

Juliana Castelo Branco Brasileiro

Morfologia e ontogenia de estípulas no gênero
Passiflora L. (Passifloraceae)

Morphology and ontogeny of stipules in the
genus *Passiflora* L. (Passifloraceae)

São Paulo

2021

VI. Resumo

As estípulas da família Passifloraceae são estruturas exuberantes que apresentam uma rica diversidade morfológica e, por tanto, um grande valor taxonômico. Dentro da família, essa diversidade é notável nos táxons pertencentes ao gênero *Passiflora* L. Neste gênero, as estípulas foliáceas são amplamente descritas entre as espécies do subgênero *Passiflora* e apresentam uma infinidade de morfologias. Nos subgêneros *Astrophea*, *Decaloba*, *Deidamioides* e *Tetrapathea* são muito comuns as estípulas inconspícuas, descritas de um modo geral como: diminutas, no caso do subgênero *Deidamioides*; triangulares ou setáceas nas espécies dos subgêneros *Astrophea* e *Tetrapathea*; e, frequentemente, setáceas ou lineares, no subgênero *Decaloba*. Em folhas, a diversidade morfológica é resultado da atividade de diferentes regiões de crescimento. Com isso, foi realizado um levantamento dos caracteres morfoanatômicos, identificando padrões morfológicos de espécies de três subgêneros de *Passiflora*. Seguido do estudo ontogenético das estípulas de cada um dos padrões, e posterior mapeamento dos caracteres morfológicos das estípulas a partir de uma filogenia atual. Inicialmente, foi realizado o tratamento anatômico convencional de vinte espécies do gênero *Passiflora*: seis do subgênero *Decaloba*, duas do subgênero *Deidamioides*, e doze espécies do subgênero *Passiflora*. As análises da anatomia das estípulas demonstram que sua estrutura é semelhante à lâmina foliar de eudicotiledôneas mesófitas, apresentando uma epiderme com camada única de células, composta frequentemente por tricomas tectores e distribuição de estômatos em ambas ou apenas uma face; mesofilo homogêneo ou heterogêneo; e feixes vasculares frequentemente colaterais, organizados em um padrão de venação pinada ou palmada. *Passiflora incarnata* L. apresenta a anatomia da estípula distinta das demais espécies em sua porção distal, na epiderme não há estômatos, o mesofilo possui pequenos espaços

intercelulares e o sistema vascular está organizado em uma nervura única concêntrica do tipo anfigasal, um provável processo de abaxialização. Nas análises morfológicas foram identificados dois grupos de estípulas: foliáceas e não foliáceas. A partir disso foram selecionadas onze espécies do total de 20, para o estudo ontogenético, e identificado seis padrões morfológicos: estípulas foliáceas simétricas, estípulas foliáceas assimétricas com expansão unilateral, estípulas foliáceas assimétricas com expansão bilateral, estípulas não foliáceas com expansão da lâmina unilateralmente, estípulas não foliáceas com expansão da lâmina bilateralmente, e estípulas não foliáceas com expansão laminar ausente. Na formação da lâmina das estípulas foliáceas foi identificada a atividade do meristema marginal e, frequentemente, do meristema em placa. No caso das estípulas foliáceas assimétricas, o meristema marginal é silenciado em um dos flancos, retomando sua atividade após o desenvolvimento da lâmina oposta, como em *P. caerulea* e *P. kermesina*; ou tem a atividade do meristema marginal deprimida em um dos flancos e contínuo no outro, como em *P. eichleriana*; ou tem a atividade encerrada em um dos flancos, como em *P. morifolia*. O meristema marginal está frequentemente envolvido na formação da lâmina, e é visível logo após o estabelecimento da polaridade adaxial-abaxial. Nas estípulas não foliáceas, o meristema marginal tem uma atividade efêmera, e em *P. deidamioides* Harms é ausente. Assim como as estípulas foliáceas, as não foliáceas apresentam a atividade do meristema marginal, frequentemente efêmera. A partir dos caracteres morfológicos, foram estabelecidas sinapomorfias no subgênero *Passiflora*, clado com as espécies *P. eichleriana*, *P. racemosa*, *P. galbana*, *P. kermesina* e *P. caerulea*; como estípulas foliáceas, expansão da lâmina da estípula bilateralmente, nectários extraflorais presentes, organização isolateral do mesofilo e venação pinada.

VII. *Abstract*

The stipules of the Passifloraceae family are exuberant structures that present a rich morphological diversity and, therefore, a great taxonomic value. Within the family, this diversity is notable in the taxa belonging to the genus *Passiflora* L. In this genus, foliaceous stipules are widely described among the species of the subgenus *Passiflora* and present a largenumber of morphologies. In the subgenera *Astrophea*, *Decaloba*, *Deidamioides* and *Tetrapathea*, inconspicuous stipules are very common, described in general as: diminute, in the case of the subgenus *Deidamioides*; triangular or setaceous in the species of the subgenera *Astrophea* and *Tetrapathea*; and, frequently, setaceous or linear, in the subgenus *Decaloba*. In leaves, the morphological diversity is the result of the activity of different growth regions. With this, a survey of the morphoanatomical characters was carried out, identifying morphological patterns of species of three subgenera of *Passiflora*., followed by the ontogenetic study of the stipules of each of the patterns, and subsequent mapping of the morphological characters of the stipules from a current phylogeny. Initially, the conventional anatomical treatment of twenty species of the genus *Passiflora* was carried out: six of the subgenus *Decaloba*, two of the subgenus *Deidamioides*, and twelve species of the subgenus *Passiflora*. The analysis of the anatomy of the stipules led us to conclude that its structure is similar to the leaf blade of mesophyte eudicotyledons, presenting an epidermis with a single layer of cells, often composed of trichomes and distribution of stomata on both or just one face; homogeneous or heterogeneous mesophyll; and collateral vascular bundles, arranged in a pinned or palmately venation pattern. *Passiflora incarnata* L. presents the anatomy of the stipule distinct from the other species in its distal portion, in the epidermis there are no stomata, the mesophyll has small intercellular spaces and the vascular system is organized in a

single concentric rib of the amphivasal type, a probable process of abaxialization. In the morphological analyzes, two groups of stipules were identified: foliaceous and non-foliaceous. From this, eleven species from 20 were selected for the ontogenetic study and six morphological patterns were identified: symmetric foliaceous stipules, asymmetric foliaceous stipules with unilateral expansion, asymmetric foliaceous stipules with bilateral expansion, non-foliaceous stipules with blade expansion unilaterally, stipules non-foliaceous with bilateral blade expansion; and non-foliaceous stipules with absent laminar expansion. In the formation of the blade of the foliaceous stipules, the activity of the marginal meristem and, frequently, of the meristem in plate was identified. In the case of asymmetric foliaceous stipules, the marginal meristem is silenced on one of the flanks, retaking its activity after the development of the opposite blade, as in *P. caerulea* and *P. kermesina*; or it has the marginal meristem activity depressed on one flank and continuous on the other, as in *P. eichleriana*; or it has its activity terminated on one of its flanks, as in *P. morifolia*. The marginal meristem is often involved in the formation of the lamina, and it is visible soon after the establishment of adaxial-abaxial polarity. In the non-foliaceous stipules, the marginal meristem has an ephemeral activity, and in *Passiflora deidamioides* Harms it is absent. Like the leafy stipules, the non-foliaceous stipules present the activity of the marginal meristem, often ephemeral. From the morphological characters, synapomorphies to the subgenus *Passiflora*, clade with the species *P. eichleriana*, *P. racemosa*, *P. galbana*, *P. kermesina* and *P. caerulea*; as foliaceous shape, bilateral stipulation blade expansion, extrafloral nectaries present, isolation of the mesophyll and pinned venation.

I. Introdução

Passifloraceae é mundialmente conhecida por sua importância econômica (frutos comestíveis, formulação de fármacos), e pela exuberância de suas flores, que apresentam características importantes para a taxonomia da família (Ulmer & MacDougal 2004), em especial, a corona de filamentos (Judd *et al.* 2008). Além dos órgãos reprodutivos, as folhas e suas estípulas também possuem uma grande diversidade morfológica, mostrando-se igualmente úteis na taxonomia do grupo (Ulmer & MacDougal 2004).

A maioria das espécies desta família são trepadeiras ou lianas que possuem gavinhas axilares, ou, menos frequente, possuem hábito arbustivo ou arbóreo com ausência de gavinhas; geralmente apresentam tricomas tectores com diferentes morfologias (Ulmer & MacDougal 2004, Judd *et al.* 2008). Filotaxia é alterna espiralada e, frequentemente, apresentam folhas simples e lobadas ou inteiras e serreadas, com venação palmada, nectários peciolares e laminares, e estípulas presentes. (Cervi 1997, Ulmer & MacDougal 2004, Judd *et al.* 2008).

Passifloraceae possui quatro subfamílias: Malesherbioideae Burnett, contendo 1 gênero e 24 espécies; Turneroideae Eaton, com 12 gêneros e 229 espécies; Passifloroideae Burnett, com 16 gêneros e 705 espécies (Stevens 2001, APG III 2009, APG IV 2016); e Pibirioideae Chase & Christenhusz, a mais recente aquisição de Passifloraceae, com um único gênero monotípico, único grupo da família com estípulas ausentes (Stevens 2001, Maas *et al.* 2019). Totalizando cerca de 30 gêneros e 975 espécies (Stevens 2001), representantes de Passifloraceae estão distribuídos entre as regiões tropicais e temperadas, principalmente entre as américas e a África (Stevens 2001, Simpson 2010). De acordo com a lista da flora do Brasil, existem 4 gêneros e 162 espécies pertencentes a

subfamília Passifloroideae (Passifloraceae *sensu stricto*), e 2 gêneros e 159 espécies da subfamília Turneroideae (Flora do Brasil 2020a, b).

Passifloroideae, a subfamília mais numerosa, tem como principal característica a coroa bem desenvolvida (de Wilde 1971, Ulmer & MacDougal 2004). Está subdividida em duas tribos: Paropsieae de Candolle e Passifloreae de Candolle (Stevens 2001, Muschner *et al.* 2003, Ulmer & Macdougal 2004, Judd *et al.* 2008).

A tribo Paropsieae é um grupo parafilético representado por espécies arbustivas e arbóreas originárias da África, desprovidas de gavinhas (Muschner *et al.* 2003), e que, de acordo com Judd *et al.* (2008), provavelmente representa um grupo basal em Passifloraceae. Em contraste, o hábito lianescente, a presença de gavinhas e as flores especializadas, fazem da tribo Passifloreae um grupo monofilético (Muschner *et al.* 2003, Judd *et al.* 2008). É a tribo mais representativa no continente americano, com quatro gêneros ocorrendo no Brasil: *Ancisthrothyrus* Harms, *Dilkea* Mast., *Mitostemma* Mast. e *Passiflora* L. (Araújo 2009, Bernacci *et al.* 2015).

O gênero *Passiflora* L. é representado por aproximadamente 625-650 espécies (Stevens 2001, Cervi 2006), sendo que destas 142 ocorrem no Brasil (Bernacci *et al.* 2015). Espécies deste gênero são facilmente reconhecidas por suas características: cinco estames e presença de androginóforo (Ulmer & MacDougal 2004).

A revisão do gênero *Passiflora* realizada por Feuillet & MacDougal (2003), baseada em caracteres morfológicos, reconhece quatro subgêneros: *Astrophea* (57 espécies), *Decaloba* (204 espécies), *Deidamioides* (17 espécies) e *Passiflora* (234 espécies). Posteriormente, Krosnick *et al.* (2009) adicionaram um novo subgênero, *Tetrapathea* (3 espécies).

As espécies do subgênero *Astrophea* são reconhecidas por apresentar características como o hábito lianescente ou arbóreo, de tamanho pequeno a médio, e

folhas não lobadas. O subgênero *Decaloba* é composto por pequenas trepadeiras, com pequenas flores e frutos, as folhas são frequentemente bilobadas e variegadas, com nectários peciolares ausentes. Em contraste, o subgênero *Passiflora* é caracterizado por possuir grandes flores com vistosas coronas (Ulmer & MacDougal 2004, Krosnick *et al.* 2013).

As três espécies do subgênero *Tetrapathea* também são lianescentes, mas chamam atenção por se tratar de espécies dioicas. No subgênero *Deidamioides* estão as espécies mais basais do gênero *Passiflora*, segundo Ulmer & MacDougal (2004), as quais apresentam um conjunto de características que não se encaixam nos demais, como estípulas minúsculas, glândulas peciolares, folhas não-lobadas e compostas possuindo de 3-9 folíolos. A forma juvenil pode possuir gavinhas com um disco adesivo distal, além de as flores surgirem das gavinhas (Ulmer & MacDougal 2004, Krosnick *et al.* 2013).

Apesar das diferenças morfológicas das folhas, do hábito, do tamanho das flores, frutos e brácteas, e da distribuição dos nectários entre os representantes dos subgêneros, esses são grupos monofiléticos, sustentados por dados moleculares e morfológicos (Muschner *et al.* 2003, Hansen *et al.* 2006, Yotoko *et al.* 2011, Muschner *et al.* 2012).

Relações entre os subgêneros *Astrophea*, *Decaloba*, *Deidamioides* e *Passiflora* são propostas usando caracteres morfológicos, tais como a presença de cinco estames e de androginóforo (Killip 1938, Ulmer & MacDougal 2004), e moleculares (Muschner *et al.* 2003, Hansen *et al.* 2006, Yotoko *et al.* 2011, Muschner *et al.* 2012). Contudo, a nível infrasubgenérico alguns grupos não apresentaram sustentação a partir de filogenias moleculares, como mostrado por Zamberlan (2007) em suas análises com espécies dos quatro subgêneros acima citados. Com relação ao subgênero *Passiflora*, apesar de ser um grupo monofilético, as relações entre as seções e superseções não foram esclarecidas

ainda, assim como as superseções *Astrophea* e *Pseudoastrophea* do subgênero *Astrophea* (Zamberlan 2007).

Algumas superseções dentro do subgênero *Decaloba*, por exemplo, mostraram-se monofiléticas, entre elas *Bryonioides* e *Cieca*. Porém as seções *Xerogona* e *Decaloba* (ambas pertencentes da superseção *Decaloba*) demonstraram não se tratar de grupos monofiléticos, uma vez que *P. sexflora* Juss. e *P. lutea* L., pertencentes à seção *Decaloba*, aparecem agrupadas na seção *Xerogona* (Zamberlan 2007).

As características morfológicas relacionadas aos órgãos vegetativos que mais contribuem na delimitação desses grupos são: 1) o contorno da lâmina foliar (lobada ou não lobada); 2) a presença e distribuição das glândulas; e 3) a morfologia das estípulas (Ulmer & MacDougal 2004).

Conforme mencionado anteriormente, as folhas em Passifloraceae podem apresentar uma enorme diversidade, podendo ser simples ou compostas, lobadas ou não lobadas, com a margem inteira, denteada ou serreada, apresentando glândulas ou não (Cervi 1997, Ulmer & MacDougal 2004). O caráter lobação da folha contribui, principalmente, na delimitação de três subgêneros: 1) *Decaloba*, que apresenta folhas bilobadas e trilobadas; 2) *Deidamioides*, com folhas não lobadas, porém algumas espécies possuem folhas compostas; e 3) *Passiflora* com folhas não lobadas e lobadas com até nove lobos (Ulmer & MacDougal 2004, Feuillet & MacDougal 2007).

O subgênero *Decaloba* é também caracterizado quanto à distribuição das glândulas foliares, as quais se encontram apenas na superfície abaxial da lâmina foliar, entre as nervuras primárias. Contudo, há espécies desse subgênero que não apresentam glândulas foliares, como espécies da seção *Xerogona* (superseção *Decaloba*). Os demais subgêneros são caracterizados pela presença de glândulas foliares: *Astrophea*, glândulas frequentemente peciolares e, em poucos casos, na margem da lâmina foliar;

Deidamioides, com glândulas apenas no pecíolo; e no subgênero *Passiflora* há glândulas peciolares e laminares ocorrendo na posição marginal e submarginal (Ulmer & MacDougal 2004). Em *Tetrapathea* há glândulas peciolares e foliares na região entre as nervuras (Krosnick *et al.* 2009).

Cusset (1970) relaciona a distribuição das glândulas com a lobação da lâmina foliar em espécies de Passifloraceae, e sugere que o caráter “glândulas foliares marginais” em folhas simples é uma condição ancestral dentro da família, ocupando uma posição submarginal secundariamente (Figuras 1A e 1B). Ainda, a partir das folhas simples não lobadas com glândulas marginais, teriam surgido as folhas lobadas também com glândulas marginais. Estas foram precursoras das lâminas foliares com glândulas comissurais, ou seja, posicionadas na região comissural, a qual o *sinu* sofre uma diminuição. Dessa forma, as glândulas assumiram a posição abaxial da lâmina foliar, como ocorre nas espécies do subgênero *Decaloba*, e não mais marginal, como em espécies do subgênero *Passiflora* (Figuras 1C - 1F) (Cusset 1970). Segundo o mesmo autor, a condição mais derivada é a perda total das glândulas na lâmina foliar, situação encontrada nas espécies da seção *Xerogona* (superseção *Decaloba*, subgênero *Decaloba*).

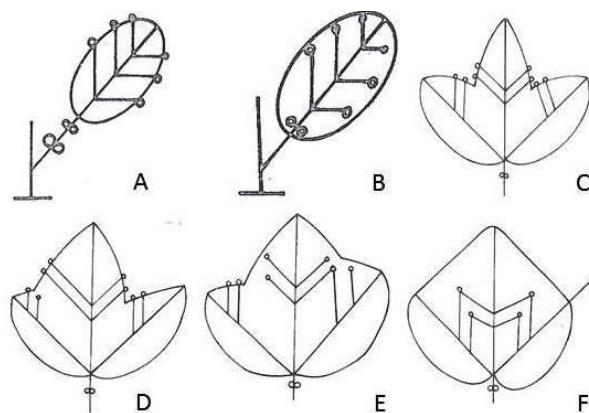


Figura 1. Esquema adaptado de Cusset (1970) sugerindo a evolução das folhas em Passifloraceae a partir da posição das glândulas. **A.** Folhas não lobadas com glândulas marginais e peciolares. **B.** Folhas não lobadas com glândulas submarginais. **C.** Folhas lobadas com glândulas marginais localizadas apenas na região dos sinus (incisão entre os lobos). **D e E.** Ilustram os passos entre a forma C e F, a profundidade dos sinus diminui

até que as glândulas, antes marginais, permanecem e assumem uma posição superficial abaxial (F).

A ocorrência de glândulas nas estípulas de Passifloraceae foi descrita muitas vezes na literatura, apesar disso nem sempre sua presença é mencionada pelos taxonomistas, também sua posição, morfologia e número (Killip 1938, Ulmer & MacDougal 2004, Cervi 2006, Feuillet & MacDougal 2007, Bernacci *et al.* 2015).

Sobre a anatomia das folhas de Passifloraceae, esta é bem conhecida (Metcalf & Chalk 1979, López-Meruvia *et al.* 1993a, 1993b, Kurtz *et al.* 2002, Jáuregui *et al.* 2002, Beraldo & Kato 2008, Brasileiro 2014, Farias *et al.* 2016). A epiderme é frequentemente recoberta por uma fina camada de cutícula e tricomas não glandulares estão quase sempre presentes. Em secção transversal, observa-se, comumente, as células epidérmicas da face adaxial maiores em altura que as células da face abaxial, ou ainda as células da face abaxial papilosas. Os estômatos são do tipo anomocíticos e as folhas podem ser classificadas como epiestomáticas ou anfiestomáticas. O mesofilo é dorsiventral, com o parênquima paliçádico composto geralmente de apenas uma camada, e o lacunoso com amplas câmaras subestomáticas. Apenas as espécies do gênero *Adenia* apresentam mesofilo isolateral, como verificado por Metcalfe & Chalk (1979) e Brasileiro (2014). Idioblastos são muito frequentes neste tecido, podem conter compostos fenólicos, ou cristais do tipo drusas e/ou prismáticos. Os feixes vasculares podem ser organizados em um arco aberto ou feixe único, e muitas vezes circundados por fibras pericíclicas (Metcalf & Chalk 1979, López-Meruvia *et al.* 1993a, 1993b, Kurtz *et al.* 2002, Jáuregui *et al.* 2002, Beraldo & Kato 2008, Brasileiro 2014, Farias *et al.* 2016).

Na família Passifloraceae, alguns caracteres anatômicos das folhas demonstraram-se bastante úteis na identificação dos taxos, como no caso da superseção *Decaloba* (subgênero *Decaloba*), em que células epidérmicas papilosas são muito frequentes. Esta superseção é subdividida nas seções *Decaloba* e *Xerogona*, que apresentam como

principal diferença anatômica a organização do sistema vascular, arco aberto em *Decaloba* e feixe central único em *Xerogona* (Brasileiro 2014).

Os tricomas não glandulares em forma de gancho auxiliam na identificação de espécies da superseção *Bryonioides* (subgênero *Decaloba*) (Ulmer & MacDougal 2004).

No subgênero *Passiflora*, a superseção *Coccinea* se diferencia das demais por apresentar células epidérmicas papilosas; e a superseção *Laurifolia* apresenta frequentemente células epidérmicas com contorno reto em vista frontal, fibras associadas a todos os feixes e o sistema vascular organizado em arco aberto (Brasileiro 2014).

Muito se conhece a respeito da morfologia e anatomia das folhas de Passifloraceae (Metcalf & Chalk 1979, López-Meruvia *et al.* 1993a, 1993b, Kurtz *et al.* 2002, Jáuregui *et al.* 2002, Beraldo & Kato 2008, Brasileiro 2014, Farias *et al.* 2016), e quão úteis podem ser na classificação e identificação dos taxos (Ulmer & MacDougal 2004), enquanto que as estípulas, mesmo fornecendo dados importantes, são muitas vezes despercebidas em diversos grupos de plantas (Weberling 2006).

O termo estípula foi inicialmente empregado por Lineu (Lubbock 1899) e trata-se de estruturas que se desenvolvem na base de uma folha, frequentemente, pareadas em lados opostos no ponto de inserção do pecíolo ao eixo caulinar, mas podem estar individualizadas quando as estruturas opostas se fundem – interpeciolar – ou quando há fusão entre estípulas de uma mesma folha – intrapeciolar (Lubbock 1899, Bell 1991, Weberling 2006, Judd *et al.* 2008, Simpson 2010). Por vezes as estípulas são tão diminutas que se assemelham à escamas, mas podem ser tão conspícuas idênticas à folhas inteiras – a partir das quais podem ser reconhecidas pela ausência de gemas axilares (Lubbock 1899, Bell 1991, Judd *et al.* 2008, Simpson 2010). Elas podem apresentar uma infinidade de modificações como espinhos, ócreas, gavinhas, nectários extraflorais, tricomas (Bell 1991, Judd *et al.* 2008) e coléteres (Capelli *et al.* 2017).

Por serem órgãos com morfologia característica e constantemente presente em muitos grupos de plantas, principalmente entre as angiospermas, as estípulas são bastante utilizados na descrição de espécies e, além disso, podem ser um indicativo de parentescos entre taxas (Weberling 2006, Judd *et al.* 2008).

A presença de estípulas é um caráter predominante em Passifloraceae, apresentam ampla diversidade morfológica (Ulmer & MacDougal 2004, Judd *et al.* 2008), e, por isso, é um caráter largamente empregado na distinção entre grupos de espécies (Killip 1983). Nos subgêneros *Decaloba* e *Deidamioides* (gênero *Passiflora*), estípulas inconspícuas e não foliáceas são frequentes, enquanto que entre as espécies do subgênero *Passiflora*, as estípulas são, geralmente, conspícuas com simetria dorsiventral, semelhante a uma folha, sendo descritas como foliáceas (Ulmer & MacDougal 2004, Feuillet & MacDougal 2007).

Durante a formação de uma folha há a atividade de diferentes regiões de crescimento que vão resultar na folha madura (Foster 1936, Esau 1960, Fahn 1989, Dengler & Tsukaya 2001, Beck 2005, Tsukaya 2010, Melo-de-Pinna & Cruz 2020). Para alguns autores, como Foster (1936), Esau (1960) e Fahn (1989), o desenvolvimento foliar pode ser dividido em quatro estágios: 1) iniciação, 2) diferenciação inicial, 3) desenvolvimento do eixo da folha, e 4) origem e histogênese da lâmina foliar. Os três primeiros estágios são caracterizados pelo estabelecimento dos eixos próximo-distal e adaxial-abaxial do primórdio foliar. Segundo estes autores, a iniciação do primórdio foliar surge a partir de divisões que ocorrem em um pequeno grupo de células lateralmente situadas ao meristema apical caulinar. Já nas primeiras etapas do desenvolvimento, o primórdio assume uma forma cônica com a face adaxial achatada e, anatomicamente, consiste em uma protoderme, tecido fundamental e procâmbio. A atividade do meristema apical, geralmente, tem curta duração em angiospermas e o crescimento próximo-distal

ocorre por atividade do meristema intercalar. Ao mesmo tempo ocorrem divisões celulares na região adaxial proporcionando um aumento em volume do primórdio foliar (Foster 1936, Esau 1960, Fahn 1989).

No último estágio de desenvolvimento, é determinada a morfologia da lâmina foliar, caráter este que está relacionado com os meristemas marginal e em placa (“plate meristem”). A lâmina foliar inicia seu desenvolvimento ainda durante o crescimento em comprimento e espessura do primórdio por meio de células das margens que se dividem continuamente, formando o meristema marginal. A atividade do meristema marginal varia entre as regiões do primórdio foliar, de modo que, nas folhas pecioladas, tal crescimento é reprimido na base, da qual se originará o pecíolo (Fahn 1989, Esau 1960, Foster 1936).

O processo da ontogênese foliar também pode ser descrito a partir de três estágios de desenvolvimento: 1) iniciação; 2) morfogênese primária – processos que estabelecem a forma básica da folha, relacionada à sua simetria e sub-regiões; e 3) expansão e morfogênese secundária – ocorre aumento na superfície e no volume final da folha, cuja expansão pode ser isométrica ou alométrica, podendo o órgão manter ou alterar a forma estabelecida durante a morfogênese primária (Dengler & Tsukaya 2001, Beck 2005, Tsukaya 2010; Melo-de-Pinna & Cruz 2020).

De acordo com os autores, na iniciação, tem-se a formação do primórdio foliar, o qual já apresenta polaridade adaxial-abaxial. Na morfogênese primária, são estabelecidas as subregiões da folha, isto é, sua lâmina e a base. Na morfogênese secundária, ocorre um aumento da área superficial e volume por meio da expansão e diferenciação celular, que definirá a forma final da folha, por isso leva um período de tempo maior. Dois padrões de expansão podem ser identificados nesse momento: 1) isométrico – retém a forma estabelecida pela morfogênese primária; e 2) alométrico – a forma inicial é alterada. O

restante do crescimento se dá pela atividade do meristema intercalar e difuso, com um aumento na área e volume (Dengler & Tsukaya 2001, Beck 2005, Tsukaya 2010).

Desde o início da formação da lâmina foliar, os meristemas marginal e em placa encontram-se ativos formando uma expansão centro-lateral de uma determinada região do primórdio. A variação da atividade desses meristemas pode resultar em uma grande diversidade de formas foliares (Dengler & Tsukaya 2001, Beck 2005, Tsukaya 2010). Desta maneira, folhas com diferentes morfologias surgem como resultados de diferentes padrões de desenvolvimento, especialmente perceptíveis na atividade do meristema marginal, que pode ser: 1) prolongada (Dengler & Tsukaya 2001, Beck 2005, Tsukaya 2010); 2) reduzida (Hernandes-Lopes *et al.* 2016, Melo-de-Pinna *et al.* 2016); ou 3) ausente, como, por exemplo, em folhas com morfologia cilíndrica (Dengler & Tsukaya 2001, Beck 2005, Tsukaya 2010).

Recentes estudos realizados por Hernandez-Lopes *et al.* (2016) e Melo-de-Pinna *et al.*(2016) mostram que em folhas suculentas cilíndricas a região de crescimento marginal é periférica, diferente do observado em folhas planas (achatadas no sentido adaxial-abaxial), onde tal região se mantém nos flancos da face adaxial do primórdio.

A partir dos padrões de atividades das regiões meristemáticas, durante a formação de lâminas foliares com simetria dorsiventral ou radial, surgem algumas questões quando pensamos em estípulas que também podem apresentar os dois planos de simetria: 1) Há variação na localização do meristema marginal entre estípulas cilíndricas e as dorsiventrais? 2) Nas estípulas dorsiventrais, a assimetria observada pode ser o resultado da atividade diferencial do meristema marginal em apenas um lado do primórdio de estípula?

V. Conclusões

1. Os caracteres morfológicos das estípulas em espécies de *Passiflora* têm um grande valor taxonômico, principalmente a nível subgenérico. Caracteres, como o tipo foliáceo, a presença de nectários extraflorais e a expansão bilateral da lâmina da estípula nas espécies do subgênero *Passiflora*, distingui-o dos subgêneros *Astrophea*, *Decaloba* e *Deidamioides*, que possuem estípulas não foliáceas e ausência de nectários extraflorais;
2. Os nectários extraflorais estipulares, que são muito frequentes no subgênero *Passiflora*, são pouco mencionados em trabalhos taxonômicos. A perda dessa informação é prejudicial do ponto de vista sistemático e taxonômico, e, provavelmente, se deve ao processo de preparo do material vegetal. Esse processo, conhecido como herborização, consiste na secagem das amostras, que impossibilita, muitas vezes, a visualização dessas estruturas. Por tanto, sugerimos que as estípulas sejam analisadas *in vivo* e/ou estocadas em fixador apropriado para uma melhor análise em laboratório;
3. As análises da anatomia das estípulas nos levaram a concluir que muitas das características encontradas são comuns na lâmina foliar de eudicotiledôneas mesófitas, como: a) uma epiderme com camada única de células, composta frequentemente por tricomas tectores e distribuição de estômatos em ambas ou apenas uma face; b) mesofilo homogêneo ou heterogêneo, no caso de muitas estípulas foliáceas; e c) feixes vasculares frequentemente colaterais, organizados em um padrão de venação algumas vezes pinada, outras vezes palmada;
4. *Passiflora incarnata*, possui uma estípula com morfologia setácea, mas com características particulares. Nestas, a porção distal é diferente da porção proximal.

Na porção distal, a estípula tem um contorno cilíndrico, na epiderme não há estômatos, o mesofilo possui pequenos espaços intercelulares e o sistema vascular está organizado em uma nervura única concêntrica do tipo anfivasal, sugerindo provável processo de abaxialização durante a formação da estípula. Na porção proximal, há nectários extraflorais na margem e na base da estípula, estômatos apenas na face abaxial, numa posição acima das demais células da epiderme, amplos espaços intercelulares no mesofilo, e os feixes vasculares são colaterais. O que nos leva a concluir que análises anatômicas ao longo do eixo próximo-distal das estípulas são de grande importância e podem revelar novos casos de feixes anfivais na região apical, além de possibilitar investigações sobre o provável processo de abaxialização durante o desenvolvimento molecular das estípulas.

5. Nas análises da ontogenia das estípulas, observamos que os processos são semelhantes aos que ocorrem no desenvolvimento de folhas. De um modo geral, a iniciação ocorre no segundo plastocrono devido a atividade do meristema apical, que é responsável pelo crescimento próximo distal. A formação da lâmina nas estípulas se dá pela atividade de uma região de crescimento marginal, seja prolongada ou breve, que é seguida, muitas vezes do meristema em placa, e a variação da atividade desses meristemas resulta nas diferentes formas estípulares. Em *Passiflora deidamoides*, não há atividade da região de crescimento marginal. A atividade meristemática nas estípulas resultou em seis distintos padrões morfológicos: a) estípulas foliáceas simétricas; b) estípulas foliáceas assimétricas com expansão unilateral; c) estípulas foliáceas assimétricas com expansão bilateral; d) estípulas não foliáceas com expansão da lâmina unilateralmente; e) estípulas não foliáceas com expansão da lâmina bilateralmente; e f) estípulas não foliáceas com expansão laminar ausente.

6. Na proposta filogenética de Yotoko *et al.* (2011), identificamos quatro grandes clados que são distintos morfoanatomicamente. Um clado composto pelas espécies do subgênero *Decaloba*, e três outros clados compostos por espécies do subgênero *Passiflora*. Sinapomorfias morfoanatômicas foram diagnósticas em alguns dos clados.
7. O Clado III apresentou um conjunto de caracteres morfoanatômicos compartilhados (sinapomorfias) quando analisados os estados de caráter: “forma foliácea”, “a expansão da lâmina da estípula bilateralmente”, “a presença de nectários extraflorais”, “a organização dorsiventral do mesofilo” e “a venação pinada”.

Referências Bibliográficas

- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society** 161: 105-121.
- APG IV. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV, *Botanical Journal of the Linnean Society*. 181 (1): 1–20.
- ARAÚJO, D. A. de. 2009. Passifloraceae. In: RODAL, M. J. N. **Flora de Mirandiba**. Recife – PE: Associação Plantas do Nordeste.
- BECK, C.B. 2005. **An Introduction to Plant Structure and Development**. Cambridge University Press, p. 431.
- BELL, A. D. 1991. **Na Illustrated Guide to Flowering Plant Morphology**. Oxford University Press.
- BERALDO, J.; KATO, E. T. M. 2010. Morfoanatomia de folhas e caules de *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 20 (2): 233-239.
- BERNACCI, L.C.; CERVI, A.C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; NUNES, T.S.; IMIG, D.C.; MEZZONATO, A.C. 2015. *Passifloraceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB182>> acesso em 24/02/2020.
- BLEIN, T.; HASSON, A.; LAUFS, P. 2010. Leaf development: What it needs to be complex. **Current Opinion in Plant Biology** 13: 75-82.
- BRASILEIRO, 2014. **Morfologia e anatomia foliar comparada de espécies do gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae)**. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo.
- CAPELLI, N. V.; RODIGUES, B. A.; DEMARCO, D. 2017. Stipules in Apocynaceae: an ontogenetic perspective. **AoB Plants** 9: plw083; doi:10.1093/aobpla/plw08.
- CARDOSO, 2010. **Estruturas secretoras em órgãos vegetativos aéreos de *Passiflora alata* Curtis e *P. edulis* Sims (Passifloraceae) com ênfase na localização *in situ* de compostos bioativos**. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas.
- CERVI, A. C. 2006. **O gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950**. Madri.
- CERVI, A. C. 1997. **O gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950**. Fontqueria XLV. Madri.

- COSTA, E. C. S.; NUNES, T. S.; MELO, J. I. M. 2015. Flora da Paraíba, Brasil: Passifloraceae *sensu stricto*. **Rodriguésia** 66(1): 271-284.
- CUSSET, M.G. 1965. Les nectries extra-louraxe t la valeur de la feuille des Passifloracees. *Revue Générale Botanique* 72:145-219.
- DENGLER, N. G.; TSUKAYAT, H. 2001. Leaf morphogenesis in dicotyledons: current issues. **International Journal of Plant Sciences** 162 (3): 459-464.
- DE WILDE, W. J. J. O. 1971. A monograph of the genus *Adenia* Forsk. (Passifloraceae). **Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen** 71: 1– 281.
- DURKEE, L.T.; BAIRD, C.W.; COHEN, P.F. 1984. Light and electron microscopy of the resin glands of *Passiflora foetida* (Passifloraceae). **American Journal of Botany** 71:596-602.
- DURKEE, L. T. 1983. **The ultrastructure of floral and extrafloral nectaries**. In: BENTLEY, B.; ELIAS, T. (ed). The biology of nectaries. Columbia University Press, New York.
- DURKEE, L. T.; GAAL, D. J.; REISNER, W. T. 1981. The floral and extrafloral nectarines of *Passiflora*. I. The floral nectar. **American Journal of Botany** 68: 453-462.
- EDGAR, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, [s.l.], 32 (5): 1792-1797, <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>.
- ELIAS, T. S. 1983. **Extrafloral nectaries: their structure and distribution**. In: BENTLEY, B.; ELIAS, T. (ed). The biology of nectaries. Columbia University Press, New York.
- ELLIS, B.; DALY, D. C.; HICKEY, L. J.; JOHNSON, K. R.; MITCHELL, J. D.; WILF, P. & WING, S. L. 2009. **Manual of Leaf Architecture**. Published in Association with the New York Botanical Garden.
- ESAU, K. 1967. **Plant anatomy**. 2 ed. John Wiley & Sons, Inc.
- FAHN, A. 1979. **Secretory tissues in plants**. Academic Press Inc, London.
- FAHN, A. 1989. **Plant anatomy**. 3 ed. Pergamon Press.
- FARIAS, V.; MARANHO, L. T.; MUSCHNER, V. C; SOFFIATTI, P. 2016. Anatomia foliar de *Passiflora* subgênero *Decaloba* (Passifloraceae): implicações taxonômicas. *Rodriguesia*, 67(1): 29-44.
- FEUILLET, C. P.; MACDOUGAL, J. M. 2003. **A new infrageneric classification of *Passiflora***. *Passiflora* 13: 34-38.
- FEUILLET, C. P.; MACDOUGAL, J. M. 2007. Passifloraceae. In Kubitzki, K. 2007. **The families and Genera of vascular Plants**. Springer Berlin Heidelberg v9 p 270-281.

- FLEMING, A. J. 2002. The mechanism of leaf morphogenesis. **Planta** 216: 17-22.
- FLORA DO BRASIL. 2020^a. **Turneraceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB240>>. Acesso em: 24 Fev. 2020
- FLORA DO BRASIL. 2020^b. **Passifloraceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB182>>. Acesso em: 24 Fev. 2020
- FOSTER, A. S. 1936. Leaf differentiation in angiosperms. **The Botanical Review** 2 (7): 349-372.
- GERLACH, G. 1969. **Botanische Mikrotechnik**. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- GONÇALVES, E. G.; LORENZI, H. 2007. **Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora.
- HANSEN, A. K.; GILBERT, L. E.; SIMPSON, B. B.; DOWNIE, S. R.; CERVI, A. C.; JANSEN, R.K. 2006. Phylogenetic Relationships and Chromosome Number Evolution in *Passiflora*. **Systematic Botany** 31(1): p. 138-150.
- HERNANDES-LOPES, J.; MELO-DE-PINNA, G. F. A.; OLIVEIRA-NETO, M. A. 2016. Different ways to build succulent leaves in Portulacineae (Caryophyllales). **International Journal of Plant Sciences**, 177 (2): 198-208.
- JÁUREGUI, D.; GARCÍA, M.; PEREZ, D. 2002. Morfoanatomia de las glândulas em cuatro especies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) de Venezuela. **Caldasia** 24:33-40.
- JENSEN, W. A. 1962. **Botanical histochemistry: principles and practice**. W.H. Freeman e Co., San Francisco.
- JOHANSEN, D. A. 1940. **Plant Mycrotechnique**. New York: McGraw-Hill Book.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOG, E.A., STEVENS, P.F. & DONOGHUE, M.J. 2008. **Plant Systematics - A phylogenetic approach**. Ed. 3. Sinauer Associates, Sunderland.
- KILLIP, E. P. 1938. The American species of Passifloraceae. Publications of the Field Museum of Natural History 19: 1-613.
- KROSNICK, S. E.; FORD, A. J.; FREUDENSTEIN, J. V. 2009. Taxonomic revision of *Passiflora* subgenus *Tetrapathea* including the monotypic genera *Hollrungia* and *Tetrapathea* (Passifloraceae), and a new species of *Passiflora*. **Systematic Botany**, 34(2): 375–385.
- KROSNICK, S. E.; PORTER-UTLEY, K. E.; MACDOUGAL, J. M.; JORGENSEN, P. M.; MCDADE, L. A. 2013. New insights into the evolution of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (Passifloraceae): phylogenetic relationships and morphological synapomorphies. **Systematic Botany** 38 (3): 692-713.

- KURTZ, M. T. F., SANTOS, C. A. M.; DUARTE, M. R.; SATO, M. E. O. 2003. Morfo-anatomia de folhas de maracujá: *Passiflora actinia* Hooker, Passifloraceae. *Acta Farmaceutica Bonaerense* 22(2): 105-112.
- [LE MOS, R. C. C.](#); SILVA, D. C.; MELO-DE-PINNA, G. F. A. 2017. A structural review of foliar glands in *Passiflora* L. (Passifloraceae). **PLoS One**. 12(11): e0187905. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187905>
- LILLIE, R. D. 1965. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 3rd. Ed. New York: McGraw Hill.
- LUBBOCK J. 1899. **On buds and stipules**. The International Scientific Series. London: K. Paul, Trench, Trubner & Co., Ltd.
- MAAS, P. J. M.; BAAS, P.; CHRISTENHUSZ, M. J. M.; CLARKSON, J. J.; KOEK-NOORMAN, J.; MENNEGA, A. M. W.; TOKUOKA, T.; VAN DER BANK, M.; VAN DER HAM, R. W. J. M.; VAN MARLE, E. J.; WESTRA, L. Y. T. H.; CHASE M. W. 2019. 'Unknown yellow': *Pibiria*, a new genus of Passifloraceae with a mixture of features found in Passifloroideae and Turneroideae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 189 (4): 397–407.
- MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. 2015. Mesquite: a Modular System for Evolutionary Analysis. Version 3.04. <https://mequiteproject.org>.
- MCCONNELL, J. R.; BARTON, M. K. 1998. Leaf polarity and meristem formation in *Arabidopsis*. **Development** 125: 2935–2942.
- MELO-DE-PINNA, G. F. A.; HERNANDES-LOPES, J.; OGURA, A. S.; SANTOS, L. K.; SILVA, D. C.; HAEVERMANS, T. 2016. Growth patterns and different arrangements of vascular tissues in succulent leaves. **International Journal of Plant Sciences**, 177 (8): 643-660.
- MELO-DE-PINNA, G. F. A.; CRUZ, R. S. 2020. Leaf Development in Vascular Plants. In: DEMARCO, D. (Org.). *Plant Ontogeny: studies, analyses and evolutionary implications* 1ed. New York: Nova Science, p. 83-105.
- LÓPEZ-MERUVIA, M. Y.; PALACIOS, V.; CERVI, A. C. 1993a. Anatomia foliar de *Passiflora capsularis* L. (Passifloraceae). **Acta Biológica Paranaense** 22: 34-44.
- LÓPEZ-MERUVIA, M. Y.; BONA, C.; CERVI, A. C. 1993b. Anatomia foliar de *Passiflora campanulata* Masters (Passifloraceae). **Acta Biológica Paranaense** 22: 45-62.
- METCALFE, C. R.; CHALK, L. 1950. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press. v.2.
- METCALFE, C. R. & CHALK, L. 1979. Passifloraceae. In: **Anatomy of the dicotyledons**. V2. 2 ed. Clarendon Press, Oxford.
- MUSCHNER, V. C.; LORENZ, A. P.; CERVI, A. C.; BONATTO, S. L.; SOUZA-CHIES, T. T.; SALZANO, F. M.; FREITAS, L. B. 2003. A first molecular phylogenetic analysis of *Passiflora* (Passifloraceae). **American Journal of Botany** 90 (8): 1229-1238.

- MUSCHNER, V. C.; ZAMBERLAN, P. M.; BONATO, S. L.; FREITAS, L. B. 2012. Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (Passifloraceae). **Genetics and Molecular Biology**, 35 (4): 1036-1043.
- PEARSE, A. G. E. 1985. **Histochemistry: theoretical and applied**. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- PIZZOLATO, T. D. e LILLIE, R. D. 1973. Mayer's tannic acid – ferric chloride stain for mucins. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry** 21: 56-64.
- RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DERMARK, P.; AYRES, D.L.; DARLING, A.; HÖHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M.A.; HUELSENBECK, J. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Syst. Biol.** 61: 539–542.
- RUZIN, S. E. 1999. **Plant Microtechnique and Microscopy**. Oxford University Press, New York.
- SHORT, P. S. 2011. Passifloraceae. In: SHORT, P.S. & COWIE, I. D. (eds). **Flora of the Darwin Region**. Northern Territory Herbarium, Department of Natural Resources, Environment, the Arts and Sport. v1, pp. 1-5.
- SILVEIRA, M. 1989. **Preparo de amostras biológicas para microscopia eletrônica de varredura**. In: SOUZA, W. (ed). Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica. v.1. Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, Rio de Janeiro.
- SILVESTRO, D.; MICHALAK, I. 2012. raxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. **Organisms Diversity & Evolution**, 12: 335-337.
- SIMPSON, M. G. 2010. **Plant Systematics**. 2ª ed. Editora Elsevier.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. 2008. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Ed. 2. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- STEVENS, P. F. 2001. **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since].
- STEVENS, P. F. (2001 onwards). **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since].
- STRITTMATER, C.G.D. 1973. Nueva técnica de diafanización. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires** 15(1): 126-129.
- SVOBODA, H. T. & BALLARD JR, H. E. 2018. Phenetic and cladistic studies help clarify species assemblages in *Passiflora* section *Dysosmia* (Passifloraceae). **Brittonia** 70(1): 15-24.
- TSUKAYA, H. 2010. Leaf development and evolution. **Journal of Plant Research**, 123 (1): 3-6.

- ULMER, T.; MACDOUGAL, M. J. 2004. *Passiflora: Passionflowers of the world*. Timber Press, Inc., Portland.
- YOTOKO, K. S. C.; DORNELAS, M. C.; TOGNI, P. D.; FONSECA, T. C.; SALZANO, F. M.; BONATTO, S. L.; FREITAS, L. B. 2011. Does variation in genome sizes reflect adaptive or neutral processes? New clues from *Passiflora*. **PLoS One** 6(3): 1-8.
- ZAMBERLAN, P. M. 2007. Filogenia de *Passiflora* L. (Passifloraceae): questões infra-subgenéricas. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 105p.
- WEBERLING, F. 2006. Las estípulas como caracteres sistemáticos confiables. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, 41: 127-150.
-