

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA
ÊNFASE EM ANATOMIA VEGETAL

Rhaniel Nicholas Lisowski Gonçalves

**Morfoanatomia dos órgãos reprodutivos de três espécies de *Psychotria* L.
(Rubiaceae) e sua contribuição para a sistemática da aliança Psychotrieae**

Porto Alegre

2023

Rhaniel Nicholas Lisowski Gonçalves

**Morfoanatomia dos órgãos reprodutivos de três espécies de *Psychotria* L.
(Rubiaceae) e sua contribuição para a sistemática da aliança Psychotrieae**

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor em Botânica com
ênfase em Anatomia Vegetal na Universidade
Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araújo
Mariath.

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Gonçalves, Rhaniel Nicholas Lisowski
Morfoanatomia dos órgãos reprodutivos de três
espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae) e sua
contribuição para a sistemática da aliança
Psychotrieae / Rhaniel Nicholas Lisowski Gonçalves. --
2023.
160 f.
Orientador: Jorge Ernesto de Araújo Mariath.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa de
Pós-Graduação em Botânica, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Anatomia Vegetal. 2. Embriologia Vegetal. 3.
Morfoanatomia de órgãos reprodutivos de angiospermas.
I. Mariath, Jorge Ernesto de Araújo, orient. II.
Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Programa de Pós-Graduação em Botânica - PPGBOT
Av. Bento Gonçalves, 9500 - Bairro Agronomia - CEP 91501970 - Porto Alegre - RS - www.ufrgs.br
Prédio 43433 s 214

ATA DE DEFESA DE TESE Nº16/2023

Aluno: **Rhaniel Nicholas Lisowski Gonçalves**, com ingresso em 01/04/2019
Título: “Morfoanatomia dos órgãos reprodutivos de três espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae) e sua contribuição para a sistemática da aliança Psychotrieae”
Orientador: Dr. Jorge Ernesto de Araújo Mariath,

Data: 11 de outubro de 2023

Horário: 14:00

Local: sessão web

Banca Examinadora:

Dra. Letícia Silva Souto (UFSCar)

Dra. Mariana Ferreira Alves (Instituto de Pesquisa Jardim Botânico/RJ)

Dra. Sofia Aumond Kuhn (UFRGS)

Avaliação Geral da Banca: (X) Aprovado () Reprovado

Correções solicitadas: () Sim (X) Não

Indicação de Voto de Louvor: () Sim (X) Não

Observação: Esta Ata não pode ser considerada como instrumento final do processo de concessão de título ao aluno.

Porto Alegre, 11 de outubro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **JORGE ERNESTO DE ARAUJO MARIATH, Docente Convidado ou Técnico-Administrativo Convidado (Aposentado UFRGS)**, em 11/10/2023, às 18:26, conforme art. 7º, I, da Portaria nº 6954 de 11 de setembro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Letícia Silva Souto, Usuário Externo**, em 11/10/2023, às 18:27, conforme art. 7º, I, da Portaria nº 6954 de 11 de setembro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Mariana Ferreira Alves, Usuário Externo**, em 11/10/2023, às 18:28, conforme art. 7º, I, da Portaria nº 6954 de 11 de setembro de 2015.



Documento assinado eletronicamente por **Sofia Aumond Kuhn, PROFESSOR DO MAGISTÉRIO SUPERIOR**, em 11/10/2023, às 18:30, conforme art. 7º, I, da Portaria nº 6954 de 11 de setembro de 2015.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.ufrgs.br/sei/verifica.php> informando o código verificador **5159572** e o código CRC **1294A77F**.

Aos meus pais, Ivana e Aldoir, e à minha companheira, Patrícia.

Agradecimentos

Ao Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao Laboratório de Anatomia Vegetal (LAVeg), por disponibilizar o espaço, equipamentos e materiais necessários para a realização deste trabalho;

Ao Programa de Pós-Graduação em Botânica do Instituto de Biociências da UFRGS, por tornar possível a realização deste trabalho;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jorge Ernesto de Araújo Mariath, por todos os ensinamentos, paciência e amizade ao longo dos últimos quatro anos. Por ter aceitado o desafio de voltar a trabalhar com a família Rubiaceae e, ao mesmo tempo, contribuir enormemente na minha formação como botânico e embriologista;

Ao corpo técnico e docente do Laboratório de Anatomia Vegetal da UFRGS, pelo auxílio prestado durante a realização do presente trabalho;

Aos colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal da UFRGS, pela convivência e por todas as conversas que certamente contribuiram para elevar a qualidade intelectual desta tese;

Às professoras Dra. Letícia Silva Souto, Dra. Mariana Ferreira Alves, Dra. Sofia Aumond Kuhn, Dra. Tamara Pastori e Dra. Tatiana Teixeira de Souza Chies, por aceitarem participar da banca de defesa da tese e pelas contribuições feitas a este trabalho;

Aos queridos amigos Gabriel Moresco e Willian Pagini, por abrirem as portas de sua casa e me receberem em Porto Alegre, pelo carinho e amizade;

Aos grandes amigos que fiz durante o mestrado, Mariana Ferreira Alves, Fábio Cassola, Edimar Faria Menezes Lopes e Gleycianne Vieira da Costa, por todo o carinho e apoio durante todos estes anos;

Aos meus grandes amigos/irmãos de infância, Heliton Augusto Wiggers, Christian Eduardo Bugay, Renato Paulo Schultz Júnior e Wilian Oro, pela amizade de anos e apoio que muito facilitaram a minha passagem pelo doutorado;

À minha querida amiga, Fernanda de Siqueira Pieczak, pelas conversas diárias e por todo o amor, carinho e incentivo ao longo dos últimos anos;

À minha companheira de vida, Patrícia Gentz, por todo o amor e companheirismo ao longo dos últimos anos, por todo o incentivo e apoio que tornaram possível a realização deste trabalho;

Aos meus pais, Ivana Lisowski e Aldoir Couto Gonçalves, e aos meus irmãos por todo o amor, apoio, incentivo e suporte durante o doutorado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Muito obrigado!

Resumo

Entre as angiospermas, a família Rubiaceae é uma das que apresenta a maior diversidade, contendo aproximadamente 13.500 espécies distribuídas em 650 gêneros. Ao longo da história, a família passou por diversas alterações em sua circunscrição, variando de oito subfamílias até as duas atualmente aceitas: Rubioideae e Cinchonoideae. Em Rubioideae, um dos grupos com maior riqueza de espécies é conhecido informalmente como aliança Psychotriaceae, um grupo considerado monofilético formado por nove tribos bem delimitadas, mas que apresenta problemas de delimitação interna, especialmente em decorrência da ausência de sinapomorfias morfológicas de suas principais linhagens evolutivas. *Psychotria* L. é o maior gênero da aliança e de Rubiaceae, com quase 2.000 espécies, e consiste em um grupo parafilético e taxonomicamente complexo, morfológicamente uniforme e com ausência de caracteres diagnósticos, o que dificulta a correta circunscrição do gênero. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar e descrever a estrutura morfoanatômica dos órgãos reprodutivos e os processos de desenvolvimento de frutos e sementes, óvulos, anteras e de esporogênese e gametogênese de *Psychotria carthagenensis* Jacq., *Psychotria brachyceras* Mull. Arg. e *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schltldl., avaliando sua potencial contribuição em questões sistemáticas de *Psychotria* e da aliança Psychotriaceae. Nossos resultados revelaram características morfoanatômicas florais ainda não descritas para *Psychotria* e que, quando comparadas aos dados disponíveis na literatura para a aliança Psychotriaceae, mostram que os caracteres relacionados ao gineceu possuem grande relevância para hierarquias taxonômicas superiores. Por outro lado, o desenvolvimento de frutos e sementes apresentam grande relevância para a circunscrição de *Psychotria*. Os dados indicam que, enquanto *P. carthagenensis* é claramente uma *Psychotria stricto sensu*, *P. brachyceras* e *P. leiocarpa* apresentam características mais próximas do gênero *Palicourea* Aubl., e levantamos a possibilidade de transferência destas espécies. Ainda, as análises embriológicas realizadas nos permitiram revisar antigas tendências evolutivas propostas para os óvulos de Rubiaceae, além de descrever um novo tipo de óvulo para a família: o Tipo *Heteropsychotria*. Algumas características, como o megásporo funcional, também suportam a hipótese de transferência de *P. brachyceras* e *P. leiocarpa* para o gênero *Palicourea*. O desenvolvimento da antera e formação dos grãos de pólen, no entanto, são estáveis entre as espécies avaliadas, e poderiam representar sinapomorfias morfológicas para o clado Psychotriaceae-Palicoureeae da aliança Psychotriaceae.

Palavras-chave: Gineceu; Megasporogênese; Megagametogênese; Microsporogênese; Microgametogênese; Óvulo; Pericarpo; Rubioideae; Sementes.

Abstract

Among angiosperms, the Rubiaceae family is one of the most diverse, containing approximately 13.500 species distributed across 650 genera. Throughout history, the family has undergone various changes in its circumscription, ranging from up to eight subfamilies to the two currently accepted: Rubioideae and Cinchonoideae. In Rubioideae, one of the species-rich groups is informally known as the Psychotrieae alliance, a monophyletic group consisting of nine well-defined tribes but presenting issues of internal delimitation, especially due to the absence of morphological synapomorphies from its main evolutionary lineages. *Psychotria* L. is the largest genus within the alliance and Rubiaceae, with nearly 2.000 species, and constitutes a paraphyletic and taxonomically complex group, morphologically uniform with a lack of diagnostic characters, which difficult the accurate delimitation of the genus. Thus, the goal of this study was to analyze and describe the morphoanatomical structure of the reproductive organs and the processes of fruit, seed, ovule and anther formation, sporogenesis and gametogenesis in *Psychotria carthagenensis* Jacq., *Psychotria brachyceras* Mull. Arg., and *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schldl., evaluating their potential contribution to systematic issues of *Psychotria* and the Psychotrieae alliance. Our results revealed previously undescribed floral morphoanatomical characteristics for *Psychotria*, which, when compared to the available data in the literature for the Psychotrieae alliance, demonstrate that characters related to the gynoecium are highly relevant for higher taxonomic hierarchies. On the other hand, fruit and seed development are very relevant for the circumscription of *Psychotria*. The data indicate that while *P. carthagenensis* is clearly a *Psychotria stricto sensu*, *P. brachyceras* and *P. leiocarpa* exhibit characteristics more closely related to the genus *Palicourea* Aubl., and we raise the possibility of transferring these species. Furthermore, the embryological analyses conducted allowed us to revise old evolutionary trends proposed for the ovules, as well as describe a new ovule type for the family: the *Heteropsychotria* type. Some features, such as the functional megaspore, also support the hypothesis of transferring *P. brachyceras* and *P. leiocarpa* to the genus *Palicourea*. However, the development of the anther and the formation of pollen grains are stable among the evaluated species and could represent morphological synapomorphies for the Psychotrieae-Palicoureeae clade within the Psychotrieae alliance.

Key-words: Gynoecium; Megasporogenesis; Megagametogenesis; Microsporogenesis; Microgametogenesis; Ovule; Pericarp; Rubioideae; Seeds.

Introdução Geral

A família Rubiaceae

Rubiaceae, também conhecida como a família do café, é uma das mais ricas famílias de angiospermas, sendo composta por aproximadamente 13.500 espécies distribuídas em aproximadamente 650 gêneros aceitos (Davis *et al.*, 2009; Antonelli *et al.*, 2021). A família apresenta uma distribuição cosmopolita, especialmente na região tropical e subtropical, com preferência por habitats de florestas úmidas, mas com representantes até mesmo em ambientes desérticos ou árticos (Davis *et al.*, 2009; Wikstrom, Bremer & Rydin, 2020). Em decorrência de sua ampla distribuição, as espécies de Rubiaceae apresentam alta diversidade ecológica, morfológica e fisiológica, com hábito variando desde pequenas herbáceas até árvores de grande porte, mas também com algumas espécies de lianas, epífitos e até plantas aquáticas (Robbrecht, 1988; Wikstrom *et al.*, 2015; Wikstrom *et al.*, 2020). Mesmo com tamanha diversidade morfológica, alguns caracteres são considerados diagnósticos da família, como a presença de folhas simples, inteiras, de filotaxia em sua maior parte oposta (às vezes verticilada), presença de estípulas interpeciolares e ovários predominantemente ínferos (Davis *et al.*, 2009).

Com relação a sua circunscrição, Rubiaceae é considerada uma família monofilética, mas ainda existem muitas incertezas e inconsistências sobre as relações internas de alguns de seus grupos, problema que se mantém ao longo de décadas de estudos (Bremer *et al.*, 1999; Antonelli *et al.*, 2021). Um dos principais problemas para essa dificuldade na delimitação interna da família está relacionado a ausência de caracteres diagnósticos para subgrupos, e a presença de homoplasias morfológicas, isto é, a presença de caracteres morfológicos semelhantes em grupos distintos que não derivam de um mesmo ancestral comum direto (Bremer *et al.*, 1999). Nas últimas décadas, tanto robustas filogenias morfológicas (Verdcourt, 1958; Bremekamp, 1966; Robbrecht, 1988) quanto moleculares (Bremer & Jansen, 1991; Bremer *et al.*, 1999; Robbrecht & Manen, 2006; Razafimandimbison, Rydin & Bremer, 2008; Bremer & Eriksson, 2009; Razafimandimbison *et al.*, 2014; Wikstrom *et al.*, 2015; Wikstrom *et al.*, 2020; Antonelli *et al.*, 2021) foram realizadas, porém gerando resultados contraditórios. Esse fato evidencia a necessidade de mais dados morfológicos e de genomas nucleares (Antonelli *et al.*, 2021) e mitocondriais (Rydin *et al.*, 2017), uma vez que a maior parte

dos estudos filogenético-moleculares utilizaram cpDNA, visando uma melhor compreensão dessas relações internas da família.

No século XIX, as primeiras classificações da família eram baseadas puramente em alguns poucos caracteres morfológicos, como a de Schumann (1891), em que o número de óvulos por carpelo foi usado para subdividir a família em dois grupos duas subfamílias: Cinchonoideae e Coffeoidae. Entretanto, tais classificações foram consideradas artificiais e que não refletiam de fato a evolução dos grupos (Verdcourt, 1958; Bremekamp, 1966). Na segunda metade do século XX, Verdcourt (1958) realizou um amplo estudo morfológico de Rubiaceae incluindo inúmeros caracteres morfológicos, como hábito, presença de estípulas, morfologia das inflorescências, flores, frutos e sementes, além de dados anatômicos, citológicos e biogeográficos, gerando uma filogenia mais confiável. Dessa forma, o autor subdividiu Rubiaceae em três subfamílias: Rubioideae, caracterizada pela presença de ráfides e sementes albuminosas; Cinchonoideae, com ráfides ausentes e sementes albuminosas; e a subfamília Guettardoideae, com ráfides ausentes e sementes exalbuminosas.

Posteriormente, Bremekamp (1966) realizou uma nova filogenia morfológica, aceitando as três subfamílias propostas por Verdcourt (1958), mas adicionando outras cinco: Ixoroideae, Urophyllloideae, Hillioideae, Gleasonioideae e Pomazotoideae, se baseando especialmente em caracteres do envoltório da semente, presença ou ausência de ráfides, deposição secundária de pólen e estivação da corola para a separação dos grupos. Embora ambas as filogenias (Verdcourt, 1958; Bremekamp, 1966) fossem consideradas naturais, baseadas em uma maior quantidade de caracteres, os especialistas de Rubiaceae não conseguiram chegar em um consenso sobre qual das duas, melhor refletia a história evolutiva da família (Bremer *et al.*, 1999).

Mais de duas décadas depois, após uma extensa avaliação das classificações anteriores e concluir que elas ainda não utilizaram caracteres o suficiente, uma nova filogenia atualizada foi proposta por Robbrecht (1988), com a divisão de Rubiaceae, no que o mesmo considerou satisfatória, em quatro subfamílias: Rubioideae, Cinchonoideae, Ixoroideae e Antirheoideae. Embora tenha mantido quase que a totalidade da circunscrição de Rubioideae e Ixoroideae, proposta por Bremekamp (1966), várias das subfamílias propostas anteriormente foram transferidas para Cinchonoideae, como Hillioideae, Gleasenioideae e alguns grupos de Urophyllloideae, e para Antirheoideae, como as espécies de Guettardoideae. Dessa forma, Robbrecht (1988) fez uma descrição

morfológica detalhada de cada uma das subfamílias, como especial foco na morfoanatomia dos órgãos reprodutivos.

A partir do início da década de 1990, se iniciaram predominantemente a realização das filogenias moleculares, utilizando novos dados até então desconhecidos na tentativa de resolver as inconsistências na delimitação da família. A primeira filogenia com maior amostragem foi realizada por Bremer & Jansen (1991), analisando o DNA plastidial de 33 espécies e gêneros de 18 tribos, com representantes das quatro então aceitas subfamílias. Neste trabalho, os autores concluíram que os dados moleculares eram extremamente úteis para reconstruções filogenéticas da família, indicando que Rubioideae e Ixoroideae seriam monofiléticas, enquanto Cinchonoideae seria parafilética. Para torná-la monofilética, seria necessário que as subfamílias Ixoroideae e Antirheoideae fossem transferidas para Cinchonoideae, uma vez que representantes das duas primeiras estariam alocados na última.

Posteriormente, Bremer *et al.*, (1999) realizaram um novo estudo, aumentando tanto a amostragem quanto o número de caracteres analisados (*rbcL* e *ndhF*), incluindo 42 gêneros, concluindo que, de fato, o maior número de caracteres possui mais impacto. O trabalho confirmou a monofilia de Rubiaceae, mas com suporte para apenas três subfamílias: Rubioideae, Cinchonoideae e Ixoroideae, com os gêneros *Luculia* e *Coptosapelta* sem classificação em subfamílias, condição que permanece até hoje. Menos de uma década depois, essa classificação foi contestada por Robbrecht & Manen (2006), que realizaram um gigantesco trabalho analisando mais de 500 espécies de 300 gêneros de Rubiaceae, utilizando DNA plastidial e nuclear, e comparando os resultados com dados morfológicos, anatômicos e biogeográficos. Com base nesses dados, propuseram a divisão da família em duas subfamílias, Rubioideae e Cinchonoideae, onde Ixoroideae estaria classificada como uma super tribo de Cinchonoideae: Ixoridinae. Além disso, dois grandes clados foram identificados em Rubioideae, também classificados como super tribos: Psychotriidinae e Rubiidinae, que se diferenciavam principalmente pelo hábito (arbóreas e herbáceas), além de descreverem várias novas tribos para a família.

Outra abordagem realizada por Bremer & Eriksson (2009), também com ampla amostragem (534 espécies de 329 gêneros), utilizando cinco regiões gênicas diferentes do cpDNA, apresentou discordâncias quanto a classificação proposta por Robbrecht & Manen (2006). Neste trabalho, houve um alto suporte para a manutenção de Rubiaceae subdividida em três subfamílias, novamente Rubioideae, Cinchonoideae e Ixoroideae,

argumentando que as árvores geradas por Robbrecht & Manen (2006) não tinham suporte suficiente para a manutenção de apenas duas subfamílias.

Apesar dos enormes avanços no entendimento da filogenia de Rubiaceae, muitas questões permaneciam em aberto e dificilmente um consenso absoluto era alcançado. Dessa forma, o aumento do número de caracteres genéticos avaliados se mostrava como uma opção para se obter filogenias mais confiáveis, embora a maior parte dos estudos focassem em usar DNA plastidial. Assim, Rydin, Wikström & Bremer (2017) utilizaram pela primeira vez o DNA mitocondrial em uma filogenia de Rubiaceae, e perceberam que, apesar de serem confiáveis, eram conflitantes com os resultados descritos para DNA plastidial, como por exemplo a rejeição da monofilia das subfamílias Cinchonoideae e Ixoroideae.

Embora diversas alterações fossem feitas na classificação infrafamiliar de Rubiaceae ao longo das décadas de estudos, dois grandes grupos eram consistentemente reconhecidos, um representando a subfamília Rubioideae e outro as subfamílias Cinchonoideae e Ixoroideae (Wikstrom *et al.*, 2020). Essa forma de divisão da família já havia sido proposta por Robbrecht & Manen (2006), e nos últimos anos vem ganhando cada vez mais suporte (Wikstrom *et al.*, 2020; Antonelli *et al.*, 2021). Enquanto a divisão da família em três subfamílias proposta por Bremer & Eriksson (2009) era até então aceita, os dados obtidos por Antonelli *et al.* (2021) mostram a divisão em apenas duas (Rubioideae e Cinchonoideae), resultados que correspondem ao proposto anteriormente por Robbrecht & Manen (2006).

Subfamília Rubioideae e aliança Psychotrieae

Embora a delimitação das subfamílias de Rubiaceae tenham passado por inúmeras alterações ao longo dos anos, a circunscrição de Rubioideae permaneceu relativamente constante, e claramente é a que menos sofreu alterações. É considerada a maior subfamília de Rubiaceae, contendo aproximadamente 8.000 espécies distribuídas em 27 tribos (Wikstrom *et al.*, 2020). Esse grupo foi descrito por Bremekamp (1952), e foi caracterizado principalmente pela presença de ráfides, pela ornamentação da exotesta e presença de deposição secundária de pólen. A subfamília apresenta uma alta diversidade morfológica, com espécies de hábitos herbáceos e arbustivos com presença de ráfides e estivação valvada. A distribuição é cosmopolita, com a maior parte das espécies nas

regiões tropicais e subtropicais, e algumas em regiões temperadas (Bremer & Eriksson, 2009).

De acordo com Bremer (2009), Rubioideae é provavelmente a subfamília mais bem compreendida em termos filogenéticos, mas poucas espécies foram investigadas considerando a riqueza do grupo. Apesar de Rubioideae ser considerada uma subfamília monofilética, existem muitas incertezas entre as relações de alguns grupos dentro dessas alianças. A maioria dos gêneros, especialmente os maiores, como por exemplo *Psychotria* L., ainda precisam de investigações muito mais profundas para que as circunscrições sejam resolvidas (Bremer, 2009; Bremer & Eriksson, 2009). Atualmente, Rubioideae pode ser dividida em dois grandes grupos, que representam grupamentos informais de espécies: a aliança Spermaceae, composta por 10 tribos, e a aliança Psychotrieae, composta por nove tribos, onde cada uma dessas alianças contém mais de 3.000 espécies. Além disso, algumas tribos não se encaixam nesses grupos, como Coussareeae, um grado contendo Lasiantheae, Colletocemateae, Urophyllaeae, Ophiorrizeae e Perameae (Wikstrom *et al.*, 2020).

A aliança Psychotrieae *sensu* Bremer & Manen (2000), também chamada de supertribo Psychotriidinae por Robbrecht & Manen (2006), é um grupo monofilético pertencente a subfamília Rubioideae (Rubiaceae), de distribuição pantropical, composto por aproximadamente 3450 espécies (Razafimandimbison *et al.*, 2008; Razafimandimbison *et al.*, 2017). Os membros desse grupo apresentam principalmente hábito arbustivo, ocorrendo em áreas de sub-bosque, e são caracterizados pela produção de pequenos frutos carnosos e drupáceos (Razafimandimbison *et al.*, 2017). Atualmente, a aliança é subdividida em nove tribos bem suportadas por dados moleculares: Craterispermeae Verde., Gaertnereae Bremek. ex Darwin, Mitchelleae Razafim. & B. Bremer, Morindeae Miq., Palicoureeae Robbr. & Manen, Prismatomerideae Ruan, Psychotrieae Cham. & Schltl., Schizocoleae C.Rydin & B. Bremer, e Schradereae Bremek (Razafimandimbison *et al.*, 2014; Razafimandimbison *et al.*, 2017). Estudos filogenéticos moleculares nas últimas décadas aumentaram o conhecimento sobre a aliança Psychotrieae, mas ainda existem muitos problemas de delimitação interna e as relações entre as tribos que a compõem ainda não são totalmente compreendidas (Razafimandimbison *et al.*, 2008).

Desde a sua descrição, a aliança passou por diversas alterações nas delimitações das tribos. Em sua classificação da subfamília Rubioideae, Bremer & Manen (2000) descreveram a aliança Psychotriaceae como um clado composto inicialmente por cinco tribos: Craterispermeae, Gaertnereae, Schradereae, Morindeae e Psychotriaceae, onde Morindeae *s.l.* não era considerada monofilética, e já constatavam a dificuldade de compreensão das relações dessas tribos. O atual gênero *Palicourea* Aubl. era alocado em Psychotriaceae, enquanto Morindeae, onde uma das principais características morfológicas é a presença de dois óvulos por carpelo, continha *Prismatomeris* (atual Prismatomerideae), *Mitchella* e *Damnacanthus* (atual Mitchelleae), que apresentam apenas um óvulo por carpelo.

A conformação da aliança foi posteriormente modificada por Robbrecht & Manen (2006), que propuseram a divisão de Rubiaceae em duas subfamílias com quatro supertribos, entre elas Psychotriidinae, que representa a aliança. Gaertnereae foi identificada como basal em um grande clado incluindo Schradereae, Morindeae e Psychotriaceae. Os autores defenderam a circunscrição de Morindeae *s.l.*, ainda contendo *Prismatomeris*, *Mitchella* e *Damnacanthus*, mas segregaram *Palicourea*, *Psychotria* subg. *Heteropsychotria* e outros gêneros proximalmente relacionados de Psychotriaceae para uma nova tribo chamada Palicoureeae. Ainda, sugeriram uma redelimitação de Psychotriaceae *s.s.* Craterispermeae ainda seguia como uma tribo monogenérica, morfológicamente diferenciada, e sem uma posição definida dentro da aliança.

Na atual circunscrição da aliança (Razafimandimbison *et al.*, 2008), a tribo Schizocoleae é considerada grupo irmão das demais (Rydin, Razafimandimbison, & Bremer, 2008). As nove tribos são subdivididas em quatro linhagens evolutivas principais: clado Schizocoleae; clado Schradereae-Gaertnereae-Morindeae *s.s.*-Mitchelleae (nova tribo para alocar *Mitchella* e *Damnacanthus*); clado Psychotriaceae-Palicoureeae e clado Prismatomerideae-Craterispermeae, com dados inconclusivos com relação ao último clado. Bremer & Eriksson (2009) argumentaram que *Mitchella*+*Damnacanthus*, *Schizocolea* e a subtribo Prismatomerinae tem relações há muito consideradas incertas na aliança, o que justifica a posição em suas próprias tribos (Schizocoleae, Mitchelleae, Prismatomerideae), definidos por Igersheim (1993), Razafimandimbison *et al.* (2008), Rydin *et al.* (2008) e Ruan (1988), cuja segregação torna Morindeae *s.s.* monofilética. Um dos principais problemas para a compreensão das relações entre as tribos da aliança é que todas são morfológicamente distintas dentro de

cada clado, que conseqüentemente não possuem sinapomorfias morfológicas diagnósticas, o que dificulta a sua delimitação (Razafimandimbison *et al.*, 2008).

O gênero Psychotria L.

Para compreender as complexas relações entre as tribos da aliança Psychotrieae, ainda é necessário um estudo mais aprofundado sobre os maiores e mais problemáticos grupos, que possuem grande valor quando analisados em um contexto evolutivo (Bremer & Eriksson, 2009). *Psychotria* L. é o maior gênero da tribo Psychotrieae e da família Rubiaceae, de distribuição pantropical, composto por aproximadamente 1.800 espécies (Razafimandimbison *et al.*, 2014; Razafimandimbison *et al.*, 2017). O gênero é morfológicamente uniforme, caracterizado pela presença de flores pequenas, brancas e actinomorfas, ovários íferos, biloculares e bicarpelares, com um óvulo por lóculo, além de caracteres diagnósticos da subfamília Rubioideae, como a presença de ráfides, estivação valvada e frequente heterostilia (Nepokroeff, Bremer & Sytsma, 1999; Robbrecht & Manen, 2006; Barrabé, 2014).

Inicialmente, Petit (1964) e Steyemark (1972) reconheceram três subgêneros em *Psychotria*: subg. *Psychotria*, de distribuição pantropical e um conjunto bem definido de caracteres; subg. *Tetramerae*, com espécies distribuídas na África e Madagascar, e que apresentam nódulos de bactérias; e subg. *Heteropsychotria*, que abriga o restante das espécies dos neotropicos e apresentam morfologia muito heterogênea. De acordo com Nepokroeff *et al.* (1999), na tribo Psychotrieae, tais subgêneros se dividem em dois cladros: o primeiro contendo o subg. *Psychotria* e o subg. *Tetramerae*, juntamente com um subclado composto por algumas espécies do pacífico, com o gênero *Amaracarpus* e a subtribo Hydnophytinae, configurando *Psychotria s.s.*; e o segundo, que compreende o subg. *Heteropsychotria* e o restante dos gêneros da tribo.

Esses dados evidenciaram que *Psychotria s.l.* (com os três subgêneros) poderia ser considerado parafilético, onde o subg. *Heteropsychotria* era mais próximo de *Palicourea* e outros gêneros próximos de *Psychotria s.s.* Dessa forma, os autores sugeriram uma reorganização do gênero, em uma circunscrição mais ampla que incluía, além do subg. *Psychotria*, o subg. *Tetramerae* e os membros da subtribo Hydnophytinae. Por outro lado, Andersson (2002) foi contrário a essa reorganização, argumentando que Nepokroeff *et al.* (1999) não apresentam argumentos consistentes para essa delimitação,

focando apenas em segregar espécies do complexo *Palicourea*. Dessa forma, sugeriu uma circunscrição mais restrita de *Psychotria*, excluindo as espécies do clado do pacífico e a subtribo Hydnophytinae de *Psychotria* s.s., onde o gênero seria caracterizado morfológicamente pela ausência de fendas de germinação pré-formadas (PGS) no pirênio, presença de cristas abaxiais nos pirênios e poléns com aberturas simples.

Nenhum desses estudos levou a um consenso acerca da delimitação de *Psychotria*. As análises moleculares de Razafimandimbison *et al.* (2014) confirmam a parafilía do gênero e, aliados aos resultados de Nepokroeff *et al.* (1999), Andersson (2002) e Barrabé (2014), sugeriram que fosse adotada uma circunscrição ampla de *Psychotria*, incluindo todos os gêneros da tribo Psychotrieae, o que a tornaria monogenérica. Dessa forma, os dados provenientes das filogenias moleculares têm se mostrado inconsistentes ao longo dos anos, evidenciando que *Psychotria* é um gênero taxonomicamente muito complexo. Alguns dos principais fatores que levam a essa complexidade são o grande número de espécies e ausência de caracteres diagnósticos para identificar os subgrupos (Andersson & Rova, 1999; Nepokroeff *et al.*, 1999; Razafimandimbison *et al.*, 2008; Sangeetha & Banurekha, 2020). Além disso, a ampla distribuição das espécies dificulta a realização de estudos mais completos sobre o gênero (Nepokroeff *et al.*, 1999; Andersson, 2002).

Morfoanatomia dos órgãos reprodutivos

A fim de compreender a relação entre os grupos e a evolução dos caracteres dentro da aliança Psychotrieae e no gênero *Psychotria*, a comparação entre dados morfológicos e anatômicos com as hipóteses filogenéticas propostas pelos estudos moleculares é de grande importância e necessária também para a maior parte da família (Robbrecht & Manen, 2006). O gênero *Psychotria* e os demais grupos da aliança Psychotrieae formam uma grande matriz de linhagens muito diversa, e a identificação de caracteres apomórficos é de grande importância para estabelecer novas e corretas classificações (Nepokroeff *et al.*, 1999). Além disso, aliados aos dados moleculares, a elaboração de bases morfológicas pode ser usada na produção de reconstruções de caracteres ancestrais, que tornam possível entender a evolução de determinadas características dentro um grupo (Endress, 2002).

Em Rubiaceae, as flores apresentam características típicas das asterídeas, como simetria actinomorfa, estames epipétalos de mesmo número de lobos da corola com

filamento fusionado em sua base, assim como ovários íferos, que são característicos da família. Além disso, as flores são predominantemente pentâmeras, com poucas exceções de tribos que apresentam flores tetrâmeras, e de tamanho pequeno ou médio (Robbrecht, 1988). Com relação aos órgãos florais, pouquíssimos dados se encontram disponíveis na literatura sobre a estrutura morfoanatômica (especialmente anatômica) do cálice, corola e estames, enquanto os dados relacionados ao gineceu parecem ser mais abundantes e taxonomicamente informativos, especialmente para a aliança Psychotrieae (Gonçalves & Mariath, 2022).

De acordo com Robbrecht (1988), alguns caracteres podem ser citados como característicos das flores de Rubiaceae. O cálice tende a ser um tubo curto com lobos livres e distintos, mas em alguns casos pode ser truncado e sem distinção dos lobos. Coléteres são frequentemente observados em seu interior, com distribuição variada. As corolas são predominantemente hipocrateriformes, de coloração branca, mas com alguns grupos herbáceos como Coussareeae possuem flores de coloração azulada ou amarela, como observado na tribo Hamelieae (Robbrecht, 1988; Martínez-Cabrera, Terrazas & Ochoterena, 2014). Em *Psychotria*, as corolas são geralmente brancas com cálice e corola de simetria actinomorfa. Com relação a estivação da corola, em Rubiaceae tanto os tipos valvada, contorta ou imbricada ocorrem, e este é considerado um caráter altamente relevante do ponto de vista taxonômico, embora alguns tipos intermediários não descritos possam existir (Robbrecht, 1988). Os estames normalmente formam um verticilo adnato ao tubo da corola na base e livre no ápice, com número de estames igual ao número de lobos da corola. Uma das poucas exceções ocorre no gênero *Theligonum*, onde algumas espécies podem apresentar até 30 estames por flor (Robbrecht, 1988).

Ovários íferos, bicarpelares e biloculares representam um dos conjuntos de caracteres morfológicos mais marcantes de Rubiaceae (Robbrecht, 1988). Entretanto, algumas variações podem ser observadas na tribo Gaertnereae, onde o ovário é ífero no início do desenvolvimento e torna-se semi-súpero quando a flor está em antese (Igersheim *et al.*, 1994). Apesar da tendência de haver uma uniformidade morfológica na estrutura geral do ovário, a anatomia da epiderme externa e o tipo de cristais presentes no mesofilo ovariano podem fornecer potenciais dados de relevância taxonômica para análises filogenéticas (Gonçalves & Mariath, 2022).

Com relação a estrutura dos óvulos, os de curvatura anátropa parecem ser dominantes na família e no gênero *Psychotria* (Robbrecht, 1988; Igersheim *et al.*, 1994;

Martínez-Cabrera *et al.*, 2014; Gonçalves & Mariath, 2022). Algumas das poucas exceções descritas na literatura envolvem a descrição de óvulos campilótopos em Mitchelleae e Schradereae, ou hemianátropos tendendo a campilotropia em Prismatomerideae (Robbrecht, Igersheim & Puff, 1991; Igersheim & Robbrecht, 1993; Puff, 1998). Entretanto, a estrutura anatômica dos óvulos foi avaliada em poucos táxons da família considerando a sua grande diversidade de espécies, e outros tipos de óvulos podem ocorrer e ser mais comuns do que se imagina (De Block, 1995). Enquanto a curvatura dos óvulos apresenta, até o momento, pouca variação na família, a placentação é uma característica muito mais variável, desde basal a apical ou axial (Robbrecht, 1988; Robbrecht *et al.*, 1991; Igersheim, 1992; Igersheim & Robbrecht, 1993; Martínez-Cabrera *et al.*, 2014), o que torna esse caráter importante do ponto de vista taxonômico.

Em Rubiaceae, os frutos apresentam grande diversidade morfológica, com espécies possuindo tanto frutos secos quanto carnosos (Robbrecht, 1988). De acordo com Bremer & Eriksson (1992), o provável fruto ancestral na família era uma cápsula com várias sementes, e frutos carnosos surgiram de forma independente pelo menos 12 vezes em diferentes linhagens evolutivas. Concomitantemente ao surgimento de frutos carnosos, houve uma tendência de redução do número de sementes por lóculo para uma, o que não foi observado em frutos secos. Dessa forma, em Psychotrieae por exemplo, o provável fruto ancestral era um fruto carnoso com múltiplas sementes, chegando ao estado atual onde a maior parte das espécies apresentam frutos drupáceos com uma semente por lóculo (Bremer & Eriksson, 1992).

A estrutura morfológica dos frutos de Rubiaceae apresenta valor taxonômico até mesmo em nível genérico. Em *Psychotria*, um gênero com elevado número de espécies e considerado parafilético, os frutos são predominantemente vermelhos/alaranjados com formato elíptico no subg. *Psychotria*, enquanto o subg. *Heteropsychotria* apresenta frutos azuis/púrpura com formato globoso (Taylor, 2004; Taylor, 2007). Essas diferenças morfológicas nos frutos eram usadas como um dos argumentos para a separação das espécies desses subgêneros, onde as espécies do subg. *Heteropsychotria* foram gradativamente transferidas para o gênero *Palicourea* Aubl. (tribo Palicoureeae), em uma tentativa de diminuir o número de espécies de *Psychotria* para torná-lo um gênero melhor delimitado (Nepokroeff *et al.*, 1999; Taylor, 2004; Robbrecht & Manen, 2006).

Apesar da utilidade taxonômica da morfologia dos frutos, os dados relacionados à sua anatomia são mais escassos. Em Psychotrieae, existe uma tendência para a

manutenção de um exocarpo fino, com uma única camada de células (Robbrecht *et al.*, 1991; Igersheim & Robbrecht, 1993), enquanto o mesocarpo apresenta maior variação estrutural, desde o número de camadas (até divisão do mesofilo em diferentes regiões) até os tipos celulares que formam esse tecido (Pietrobon, 2008; Salazar *et al.*, 2021). Nas espécies que apresentam frutos drupáceos, o endocarpo se torna lignificado e, junto com as sementes, forma um pirênio (Robbrecht, 1988; Piesschart *et al.*, 1999). Esse endocarpo lignificado atua na proteção da semente, embora alguns grupos, como a tribo Prismatomerideae, possam apresentar um endocarpo membranoso, fino e sem sinais de lignificação (Igersheim & Robbrecht, 1993).

As sementes de Rubiaceae, em sua maioria, são exotestais, ou seja, a exotesta forma a camada mecânica da semente, enquanto a endotesta é parenquimatosa e é colapsada durante o desenvolvimento (De Block, 1995). Porém, em alguns casos, até mesmo a exotesta é membranosa, como observado em Craterispermeae (Robbrecht, 1988). A estrutura da testa da semente há muito é utilizada em contextos taxonômicos, desde Bremekamp (1966), onde essas características foram a base para a subdivisão de Rubiaceae em várias subfamílias distintas. Uma característica interessante e comum nas sementes da família, com elevado valor taxonômico, é a presença de ruminação, ou seja, invaginações do envoltório para dentro do endosperma (Robbrecht, 1988). As invaginações variam em profundidade, e Periasamy (1962) descreveu ao menos sete tipos diferentes para a família, e em *Psychotria* existe uma ampla variação de estados de caráter, uma vez que sua maior relevância taxonômica ocorre em nível genérico (Robbrecht, 1988).

Todas as espécies da família apresentam endosperma nas sementes, mas pode existir uma variação no conteúdo de reserva, variando de amilífero a lipídico. Essa diferença, inclusive, já foi usada com uma das justificativas para a separação de grupos, como Morindeae, com endosperma lipídico, e Psychotriaceae, com endosperma predominantemente amilífero (Robbrecht, 1988). Embora a presença de amido no endosperma seja característico em Psychotriaceae, Robbrecht (1988) já havia registrado a presença de lipídeos no endosperma de algumas espécies de *Psychotria*. Entretanto, vários trabalhos posteriores demonstraram a parafilia do gênero, e tais observações podem representar, na verdade, outros subgrupos dentro de *Psychotria*.

Embora os estudos relacionados aos aspectos morfoanatômicos de flores, frutos e sementes de Rubiaceae tenham sido pobremente explorados em relação à sua

aplicabilidade em estudos sistemáticos, os aspectos embriológicos referentes a formação de óvulos e processos de esporogênese e gametogênese já demonstraram sua utilidade nessa questão. Em um primeiro momento, a estrutura dos óvulos (estrutura dos tegumentos e curvatura/placentação) começou a ser estudada de forma mais aprofundada por Schleiden (1837) e Lloyd (1899), mas o primeiro estudo mais amplo, usando uma perspectiva filogenética foi realizado por Fagerlind (1937). Neste trabalho, foram estabelecidas tendências evolutivas para os óvulos de Rubiaceae, além da classificação de seis tipos de óvulos, e até hoje é usado como base para estudos embriológicos na família.

Posteriormente, novos trabalhos sobre a embriologia de Rubiaceae foram realizados, elevando o número de óvulos descritos para 13 (Fagerlind, 1937; Andronova, 1977; Galati, 1991; Mariath & Cocucci, 1997; De Toni & Mariath, 2004, 2008, 2010; Figueiredo *et al.*, 2013, 2017; Judkevich *et al.*, 2022a). Para isso, foram estabelecidas novas tendências evolutivas, como a perda do tegumento externo, inclusão do nucelo na calaza, achatamento da epiderme nucelar, redução do número de células arqueosporiais e redução progressiva da epiderme nucelar. Além da estrutura dos óvulos, algumas características relacionadas ao desenvolvimento dos megásporos e gametas femininos, como a posição do megásporo funcional e a estrutura do saco embrionário também apresentam variação (Rubiaceae (Fagerlind, 1937; De Toni & Mariath, 2010; Figueiredo *et al.*, 2013). Dessa forma, o estudo das características embriológicas de Rubiaceae permitem não apenas entender a evolução de tais caracteres na família, mas também como eles podem contribuir para o entendimento de relações entre grupos (Figueiredo *et al.*, 2013, 2017).

Se por um lado os caracteres dos processos envolvidos no desenvolvimento do óvulo, dos megásporos e gametas são descritos com maior riqueza de detalhes, informações sobre a formação da parede da antera, dos micrósporos e microgametas são muito escassas, ainda mais considerando a diversidade de espécies na família. Esses caracteres constituem uma rica fonte de informações altamente relevantes do ponto de vista taxonômico (Hansson & El-Ghazaly, 2000; Furness, Rudall & Sampson, 2002, Åstrand *et al.*, 2021), mas no caso de *Psychotria*, poucos fornecem dados úteis para a sistemática do gênero (e.g. Souza *et al.*, 2008). Entre os caracteres informativos em nível infra-genérico, pode-se destacar o número de camadas nos tecidos da antera; a classificação do tapete; morfologia da unidade de dispersão; presença ou ausência de

orbículos; tipo de meiose; número de células no grão de pólen maduro; e substâncias de reserva do grão de pólen (Hansson & El-Ghazaly, 2000; Vinckier, Huysmans & Smets, 2000; Yue, Kuang & Liao, 2017; Judkevich, Salas & Gonzalez, 2022b).

Apesar de serem considerados informativos, a escassez de dados ou dados fragmentados relacionados aos processos embriológicos em uma família tão diversa como Rubiaceae deixa em aberto muitas questões relacionadas ao desenvolvimento dessas estruturas e de sua potencial contribuição para a sistemática do gênero. Nesse contexto, a descrição de dados não apenas embriológicos, mas também relacionados as características morfoanatômicas dos órgãos reprodutivos tanto na aliança Psychotrieae quanto no gênero *Psychotria* são extremamente importantes. Sua combinação com as hipóteses filogenéticas é importante e essencial para compreender de melhor forma as relações sistemáticas entre esses grupos (Robbrecht & Manen, 2006).

Referências Bibliográficas

Andersson L. 2002. Relationships and Generic Circumscriptions in the *Psychotria* Complex (Rubiaceae, Psychotrieae). *Systematics and Geography of Plants* **72**: 167–202.

Andersson L, Rova JHE. 1999. The *rps16* intron and the phylogeny of the Rubioideae (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution* **214**: 161–186.

Andronova NN. 1977. On the structure of the ovule of Rubiaceae. *Botanische Zeitung* **62**: 1461-1469.

Antonelli A, Clarkson JJ, Kainulainen K, Maurin O, Brewer GE, Davis AP, Epiawalage N, Goyder DJ, Livshultz T, Persson C, Pokorny L, Straub SCK, Struwe L, Zuntini AR, Forest F, Baker WK. 2021. Settling a family feud: a high-level phylogenomic framework for the Gnetiales based on 353 nuclear genes and partial plastomes. *American Journal of Botany* **108**: 1143-1165.

Åstrand J, Knight C, Robson J, Talle B, Wilson ZA. 2021. Evolution and diversity of the angiosperm anther: trends in function and development. *Plant Reproduction* **34**: 307-319.

Barrabé L. 2014. Four new species of *Psychotria* (Rubiaceae) from New Caledonia, including one presumed to be extinct. *Phytotaxa* **173**: 101–116.

Bremekamp CEB. 1952. The African Species of *Oldenlandia* L. *sensu* Hiern et K. Schumann. *Verh. Akad. Wet. Amst* **48**: 1-297.

Bremekamp CEB. 1966. Remarks on the position, the delimitation and the subdivision of the Rubiaceae. *Acta Botanica Neerlandica* **15**: 1-33.

Bremer B. 2009. A Review of molecular phylogenetic studies of Rubiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **96**: 4-26.

Bremer B, Eriksson O. 1992. Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. *Biological Journal of the Linnean Society* **47**: 79-95.

Bremer B, Eriksson T. 2009. Time tree of Rubiaceae: Phylogeny and dating the family, subfamilies, and tribes. *International Journal of Plant Sciences* **170**: 766–793.

Bremer B, Jansen RK. 1991. Comparative restriction site mapping of chloroplast DNA implies new phylogenetic relationships within Rubiaceae. *American Journal of Botany* **78**: 198-213.

Bremer B, Jansen RK, Oxelman B, Backlund M, Lantz H, Kim K. 1999. More Characters or More Taxa for a Robust Phylogeny—Case Study from the Coffee Family (Rubiaceae). *Systematic Biology* **48**: 413-435.

Bremer B, Manen JF. 2000. Phylogeny and classification of the subfamily Rubioideae (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution* **225**: 43-72.

Davis AP, Govaerts R, Bridson DM, Ruhsam M, Moat J, Brummitt NA. 2009. A global assessment of distribution, diversity, endemism, and taxonomic effort in the Rubiaceae. *Annals of Missouri Botanical Garden* **96**: 68–78.

De Block P. 1995. Ovary, seed and fruit of *Rutidea* (Rubiaceae, Pavetteae). *Plant Systematics and Evolution* **196**: 1–17.

De Toni KLG, Mariath JEA. 2004. Desenvolvimento do rudimento seminal em *Borreria verticillata* (L.) G. Mey. (Rubiaceae – Rubioideae – Spermaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **27**: 185-192.

De Toni KLG, Mariath JEA. 2008. Ovule ontogeny in Rubiaceae (Juss.): *Chomelia obtusa* (Cinchonoideae–Guettardeae) and *Ixora coccinea* (Ixoroideae–Ixoreae). *Plant Systematics and Evolution* **272**: 39-48.

De Toni KLG, Mariath JEA. 2010. Ovule ontogeny of *Relbunium* species in the evolutionary context of Rubiaceae. *Australian Journal of Botany* **58**: 70-79.

Endress PK. 2002. Morphology and angiosperm systematics in the molecular era. *Botanical Review* **68**: 545–570.

Fagerlind F. 1937. Embryologische, zytologische und bestäubungsexperimentelle Studien in der Familie Rubiaceae nebst Bemerkungen über einige Polyploiditätsprobleme. *Acta Horti Bergiani* **2**: 196–470.

Figueiredo RC, Masullo FA, Vieira RC, De Toni KLG. 2013. Development of carpels and ovules in *Psychotria carthagenensis* (Psychotrieae) and *Rudgea macrophylla* (Palicoureeae) (Rubioideae, Rubiaceae). *South African Journal of Botany* **84**: 110-114.

- Figueiredo RC, Vieira RC, Mariath JEA, Moço MCC, De Toni KLG. 2017.** Development of carpels and ovules in *Dialypetalanthus fuscescens* Kuhlm. (Rubiaceae): an enigmatic taxon. *Acta Botanica Brasilica* **31**: 128-133.
- Furness CA, Rudall PJ, Sampson FB. 2002.** Evolution of Microsporogenesis in Angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* **163**: 235-260.
- Galati BG. 1991.** Estudios embriológicos em la tribu Spermaceae (Rubiaceae) Parte I: Anatomia floral, megasporogenesis, megagametogenesis. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* **27**: 7-20.
- Gonçalves RNL, Mariath JEA. 2022.** Novelties in the floral morphoanatomy of three *Psychotria* L. species (Rubiaceae). *Flora* **296**: 152155.
- Hansson T, El-Ghazaly G. 2000.** Development and cytochemistry of pollen and tapetum in *Mitriostigma axillare* (Rubiaceae). *Grana* **39**: 65-89.
- Igersheim A. 1992.** The ovary, fruit and seed development of *Craterispermum* (Rubiaceae). *Belgian Journal of Botany* **125**: 101–113.
- Igersheim A. 1993.** Gynoecium development in Rubiaceae-Vanguerieae, with particular reference to the ‘stylar head’-complex and secondary pollen presentation. *Plant Systematics and Evolution* **187**: 175–190.
- Igersheim A, Puff C, Leins P, Erbar C. 1994.** Gynoecial development of *Gaertnera* Lam. and of presumably allied taxa of the Psychotrieae (Rubiaceae): secondarily ‘superior’ vs. inferior ovaries. *Botanische Jahrbücher für Systematik* **116**: 401–414.
- Igersheim A, Robbrecht E. 1993.** The character states and relationships of the Prismatomerideae (Rubiaceae - Rubioideae). Comparisons with *Morinda* and comments on the circumscription of the Morindeae s.str. **6**: 61–79.
- Judkevich MD, Salas RM, Gonzalez AM. 2022a.** Embryology of some flowers of the Gardenieae complex (Rubiaceae). *Protoplasma* **259**: 1233-1254.
- Judkevich MD, Salas RM, Gonzalez AM. 2022b.** Anther structure and pollen development in species of Rubiaceae and anatomical evidence of pathway to morphological dioecy. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **94**: e20191362.

Lloyd FE. 1899. The comparative embryology of the Rubiaceae. *Memoirs of the Torrey Botanical Club* **8**: 1–26.

Mariath JEA, Coccuci AE. 1997. The ovules of *Relbunium hypocarpium* in the context of the Rubiaceae. *Kurtziana* **25**: 141-150.

Martínez-Cabrera D, Terrazas T, Y Ochoterena H. 2014. Morfología y anatomía floral de la tribu Hamelieae (Rubiaceae). *Brittonia* **66**: 89–106.

Nepokroeff M, Bremer B, Sytsma KJ. 1999. Reorganization of the Genus *Psychotria* and Tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from *ITS* and *rbcL* Sequence Data. *Systematic Botany* **24**: 5–27.

Periasamy K. 1962. The ruminant endosperm: development and types of rumination. In: *Plant Embriology*. Council of Scientific & Industrial Research: New Delhi.

Petit E. 1964. Les espèces africaines du genre *Psychotria* L. (Rubiaceae): I. *Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles* **34**: 1–160.

Piesschaert F, Robbrecht E, Poulsen D, Smets E. 1999. Pyrene and pollen observations in the pantropical genus *Geophila* (Rubiaceae – Psychotrieae). *Nordic Journal of Botany* **19**: 93-100

Pietrobon, RCV. 2008. *Morfoanatomia do pericarpo, semente, folha de Psychotria hoffmannseggiana (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. e Psychotria trichophora Müll. Arg., e desenvolvimento morfológico da plântula de Psychotria hoffmannseggiana (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg. (Rubiaceae, Rubioideae, Psychotrieae)*. Unpublished D. Phil. Thesis, Universidade Estadual "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP.

Razafimandimbison SG, Taylor CM, Wikström N, Paillet T, Khodabandeh A, Bremer B. 2014. Phylogeny and generic limits in the sister tribes Psychotrieae and Palicoureeae (Rubiaceae): evolution of schizocarps in *Psychotria* and origins of bacterial leaf nodules of the Malagasy species. *American Journal of Botany* **101**: 1102–1126.

Razafimandimbison SG, Kainulainen K, Wikström N, Bremer B. 2017. Historical biogeography and phylogeny of the pantropical Psychotrieae alliance (Rubiaceae), with particular emphasis on the Western Indian Ocean Region. *American Journal of Botany* **104**: 1407–1423.

- Razafimandimbison SG, Rydin C, Bremer B. 2008.** Evolution and trends in the Psychotrieae alliance (Rubiaceae)-A rarely reported evolutionary change of many-seeded carpels from one-seeded carpels. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **48**: 207–223.
- Robbrecht E. 1988.** Tropical Woody Rubiaceae. *Opera Botanica Belgica* **1**: 1–271.
- Robbrecht E, Igersheim A, Puff C. 1991.** The genera *Mitchella* and *Damnacanthus*. Evidence for their close alliance; comments on the campylotropy in the Rubiaceae and the circumscription of the Morindeae. *Blumea* **35**: 307–345.
- Robbrecht E, Manen JF. 2006.** The major evolutionary lineages of the coffee family (Rubiaceae, Angiosperms). Combined analysis (nDNA and cpDNA) to infer the position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and supertree construction based on *rbcL*, *rps16*, *trnL-trnF* and *atpB-rbcL* data. A new classification in two subfamilies, Cinchonoideae and Rubioideae. *Systematics and Geography of Plants* **76**: 85–146.
- Ruan YZ. 1988.** Notes on the genus *Prismatomeris* Thw. (Rubiaceae) of China. *Acta Phytotaxonomica Sinica* **26**: 443-449.
- Rydin C, Razafimandimbison SG, Bremer B. 2008.** Rare and enigmatic genera (*Dunnia*, *Schizocolea*, *Colletoecema*), sisters to species-rich clades: Phylogeny and aspects of conservation biology in the coffee family. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **48**: 74-83.
- Rydin C, Wikström N, Bremer B. 2017.** Conflicting results from mitochondrial genomic data challenge current views of Rubiaceae phylogeny. *American Journal of Botany* **104**: 1522-1532.
- Salazar-Duque H, Alzete JF, Trujillo AU, Ferrándiz C, Pabón-Mora N. 2021.** Comparative anatomy and genetic bases of fruit development in selected Rubiaceae (Gentianales). *American Journal of Botany* **108**: 1838-1860.
- Sangeetha M, Banurekha J. 2020.** *Psychotria* - an overview. *Research Journal of Pharmacy and Technology* **13**: 5484–5488.
- Schleiden MJ. 1837.** Einige Blicke auf die Entwicklungsgeschichte des vegetabilischen Organismus bei den Phanerogamen. *Arch Naturgesch* **1**: 289–414.

- Schumann K. 1891.** Rubiaceae in Engler und Prantl, Die Natürlichen Pflanzenfamilien. **4:** 1-156.
- Souza MM, Martins ER, Pereira TNS, Oliveira LO. 2008.** Reproductive Studies in Ipecac (*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes; Rubiaceae): Pollen Development and Morphology. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **51:** 981-989.
- Steyemark J. 1972.** Botany of the Guayana Highlands. *Memoirs of the New York Botanical Garden* **23:** 227-832.
- Taylor CM. 2004.** Rubiacearum Americanarum Magna Hama Pars XVI. New species, a new subspecies, and an overlooked species of *Psychotria* subg. *Heteropsychotria* from Mexico, Central America, and Western South America. *Novon* **14:** 493-508.
- Taylor CM. 2007.** A new species of *Psychotria* subg. *Psychotria* (Rubiaceae, Psychotrieae) from West-Central Mexico. *Novon* **17:** 105-109.
- Verdcourt B. 1958.** Remarks on the Classification of the Rubiaceae. *Bulletin du Jardin botanique de l'État a Bruxelles* **28:** 209–290.
- Vinckier S, Huysmans S, Smets E. 2000.** Morphology and ultrastructure of orbicules in the subfamily Ixoroideae (Rubiaceae). *Review of Palaeobotany and Palynology* **108:** 151-174.
- Wikström N, Bremer B, Rydin C. 2020.** Conflicting phylogenetic signals in genomic data of the coffee family (Rubiaceae). *Journal of Systematics and Evolution* **58:** 440-460.
- Wikström N, Kainulainen K, Razafimandimbison SG, Smedmark JEE, Bremer B. 2015.** A Revised Time Tree of the Asterids: Establishing a Temporal Framework For Evolutionary Studies of the Coffee Family (Rubiaceae). *Plos One* **10:** e0126690.
- Yue L, Kuang Y, Liao J. 2017.** Ontogeny of permanent tetrads in *Gardenia jasminoides* (Rubiaceae) provides insight into pollen evolution. *Review of Palaeobotany and Palynology* **247:** 120-132.