** em Bignoniaceae. Aqui, busca-se **delimitar caracteres** para o floema que representem diferentes estados de uma mesma condição. Partimos das teorias existentes para a evolução do floema, que sugerem **um único sentido evolutivo**. Entretanto, o floema secundário em Bignoniaceae nos mostrou que a evolução do floema é muito **mais complexa** do que imaginado inicialmente e que **padrões evolutivos opostos** podem estar presentes. Na linhagem que abarca os clados “Multiples of four” + *Dolichandra* a evolução caminha rumo a uma diminuição dos elementos de tubo crivado, redução da inclinação da parede terminal destes elementos e redução do número de áreas crivadas por placa, concomitantemente com um aumento da abundância de parênquima e diminuição

da abundância de fibras. Por outro lado, no clado “*Arrabidaea* and allies” um cenário oposto é visto, com os elementos de tubo tornando-se mais longos, com placas compostas inclinadas, com um aumento no número de áreas crivadas por placa, simultaneamente com uma redução na abundância de parênquima e aumento da abundância de fibras. Este resultado evidencia que a evolução do floema não ocorre de maneira unidirecional e que percorre **diferentes caminhos em diferentes linhagens**. Entretanto, nosso estudo evidenciou, também, que mais estudos aliando a anatomia do floema e a fisiologia do tecido são necessários para esclarecer as razões pela qual cada uma das linhagens seguiria um padrão evolutivo diferente.

De maneira geral, este estudo demonstra que análises anatômicas dentro de um contexto filogenético são primordiais por permitirem um maior entendimento dos processos que promovem a evolução e diversificação dos grupos.

APÊNDICE A
 RELAÇÃO DAS ESPÉCIES ESTUDADAS DE ACORDO COM SUA AUTORIA,
 DETALHES DAS COLETAS E COLETORES

| Clados segundo Lohmann (2006) | Espécies | Coletores e números | Localidades | Hábitats | |
|---|---|--|---|---|------------------------------|
| Clado <i>Perianthomega</i> | <i>Perianthomega vellozoi</i> Bureau | Pace 10 | Brasil. Minas Gerais. Viçosa. Mata do Paraíso. 20°48'S e 42°51'W. | Mata atlântica | |
| | | Pace 15 | | | |
| | | Pace 28 Pace 29 | Bolívia. Santa Cruz. Jardim botânico de Santa Cruz de la Sierra. 17°46.350'S e 63°04.184'W. 391m. | Mata tropical | |
| Clado <i>Stizophyllum</i> | <i>Stizophyllum riparium</i> (Kunth) Sandwith | Pace 16 Pace 33 | Brasil. São Paulo. São Paulo. Reserva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. | Floresta tropical perturbada | |
| | | Zuntini 9 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica | |
| Clado <i>Martinella</i> | <i>Martinella obovata</i> (Kunth) Bureau & K.Schum. | Lohmann 544 | Brasil. Acre. Xaputi. Ao longo do Rio Xaputi. | Floresta amazônica | |
| Clado <i>Pleonotoma</i> – <i>Manaosella</i> | <i>Pleonotoma stichadenia</i> K. Schum. | Zuntini 7 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica | |
| | | <i>Pleonotoma tetraquetra</i> (Cham.) Bureau | Ozório-Filho 11 | Brasil. São Paulo. São Paulo. Reserva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. | Floresta tropical perturbada |
| | | <i>Manaosella cordifolia</i> (DC.) A.H. Gentry | Pace 41 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do Instituto Plantarum. | Cultivada |
| Clado <i>Leucocalantha</i> | <i>Pachyptera kerere</i> (Aubl.) Sandwith | Castanho 143 Lohmann 836 | Brasil. Amazonas. Rio Negro. | Floresta amazônica | |
| Clado <i>Lundia</i> | <i>Lundia cordata</i> (Vell.) DC. | Zuntini 1 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica | |
| | | <i>Lundia glazioviana</i> Kraenzl. | | | Zuntini 126 |
| | <i>Lundia corymbifera</i> (Vahl) Sandwith | Pace 55 Pace 56 | Brasil. São Paulo. São Paulo. Reserva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. | Floresta tropical perturbada | |
| | <i>Lundia virginalis</i> DC. | Nogueira 139 | Brasil. Minas Gerais. Oliveiras. Na beira da rodovia Fernão Dias. -44.8372678, -20.8553279 | Floresta tropical perturbada | |

| | | | | |
|---|---|--------------------|--|---------------------------------|
| Clado <i>Cuspidaria</i> s.l.- <i>Tynanthus</i> | <i>Tynanthus cognatus</i> (Cham.) Miers | Pace 9a Pace 9b | Brasil. São Paulo. São Paulo. Reserva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. | Floresta tropical perturbada |
| | <i>Tynanthus elegans</i> Miers | Zuntini 147 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| | <i>Cuspidaria pulchra</i> (Cham.) L.G. Lohmann | Pace 24 Pace 25 | Brasil. Minas Gerais. Uberlândia. Reserva do Clube de caça e pesca Itororó. | Cerrado |
| | <i>Cuspidaria convoluta</i> (Vell.) A.H. Gentry, | Pace 48 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do Instituto Plantarum. | Cultivada |
| Clado “True <i>Arrabidaea</i> extended” | <i>Xylophragma myrianthum</i> (Cham. ex Steud.) Sprague | Zuntini 263 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| | <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G. Lohmann | Pace 50 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do Instituto Plantarum. | Cultivada |
| | <i>Fridericia conjugata</i> (Vell.) L.G. Lohmann | Pace 44 | | |
| | <i>Fridericia platyphylla</i> (Cham.) L.G. Lohmann | Pace 22 Pace 23 | Brasil. Minas Gerais. Uberlândia. Reserva do Clube de caça e pesca Itororó. | Cerrado |
| | <i>Fridericia samydoides</i> (Cham.) L.G. Lohmann | Pace 49 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do Instituto Plantarum. | Cultivada |
| | <i>Fridericia speciosa</i> Mart. | Pace 40 | | |
| Clado “Bromeliad” | <i>Tanaecium bilabiatum</i> (Sprague) L.G. Lohmann | Lohmann 850 | Brasil. Amazonas. Rio Negro. | Floresta amazônica |
| | <i>Tanaecium pyramidatum</i> (Rich.) L.G. Lohmann | Pace 14 Pace 35 | Brasil. São Paulo. São Paulo. Reserva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. | Floresta tropical perturbada |
| Clado “Cat’s claw” | <i>Dolichandra unguiculata</i> (Vell.) L.G. Lohmann | Zuntini 176 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| | <i>Dolichandra unguis-cati</i> (L.) L.G. Lohmann | Ceccantini 2687 | Brasil. Minas Gerais. Matozinhos. Fazenda Jagoara. S19°28'12,0" W43°58'59,1". | Mata ciliar |
| | | Grosso 322 | Brasil. São Paulo. São Paulo. Reserva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. | Mata atlântica |
| Clado | <i>Amphilophium</i> | Pace 46 | Brasil. São Paulo. Nova | Cultivada |

| | | | | |
|--------------------------------------|---|--|---|--------------------------------------|
| Clado Pithecoctenieaea | <i>Amphilophium paniculatum</i> (L.) Kunth | Pace 46 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do Instituto Plantarum. | Cultivada |
| | <i>Amphilophium elongatum</i> (Vahl) L.G. Lohmann | Pace 45 | | |
| | <i>Amphilophium magnoliifolium</i> (Kunth) L.G. Lohmann | Lohmann 851 Dos Santos 272* | Brasil. Amazonas. Rio Negro. Brasil. Pará. Porto de Moz. Próximo ao Rio Açaí, afluente do Xingu. | Floresta amazônica |
| | <i>Amphilophium bracteatum</i> (Cham.) L.G. Lohmann | Ozório-Filho 8 | Brasil. São Paulo. São Paulo. Reserva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. | Floresta tropical perturbada |
| | <i>Amphilophium crucigerum</i> (L.) L.G. Lohmann | Pace 1 Pace 2 Pace 3 Pace 34 | | |
| | <i>Amphilophium dolichoides</i> (Cham.) L.G. Lohmann | Ozório-Filho 9 | | |
| Clado “Multiples of four” s.s. | <i>Mansoa difficilis</i> (Cham.) Bureau & K. Schum. | Pace 35 | Brasil. São Paulo. São Paulo. Reserva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. | Floresta tropical perturbada |
| | | Zuntini 4 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| | <i>Mansoa onohualcoides</i> A.H. Gentry | Zuntini 276 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| | <i>Mansoa standleyi</i> (Steyerm.) A.H. Gentry | Pace 43 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do Instituto Plantarum. | Cultivada |
| | <i>Pyrostegia venusta</i> (Ker Gawl.) Miers | Pace 17 | Brazil. São Paulo. Rodovia dos Bandeirantes de Campinas para São Paulo. | Floresta seca |
| | | Pace 36 | Brasil. São Paulo. São Paulo. Reserva do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. | Espontânea crescendo no campus |
| | <i>Anemopaegma chamberlaynii</i> (Sims) Bureau & K. Schum. | Zuntini 15 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| | <i>Bignonia binata</i> Thunb. | Galvanese 22 | Brasil. Amazonas. Rio Negro. | Floresta amazônica |
| <i>Bignonia campanulata</i> Cham. | Pace 39 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do | Cultivada | |

| | | | | |
|---|--|-----------------------------|--|--------------------|
| | <i>Bignonia corymbosa</i> (Vent.) L.G. Lohmann | Zuntini 2 Zuntini 17 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| | <i>Bignonia magnifica</i> W. Bull | Pace 51 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do Instituto Plantarum. | Cultivada |
| | <i>Bignonia priurei</i> DC. | Zuntini 13 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| | <i>Bignonia sciuripabula</i> (K.Schum.) L.G.Lohmann | Zuntini 8 | | |
| Clado <i>Gardnerodoxa</i> - <i>Nejobertia</i> | <i>Nejobertia mirabilis</i> (Sandwith) L.G. Lohmann | Dos Santos 48* | Brasil. Maranhão. St. Luzia. Reserva Florestal de Buriticupu, propriedade da Floresta Rio Doce S.A. 52 Km de Buriticupu. | Floresta tropical |
| | <i>Nejobertia</i> sp. nov. | Zuntini 18 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| Clado “Volcano- gland” | <i>Adenocalymma</i> <i>bracteatum</i> (Cham.) DC. | Castanho 153 Lohmann 861 | Brasil. Amazonas. Rio Negro. | Floresta amazônica |
| | <i>Adenocalymma comosum</i> (Cham.) DC. | Pace 53 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do Instituto Plantarum. | Cultivada |
| | <i>Adenocalymma</i> <i>divaricatum</i> Miers | Udulutsch 2808 | Brasil. Bahia. Lençóis. Rodovia BR-242 S12°30'23,6" W41°11'05,1". | Floresta decídua |
| | <i>Adenocalymma</i> <i>flaviflorum</i> (Miq.) L.G. Lohmann | Sousa-Baena 2 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| | <i>Adenocalymma</i> <i>neoflavidum</i> L.G. Lohmann | Zuntini 23 | | |
| | <i>Adenocalymma</i> <i>salmoneum</i> J.C. Gomes | Lohmann 658 | | |
| | <i>Adenocalymma nodosum</i> (Silva Manso) L.G. Lohmann | Pace 20 | Brasil. Minas Gerais. Uberlândia. Reserva do Clube de caça e pesca Itororó. | Cerrado |
| | <i>Adenocalymma</i> <i>peregrinum</i> (Miers) L.G. Lohmann | Pace 26 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do Instituto Plantarum. | Cultivada |
| | <i>Adenocalymma</i> <i>tanaeciicarpum</i> (A.H. Gentry) L.G. Lohmann | Dos Santos 263* | Brasil. Pará. Porto de Moz. Próximo ao Rio Açaí, afluente do Xingu. | Floresta amazônica |
| Clado <i>Callichlamys</i> | <i>Callichlamys latifolia</i> (Rich.) K. Schum | Zuntini 175 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |

| | | | | |
|---------------------------|---|-------------|---|----------------|
| Clado <i>Callichlamys</i> | <i>Callichlamys latifolia</i> (Rich.) K. Schum | Zuntini 175 | Brasil. Espírito Santo. Linhares. Reserva da Companhia Vale do Rio Doce. | Mata atlântica |
| | | Pace 42 | Brasil. São Paulo. Nova Odessa. Coleção viva do Instituto Plantarum. | Cultivada |
| Tribo Tecomeae | <i>Podranea ricasoliana</i> | Pace 11a | Brasil. São Paulo. São Paulo. | Cultivada |
| Grupo externo | (Tanfani) Sprague | Pace 11b | Instituto Butantan. | |

Vouchers para os materiais coletados no presente estudo foram depositados no herbário SPF, exceto no caso das espécies marcadas com um asterisco, que foram enviadas por empréstimo da Xiloteca MADw e possui vouchers em MAD, MO e MG. As espécies estão organizadas em clados de acordo com Lohmann (2006).

Capa

Frente: Calendário cósmico Asteca: primeira página do *Codex Fejérváry-Mayar*.

Em exposição realizada em Antwerp (Bélgica), pesquisadores do *Flemish Institute for American Cultures* sugeriram que a figura do calendário asteca, com quatro cunhas que a margeiam, teria sido feita de acordo com o padrão caulinar das lianas de *Bignoniaceae*, reconhecidas por apresentarem este padrão de crescimento secundário. As plantas têm grande representatividade na arte Asteca; na parte esquerda da figura encontramos uma árvore de *Ceiba* sp., ao passo que na parte direita uma árvore de *Theobroma cacao*

Verso: Corte transversal do caule da liana *Tanaecium pyramidatum*, com quatro cunhas de floema interrompendo o xilema.